



République Algérienne démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID – TLEMCEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de

l'Univers Département de Biologie

Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA)

THESE

Présentée par : Mme ZITOUNI Amel Ép. YAHIAOUI

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Biologie Cellulaire et Biochimie

Option : Produits naturels, Aspects nutritionnels et Activités biologiques

THEME

**Profil polyphénolique et activité antioxydante de deux plantes
médicinales *Pistacia lentiscus. L* et *Gymnocarpos decander. forsk***

Soutenue le: / /2017

Devant le jury:

Présidente :	Mme BELARBI. M	Pr	Université de Tlemcen
Examineurs :	M DJEBLI. N	Pr	Université de Mostaganem
	Mme KAMBOUCHE. N	MCA	Université d'Oran
	Mme BELYAGOUBI BENHAMMOU.N	MCA	Université de Tlemcen
Directrice de Thèse :	Mme ATIK BEKKARA. F	Pr	Université de Tlemcen

Année universitaire: 2016 – 2017

REMERCIEMENTS

Ce travail de thèse a été effectué au sein du laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA) du département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers (SNV-STU), Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen.

Je tiens à remercier en premier lieu ma directrice de thèse, M^{me} ATIK BEKKARA Fawzia, Professeur au département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen, pour m'avoir accueillie et encadrée au sein de son équipe. Je vous remercie Mme pour votre soutien, votre générosité et votre patience tout au long de ma thèse.

J'adresse mes sincères remerciements à Mme BELARBI Meriem, Professeur au département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen, pour m'avoir faite l'honneur d'accepter la présidence du jury, qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements.

Je tiens à remercier M. DJEBLI Nouredine, Professeur à l'université de Mostaganem, pour l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail en acceptant de l'examiner et de le discuter. Recevez monsieur mon profond respect et ma profonde considération.

Mes sincères remerciements vont aussi à Mme KAMBOUCHE Nadia, maître de conférences à l'université d'Oran, d'avoir accepté d'examiner et discuter ce travail. Je tiens à vous exprimer tout mon respect et mon estime.

C'est avec un grand plaisir que je remercie Mme BELYAGOUBI-BENHAMMOU Nabila, maître de conférences à l'université de Tlemcen, pour son aide, son encouragement et son infatigable dévouement tout au long de ce travail. Je vous remercie aussi d'avoir accepté de participer à ce jury, que vous soyez assurée de ma profonde gratitude.

De même, je remercie M. KSOURI Riadh, Maître de conférences et chercheur au Centre de Biotechnologie de Borj Cédria (Tunisie) pour m'avoir accueillie, pour tout le temps qu'il m'a donné durant mon stage et pour l'ensemble des analyses qui ont été effectuées au sein de son laboratoire. Je tiens aussi à remercier les personnels du Laboratoire des Plantes Extrêmophiles (LPE) du Centre de Biotechnologie de Borj-cédria (CBBC) pour leur bonne humeur.

J'exprime également ma profonde reconnaissance et mes respects à M. CHABANE SARI Daoudi, Professeur à l'Université de Tlemcen et Directeur du Laboratoire des Produits Naturels, pour son aide, sa générosité et ses conseils.

Je tiens également à remercier M. MAROUF A, Professeur au centre universitaire de Naama pour m'avoir aidée dans l'identification des plantes.

Je tiens aussi à remercier M. AZZI Rachid pour son aide, ses conseils et sa sympathie. Je remercie aussi tous les ingénieurs, techniciens et administrateurs du département de Biologie, qui m'ont aidé dans ce travail; et tous les membres du laboratoire des Produits Naturels de l'Université de Tlemcen, surtout mes collègues doctorants : Merci pour tous les

bons moments passés ensemble au laboratoire.

C'est avec l'aide de dieu le tout puissant qui m'a éclairé les chemins du savoir que j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie à :

Mes très chers parents avec tout mon amour, ma tendresse et mon estime, je n'arriverai jamais à leur rendre ce qu'ils ont fait pour moi. Que dieu vous protège.

Mon mari Abdelhak, pour ses conseils et ses encouragements. Merci, tu as été toujours à mes côtés.

RÉSUMÉ

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouveaux antioxydants naturels. L'objectif principal de ce travail est l'étude de la phytochimie, l'évaluation du pouvoir antioxydant, et la recherche de quelques molécules actives de deux plantes médicinales : *Pistacia lentiscus* L (Anacardiaceae), et *Gymnocarpos decander* forsk (Caryophyllaceae).

Les résultats du criblage phytochimique ont mis en évidence les principaux métabolites secondaires (flavonoïdes, tanins, saponosides et anthocyanes) dans ces deux plantes. Les extraits bruts et les extraits des tanins enregistrent les plus grands rendements. La quantification des composés phénoliques a montré la richesse des feuilles de *P. lentiscus* en phénols totaux (216.289 ± 20.62 mg GAE / g MS), flavonoïdes et tanins. Pour *G. decander*, les fleurs présentent les meilleures teneurs en phénols totaux ($156,097 \pm 2.312$ mg GAE / g MS), flavonoïdes, tanins et flavonols.

Quatre différentes techniques, in vitro, ont été procédées pour l'évaluation de l'activité antioxydante. La partie des feuilles de *P. lentiscus*, et la partie fleurie de *G. decander* ont présenté généralement la meilleure capacité antioxydante. L'extrait des tanins des racines de *P. lentiscus* ($CI_{50} = 0,061 \pm 0,001$ mg / ml) et celui des fleurs de *G. decander* ($CI_{50} = 0,083 \pm 0,004$) ont présenté le pouvoir réducteur le plus considérable. Ces deux extraits marquent aussi l'activité la plus considérable à piéger le radical libre DPPH avec des valeurs respectives : CI_{50} de $0,061 \pm 0,000$ mg / ml et $0,063 \pm 0,001$ mg / ml. Pour le test de blanchissement du B-carotène, l'activité la plus élevée a été enregistrée dans la fraction acétate d'éthyle des racines de *P. lentiscus* ($0,052 \pm 0,006$ mg / ml) et l'extrait des saponosides des feuilles de *G. decander* ($CI_{50} = 0,082 \pm 0,013$).

Une analyse CLHP a été réalisée sur quelques fractions flavoniques actives des deux plantes étudiées. Cette analyse nous a permis la détection et la quantification de l'acide gallique, l'acide para-coumarique, la catéchine, la quercétine, l'acide férulique, l'acide vanillique et la naringénine dans les deux fractions acétate d'éthyle et n-butanol des feuilles de *P. lentiscus*. Pour *G. decander*, cette analyse a montré la présence de la quercétine et de la naringénine dans les deux fractions analysées des fleurs, de l'acide ρ -coumarique dans la fraction acétate d'éthyle et la fraction butanolique des fleurs, et de l'acide vanillique dans la fraction acétate d'éthyle des fleurs. La naringénine est le seul composé trouvé dans la fraction acétate d'éthyle des racines de *G. decander*.

Les résultats de l'analyse CLHP-PR des trois (3) sous-fractions obtenues par chromatographie sur colonne de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de *G. decander*, ont révélé pour la première fois dans cette étude, la présence de seize (16) composés phénoliques dans la SF1 (l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide ρ -coumarique, , la lutéoline, la lutéoline 7-O glucoside, l'isoquercitrine, l'acide rosmarinique, l'hypéroside, l'oleuropéine, la rutine, la kaempférol, la kaempférol 3-O rutinoside, l'isorhamnétine, l'apigénine, la laricitrine et la polydatine), six (6) composés dans la SF7 (l'acide ρ -coumarique, l'acide synapique, l'oleuropéine, la kaempférol 3 O rutinoside, l'apigénine et la polydatine), et trois (3) composés phénoliques dans la SF8 (l'acide synapique, l'apigénine et la polydatine).

Mots clés : *Pistacia lentiscus*; *Gymnocarpos decander*; Composés phénoliques ; Activité antioxydante ; Chromatographie sur colonne ; CLHP.

ABSTRACT

This study is a part of the search for new natural antioxidants. The main objective of this work is the study of phytochemistry, the evaluation of antioxidant activity, and identification of some active molecules of two medicinal plants: *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae), and *Gymnocarpos decander* (Caryophyllaceae).

The results of the phytochemical screening showed the presence of some secondary metabolites (flavonoids, tannins, saponins and anthocyanins) in these plants. Crude extracts and tannins extracts record the best yields. The quantification of the phenolic compounds showed the richness of leaves of *P. lentiscus* in total phenolic compounds (216.289 ± 20.62 mg GAE / g DM), flavonoids and tannins. For *G. decander*, flowers reveal the highest total phenolic content (156.097 ± 2.312 mg GAE / g MS), flavonoids, tannins and flavonols.

Four different techniques, in vitro, were proceeding for evaluating of antioxidant activity. The leaves of *P. lentiscus*, and the flowers of *G. decander* presented usually the best antioxidant capacity. The tannins extract from the roots of *P. lentiscus* ($IC_{50} = 0.061 \pm 0.001$ mg / ml) and the flowers tannins extract of *G. decander* ($IC_{50} = 0.083 \pm 0.004$) had the best activity to reduce iron. Both extracts also marks the most significant activity to scavenge free radical DPPH \cdot with respective values: IC_{50} of 0.061 ± 0.000 mg / ml and 0.063 ± 0.001 mg / ml. For the bleaching test of B-carotene, the highest activity was registered in the ethyl acetate fraction of roots of *P. lentiscus* (0.052 ± 0.006 mg / ml) and the leaves saponins extract of *G. decander* ($IC_{50} = 0.082 \pm 0.013$).

HPLC analysis was performed on some active flavonoid fractions of the two plants tested. This analysis allowed the detection of gallic acid, ρ -coumaric acid, catechin, quercetin, ferulic acid, vanillic acid and naringenin in the ethyl acetate and n-butanol fractions of the leaves of *P. lentiscus*. For *G. decander*, this analysis showed the presence of quercetin and naringenin in both fractions analyzed of flowers, the ρ -coumaric acid in the ethyl acetate and the butanol fractions of the flowers, and vanillic acid in the ethyl acetate fraction of flowers. naringenin is the only compound found in the ethyl acetate fraction of the roots of *G. decander*.

The results of HPLC-RP analyses of three sub fractions obtained after column chromatography of the flowers ethyl acetate fraction of *G. decander* revealed, for the first time in this study, the presence of sixteen (16) phenolic compounds in SF1 (caffeic acid, ferulic acid, ρ -coumaric acid, luteolin, luteolin 7-O-glucoside, isoquercitrin, rosmarinic acid, hyperoside, oleuropein, rutin, kaempferol, kaempferol 3 O rutinoside, isorhamnetin, apigenin, laricitrin, and polydatin), six (6) compounds in the SF7 (ρ -coumaric acid, synapic acid, oleuropein, kaempferol 3 O rutinoside, apigenin and polydatin), and three (3) phenolic compounds in the SF8 (synapic acid, apigenin and polydatin).

Keywords: *Pistacia lentiscus*; *Gymnocarpos decander*; Phenolic compounds; Antioxidant activity; Column chromatography; HPLC.

الملخص

تدخل هذه الدراسة في إطار البحث عن مضادات أكسدة جديدة من مصادر طبيعية، الهدف الرئيسي هو دراسة الكيمياء النباتية، تقييم الفعالية المضادة للأكسدة والبحث عن الجزيئات النشطة المسؤولة عن ذلك في اثنتين من النباتات الطبية:

البطم العدسي (*Pistacia lentiscus*) و (*Gymnocarpos decander*).

أظهرت نتائج الفحص الكيميائي وجود المركبات الثانوية الأساسية في كلتا النباتين (الفلافونويدات، العفص، الصابونين والانثوسيانين). سجلت أعلى المردودات في مستخلصات الفحص والمستخلصات الميثانولية. أعلى قيم المركبات الفينولية سجلت على مستوى أوراق *p.lentiscus* و أزهار *G.decander* (20.62 216.28 ملغ حمض الغاليك/غرام من المادة الجافة) و (156.97 ± 2.312 ملغ حمض الغاليك/غ مادة جافة)

أربعة تقنيات مختلفة اتبعت لتقييم الفعالية المضادة للأكسدة (in vitro) أظهرت مستخلصات أوراق *P.lentiscus* و أزهار *G.decander* القدرة المعتبرة المضادة للأكسدة. مستخلص فحص جذور *P. lentiscus* ومستخلص الزهور *G.decander* أظهر أكبر النتائج في طريقة الحد من الحديد (التركيز المثبط 50 = 0.001 ± 0.061 ملغ/مل) و (50 = 0.004 ± 0.083 ملغ/مل) على الترتيب. فيما يخص تثبيط الجذر الحر DPPH، أظهر نفس المستخلصين أحسن النتائج (0.001 ± 0.061 ملغ/مل) و (0.001 ± 0.063 = Cl₅₀ ملغ/مل) على الترتيب. بالنسبة لتقنية تبييض β-corotene سجلت على مستوى جزء الأسيئات ايثيل لجذور *P.lentiscus* ومستخلص الصابونين لأوراق *G.decander*

-أجرينا تحليل HPLC على بعض مستخلصات الفلافونويد الشطة. سمح هذا التحليل بالكشف النوعي و الكمي لحمض الغاليك، حمض P.coumaric، كاتشين، كارسيتين، حمض الفيروليك و Naringénine في كل مستخلصات الأميئات ايثيل ون بيوتانول لأوراق *P.lentiscus*.

بالنسبة لأزهار *G.decander*، تم اكتشاف الكارسيتين و Naringénine في كلتا المستخلصين، أو بالنسبة للجذور فالمركب الوحيد المكتشف هو Naringénine .

-نتائج تحليل HPLC لثلاث فروع لمستخلصات الأميئات ايثيل لأزهار *G.decander* كشفت عن وجود (l'acide cafféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique, , la lutéoline, la lutéoline 7-O glucoside, l'isoquercitrine, l'acide rosmarinique, l'hypéroside, l'oleuropéine, la rutine, la kaempférol, la kaempférol 3-O rutinoside, l'isorhamnétine, l'apigénine, la laricitrine , la polydatine في SF1 و L'acide p-coumarique, l'acide synapique, l'oleuropéine, la kaempférol 3 O rutinoside, l'apigénine ,la polydatine في SF2 فقط ثلاث مركبات (l'acidesynapique,l'apigénine , la polydatine) في SF8.

الكلمات المفتاحية: *Pistacia lentiscus*، *Gymnocarpos decander*، المركبات الفينولية، الفعالية المضادة للأكسدة، CLHP، Chromatographie sur colonne

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Table des matières	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Abréviations	
Introduction générale	
Introduction.....	2
Partie bibliographique	
Chapitre 1 : Présentation des plantes étudiées	
I. Généralités sur les plantes médicinales.....	6
I.1. Historique sur l'utilisation des plantes médicinales.....	6
I.2. Les plantes médicinales : entre la médecine traditionnelle et d'aujourd'hui.....	7
II. Présentation des plantes étudiées.....	8
II. 1. <i>Pistacia lentiscus</i>	8
II. 1.1. Introduction.....	8
II. 1.2. Position.....	9
II. 1.3. Description botanique de <i>Pistacia lentiscus</i>	9
II. 1. 4. Habitat	10
II.1.5. Usages thérapeutiques et activités biologiques	10
II.1.6. Travaux antérieurs.....	11
II.2. <i>Gymnocarpos decander</i>	13
II. 2.1. Introduction.....	13
II. 2.2. Position systématique.....	13
II. 2.3. Description botanique de <i>Gymnocarpos decander</i>	13
II. 2.4. Distribution et habitat.....	13
II.2.5. Propriétés et usages thérapeutiques.....	14
II.2.6. Travaux antérieurs	14
Chapitre 2: Les composés phénoliques.....	16
I. Généralités.....	16
II. Classification.....	16
II. 1. Les acides phénols.....	17
II. 1.1. Les acides hydroxybenzoïques.....	17
II. 1.2. Les acides hydroxycinnamiques.....	19
II. 2. Les flavonoïdes.....	19
II. 2. 1. Définition, structure et classification.....	19

II. 2. 2. Quelques propriétés des flavonoïdes.....	20
II. 3. Les Tanins.....	21
II. 3.1. Définition, structure et classification.....	21
II. 3. 2. Quelques propriétés de tanins.....	23
II. 4. Les anthocyanes.....	23
II. 5. Les saponosides.....	24
II. 6. Les lignanes.....	25
II. 7. Les stilbènes.....	25
II. 8. Les Quinones.....	25
II. 9. Les coumarines.....	26
III. Propriétés thérapeutiques et activités biologiques des polyphénols.....	26
IV. Mesure de l'activité antioxydante des polyphénols.....	28
V. Polyphénols et phénomènes d'oxydation.....	29
V.1. Généralités.....	29
V.2. Mécanisme d'action.....	30

Chapitre 3: Oxydation et antioxydants.....33

I.Généralités.....	33
II. Mécanismes prooxydants.....	34
III. Principaux dommages liés au stress oxydatif.....	35
III.1. Oxydation des composés lipidiques.....	35
III.2.Oxydation des composés protéiques.....	35
III.3. Oxydation de l'ADN.....	35
IV. Mécanisme de défense contre les réactions radicalaires.....	36
IV.1. Systèmes de défense enzymatique contre le stress oxydatif.....	36
IV.1. 1. Les superoxydes dismutases (SOD).....	36
IV.1. 2. Les Catalases.....	37
IV.1. 3. Les peroxydases.....	37
IV.1. 4. La thiorédoxine (TRX).....	37
IV.2. Systèmes non enzymatiques de défense contre le stress oxydatif.....	39
IV. 2. 1. vitamines antioxydantes.....	39
IV. 2. 2. Oligo-éléments.....	39
IV. 2. 3. Les polyphénols.....	40

Partie expérimentale

Introduction.....	42
1. Matériel végétal; identification botanique et étude des stations de récolte.....	42
2. Tests phytochimiques.....	44
2.1. Les différentes classes phytochimiques recherchées par épuisement du matériel végétal avec de l'eau chaude.....	44
2.1.1. Détection d'amidon.....	44
2.1.2. Détection des saponosides.....	45
2.1.3. Recherche des tanins.....	45

2.1.4. Les anthocyanes.....	45
2.2. Les différentes classes phytochimiques recherchées par épuisement du matériel végétal avec l'éthanol.....	45
2.2.1. Détection des flavonoïdes.....	45
2.2.3. Recherche des tanins galliques et catéchiques.....	46
2.3. Autres métabolites secondaires.....	46
2.3.1. Détection des alcaloïdes.....	46
2.3.2. Détection des coumarines.....	46
2.3.3. Test pour la détection des stérols et stéroïdes.....	46
2.3.4. Test pour les hétérosides stéroïdiques et triterpéniques	47
3. Extractions.....	47
3. 1. Préparation des extraits des deux plantes étudiées.....	47
3.1.1. Extraits bruts méthanoliques.....	47
3.1.2. Extractions des flavonoïdes.....	48
3.1.3. Extraction des tannins.....	49
3.2. Extraction des saponosides de <i>G. decander</i>	50
3.3. Extraction des anthocyanes de <i>P. lentiscus</i>	51
4. Teneurs en composés phénoliques.....	51
4.1. Teneurs en phénols totaux.....	51
4.2. Teneurs en flavonoïdes.....	52
4.3. Teneurs en tanins condensés.....	52
4.4. Teneurs en flavonols totaux.....	52
5. Activité antioxydante.....	53
5.1. Capacité antioxydante totale (CAT).....	53
5.2. Réduction du fer (FRAP).....	53
5.3. Piégeage du radical libre DPPH●.....	54
5.4. Test du blanchissement du β -carotène.....	55
6. Analyse statistique.....	56
7. Analyses chromatographiques.....	56
7.1. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	56
7.1.1. Principe.....	56
7.1.2. CCM des fractions acétate d'éthyle et n-butanol de <i>G. decander</i>	57
7.2. Séparation chromatographique de quelques composés phénoliques par CLHP (laboratoire pédagogique de l'université de Tlemcen).....	57
7.2.1. Hydrolyse des extraits.....	57
7.2.2. Séparation chromatographique des composés phénoliques par CLHP.....	58
7.3. Chromatographie sur colonne de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de <i>G. decander</i>	58
7.4. Analyses par CLHP-PR des sous- fractions de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de <i>G. decander</i> (laboratoire de Borj-cedria- Tunis).....	59

Résultats et interprétation

1. Etude phytochimique.....	63
-----------------------------	----

2. Rendements en extraits.....	64
3. Détermination des teneurs en principaux composés phénoliques.....	66
3.1. Détermination des teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés dans les différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	66
3.2. Détermination des teneurs en phénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés et flavonols dans les différentes parties de <i>G. decander</i>	67
4. Evaluation de l'activité antioxydante des différents extraits des deux plantes.....	68
4.1. Capacité antioxydante totale.....	68
4.1.1. Capacité antioxydante totale dans les différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	68
4.1.2. Capacité antioxydante totale dans les différentes parties de <i>G. decander</i>	69
4.2. Réduction de fer (FRAP).....	69
4.2.1. Réduction de fer des extraits de <i>P. lentiscus</i>	69
4.2.2. Réduction de fer des extraits de <i>G. decander</i>	70
4.3. Piégeage du radical libre DPPH.....	71
4.3.1. Piégeage du radical libre DPPH dans les différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	71
4.3.2. Piégeage du radical libre DPPH dans les différentes parties de <i>G. decander</i>	73
4.4. Méthode de blanchissement du B-carotène.....	76
4.4.1. Méthode du blanchissement du B-carotène dans les extraits de <i>P. lentiscus</i>	78
4.4.2. Méthode du blanchissement du B-carotène dans les extraits de <i>G. decander</i>	78
5. Résultats des analyses chromatographiques.....	83
5.1. Interprétation des CCM des fractions flavoniques de <i>G. decander</i>	83
5.2. Séparation chromatographique des composés phénoliques de quelques fractions flavoniques par CLHP.....	88
5.2.1. Analyses CLHP de quelques fractions flavoniques de <i>P. lentiscus</i>	88
5.2.2. Analyses CLHP des fractions flavoniques des feuilles de <i>G. decander</i>	89
5.3. Interprétation des analyses chromatographiques de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de <i>G. decander</i> (chromatographie sur colonne, et analyses CLHP-PR).....	89
Discussion.....	99
Conclusion et perspectives.....	108
Références bibliographiques.....	112
Annexes	
Publications et Communications	

Liste des tableaux

Tableau 1. Lieu de récolte des plantes étudiées et caractéristiques géographiques et bioclimatiques de leurs stations.....	44
Tableau 2. Programme (temps, débit et gradient de solvant) utilisé en CLHP analytique pour l'injection des sous- fractions et des standards.....	59
Tableau 3. Résultats des tests de la mise en évidence de différents groupes chimiques dans les différentes parties des deux plantes étudiées.....	64
Tableau 4. Résultats des rendements des différents extraits dans les différentes parties des deux plantes étudiées.....	65
Tableau 5. Teneurs en phénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés et flavonols dans les différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	67
Tableau 6. Teneurs en phénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés et flavonols dans les différentes parties de <i>G. decander</i>	68
Tableau 7. Valeurs CI ₅₀ de la réduction de fer, piégeage du radical DPPH, et du blanchissement du B-carotène, et valeurs de la CAT des extraits de toutes les parties de <i>P. lentiscus</i>	83
Tableau 8. Valeurs CI ₅₀ de la réduction de fer, piégeage de radical DPPH et du blanchiment du B-carotène et valeurs de la CAT des extraits de toutes les parties de <i>G. decander</i>	84
Tableau 9. Composés phénoliques identifiés par CCM des fractions flavoniques de toutes les parties étudiées de <i>G. decander</i>	88
Tableau 10. Analyse quantitative des composés phénoliques (µg / g de MS) de la fraction acétate d'éthyle et la fraction n- butanol des feuilles de <i>P. lentiscus</i>	91
Tableau 11. Analyse quantitative des composés phénoliques (µg / g de MS) de la fraction acétate d'éthyle et la fraction n- butanol des fleurs, et la fraction acétate d'éthyle des racines de <i>G. decander</i>	92
Tableau 12. Pourcentages d'inhibition des sous- fractions obtenues après CC de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de <i>G. decander</i>	93
Tableau 13. Résultats de la CLHP des sous- fractions (SF1, SF7 et SF8) de la fraction acétate d'éthyle de <i>G. decander</i>	99

Liste des figures

Figure 1. <i>Pistacia lentiscus</i>	10
Figure 2. <i>Gymnocarpos decander</i>	14
Figure 3. Quelques structures et exemples des composés phénoliques.....	18
Figure 4. Structure de l'acide para-hydroxybenzoïque.....	19
Figure 5. Structure de l'acide p- coumarique.....	19
Figure 6. Squelette de base des flavonoïdes.....	20
Figure 7. Exemples des Structures des principaux types de tanins	22
Figure 8. Formation d'un ellagitannin à partir de l'acide ellagique.....	22
Figure 9. Principaux dommages cellulaires induits par les espèces réactives de l'oxygène et provoqués sur les lipides, les protéines et l'ADN.....	36
Figure 10. Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques.....	38
Figure 11. Situation géographique de la station de la récolte de <i>P. lentiscus</i>	43
Figure 12. Situation géographique de la station de la récolte de <i>G. decander</i>	43
Figure 13. Protocole d'extraction d'extrait brut méthanolique.....	47
Figure 14. Protocole d'extraction des flavonoïdes.....	48
Figure 15. Protocole d'extraction des tanins.....	49
Figure 16. Protocole d'extraction des saponosides.....	50
Figure 17. Protocole d'extraction des anthocyanes.....	51
Figure 18. Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH●.....	55
Figure 19. Etapes d'extraction, séparation et différentes analyses chromatographiques de la fraction AE des fleurs de <i>G. decander</i>	61
Figure 20. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.....	66
Figure 21. Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	66
Figure 22. Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.....	67
Figure 23. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonols.....	67
Figure 24. Histogrammes de comparaison entre les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés et flavonols dans les différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	68
Figure 25. Histogrammes de comparaison entre les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés et flavonols dans les différentes parties de <i>G. decander</i>	69
Figure 26. Capacité antioxydante totale exprimée en mg EAA/g MS, des extraits de toutes les parties de <i>P. lentiscus</i>	70
Figure 27. Capacité antioxydante totale exprimée en mg EAA/g MS, des extraits de toutes les parties de <i>G. decander</i>	71
Figure 28. Valeurs CI ₅₀ de la réduction de fer des extraits de différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	72
Figure 29. Valeurs CI ₅₀ de la réduction de fer des extraits de différentes parties de <i>G. decander</i>	73
Figure 30. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits bruts méthanoliques de différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	74

Figure 31. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des fractions d'acétate d'éthyle de différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	74
Figure 32. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des fractions butanoliques de différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	74
Figure 33. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits des tanins de différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	75
Figure 34. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits des anthocyanes de différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	75
Figure 35. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits bruts de différentes parties de <i>G. decander</i>	76
Figure 36. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des fractions d'acétate d'éthyle de différentes parties de <i>G. decander</i>	76
Figure 37. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des fractions butanoliques de différentes parties de <i>G. decander</i>	77
Figure 38. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits des tanins de différentes parties de <i>G. decander</i>	77
Figure 39. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits des saponosides de différentes parties de <i>G. decander</i>	77
Figure 40. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène en fonction de différentes concentrations des extraits brutes de différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	78
Figure 41. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène de différentes concentrations des fractions acétate d'éthyle de différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	78
Figure 42. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène de différentes concentrations des fractions n- butanol de différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	79
Figure 43. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène de différentes concentrations des extraits de tanins de différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	79
Figure 44. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène de différentes concentrations des extraits des anthocyanes de différentes parties de <i>P. lentiscus</i>	79
Figure 45. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène en fonction de différentes concentrations des extraits brutes de différentes parties de <i>G. decander</i>	80
Figure 46. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène de différentes concentrations des fractions acétate d'éthyle de différentes parties de <i>G. decander</i>	80
Figure 47. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène de différentes concentrations des fractions n- butanol de différentes parties de <i>G. decander</i>	81
Figure 48. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène de différentes concentrations des extraits des tanins de différentes parties de <i>G. decander</i>	81
Figure 49. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène de différentes concentrations des extraits des saponosides de différentes parties de <i>G. decander</i>	81
Figure 50. Chromatogramme de la CCM des fractions flavoniques de différentes parties de <i>G. decander</i> sous UV/366 nm.....	86
Figure 51. Pourcentages d'inhibition de DPPH de différentes concentrations des sous fractions actives obtenues par CC de la fraction acétate d'éthyle de la partie fleurie de <i>G. decander</i>	93

Figure 52. Chromatogramme de la sous-fraction 1 de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de <i>G. decander</i> obtenu par CLHP-PR.....	94
Figure 53. Chromatogramme de la sous-fraction 7 de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de <i>G. decander</i> obtenu par CLHP-PR	95
Figure 54. Chromatogramme de la sous-fraction 8 de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de <i>G. decander</i> obtenu par CLHP-PR	96

ABRÉVIATIONS

AAPH: 2,2'-azobis 2-amidinopropane dihydrochloride
ABTS : Acide 2,2'-azinobis 3-éthylbenzo-triazoline-6 sulphonate
ADN : Acide désoxyribonucléique
AE : Acétate d'éthyle
BHA :Butyl hydroxyanisole
BHT : Butyl hydroxytoluène
CAT : Capacité antioxydante totale
CCM : Chromatographie sur couche mince
CC : Chromatographie sur colonne
CLHP: Chromatographie liquide à haute performance
CLHP-PR: Chromatographie liquide à haute performance-Phase réservée
Cyc-Hex : cyclohexane
DMPD : Balayage du radical cation N, N- dimethyl-phenylenediamine
DO : Densité optique
DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EAA : Equivalents d'acide ascorbique
EAG : Equivalents d'acide gallique
EC : Equivalents de catéchine
EOA : les espèces oxygénées activées
EQ : Equivalents de quercétine
FRAP : Capacités réductrices ferriques d'antioxydants (*Ferric reducing/antioxidant power*)
F : Fraction
CG / SM: chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
H₂O₂ :péroxyde d'hydrogène
I%: Pourcentage d'inhibition
IC₅₀ : Concentration inhibitrice
MDA : Malondialdéhyde
MeOH : Méthanol
MS : Matière sèche
NADPH : Nicotinamide adénosine dinucléotide phosphate (sous sa forme réduite)
NBT : Activité de piégeage de l'anion superoxyde
NH₄OH : Ammoniaque
ORAC : Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène (*Oxygen radical Absorbance capacity*)
R_f : Rapport frontale
SF : Sous-fraction
TEAC : Capacité antioxydante équivalente de Trolox (*Trolox equivalent antioxidant capacity*)
TOSC : Capacité du piégeage des oxyradicaux totaux
TRAP : Paramètre du piégeage du radical total
T.R : Temps de rétention

UV : Ultra violet

V/V : Volume à Volume

Introduction générale

Introduction générale

Dans les dernières décennies, l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde connaissent un regain d'intérêt. Cette utilisation demeure le recours principal pour une grande majorité des populations pour résoudre leurs problèmes de santé, non seulement du fait qu'elle constitue un élément important du patrimoine culturel, mais aussi pour les raisons de moyens financiers limités (**El Yahiaoui et al., 2015**). En Afrique, selon les estimations de l'OMS (2002), plus de 80% de la population utilise les plantes médicinales pour assurer leurs soins de santé. Ceci est lié à la toxicité des produits chimiques, au coût élevé des médicaments chimiques, à l'éloignement et/ou l'insuffisance des centres de santé surtout en milieu rural, qui limitent une prise en charge véritable des problèmes de santé publique (**Mpondo et al., 2012**). Face à ces problèmes de santé publique, les plantes médicinales pourraient apporter une réponse thérapeutique adaptée à ces populations. Les remèdes à base de plantes constituent une alternative dans les systèmes de soins primaires et donc, une voie prometteuse pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés (**Dramane et al., 2010**). Les aspects phytochimiques, pharmacologiques, ainsi que les propriétés antimicrobiennes et antioxydantes ont fait l'objet de plusieurs travaux de recherche (**Sharma, 2013**). Ces vertus sont largement liés à la présence de plusieurs substances, comme les vitamines, les tanins et les composés phénoliques (**Chanwitheesuk et al., 2005**).

La découverte des espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques. Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques, car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes, et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants (**Favier, 2003**). Récemment, il a été montré qu'il existe une association étroite entre l'altération des systèmes antioxydants de défense et le développement de plus de 200 pathologies différentes (**Perkins et al., 2006**).

Les composés phénoliques sont des substances biologiques qui prennent une importance croissante, grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Récemment, de nombreuses études ont montré que ces composés sont des antioxydants naturels qui protègent contre les réactions des radicaux libres (**Duenas et al., 2009**). Ces derniers sont en mesure de donner des protons aux radicaux libres, et sont encore capables d'empêcher la formation des espèces réactives de l'oxygène. Ils présentent également un large éventail d'activités biologiques; qui peuvent être attribuées à leurs propriétés antioxydantes (**Osamuyimen et al.,**

2011). Ainsi, leurs principes actifs sont utilisés comme matière première pour les modifications en phytothérapie (Jones et al., 2006).

Notre présent travail s'inscrit dans le cadre de valorisation des plantes médicinales, dans notre pays très riche en flore. Il s'intéresse principalement à la recherche des antioxydants naturels en étudiant la phytochimie et les propriétés antioxydantes de deux plantes médicinales : la première est *Pistacia lentiscus* de la famille des anacardiacees, communément connue comme le lentisque, et est un arbuste méditerranéen largement utilisé en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs pathologies telles que les troubles gastro-intestinaux, les infections de l'eczéma et des érythèmes, et les inflammations de la gorge. En outre, d'autres propriétés sont actuellement attribués à *P. lentiscus*, tels que la capacité antioxydante, l'action hépatoprotectrice, et les effets anti-inflammatoires. La deuxième espèce qui fait l'objet de notre étude est *Gymnocarpos decander* ; une plante saharienne de la famille des caryophyllacées connue par les tradithérapeutes de la région Saharienne, qui l'utilisent pour soigner les pathologies digestives.

Dans la première partie de notre thèse, nous allons passer en revue des données de littérature : Dans le premier chapitre, nous présentons une description des espèces étudiées (les caractères botaniques, la systématique, les propriétés thérapeutiques et l'intérêt biologique et quelques travaux antérieurs réalisés sur ces plantes. Le deuxième chapitre portera sur l'étude des composés phénoliques, leurs classifications et leurs effets biologiques. Le troisième chapitre consiste en l'étude des radicaux libres, ceci est suivi par un rappel de quelques méthodes les plus utilisées pour évaluer le pouvoir antioxydant (piégeage du radical DPPH, réduction de fer...).

Dans la deuxième partie de ce travail, nous allons entrepris une étude expérimentale par des techniques in vitro passant par le criblage phytochimique, la mesure des composés phénoliques, l'évaluation du pouvoir antioxydant par quatre différentes techniques, et enfin l'identification de quelques molécules biologiques par des techniques d'analyse chromatographiques, à savoir la chromatographie sur couche mince et la chromatographie en phase liquide à haute performance.

Dans la troisième partie, nous allons rapporter les différents résultats obtenus, leurs interprétations et une discussion relative aux résultats obtenus.

Introduction générale

Une conclusion générale résumera l'ensemble des résultats issus de cette étude, et présentera les perspectives de recherche concernant toutes les étapes à réaliser dans l'avenir proche, afin de confirmer l'intérêt de cette étude.

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Présentation des plantes étudiées

I. Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes, éléments vitaux de la diversité biologique servent essentiellement au bien être humain. Ces plantes constituent des ressources inestimables pour l'industrie pharmaceutique. Une proportion considérable des produits naturels utilisés comme drogues, dérivent des plantes terrestres, offrant une ressource encore incomplètement épuisée **(Osborn et Lanzotti, 2009)**.

Les plantes médicinales restent donc une source importante de médicaments pour des milliers d'années dans l'histoire humaine, et même aujourd'hui, elles constituent une base de la pratique de la médecine traditionnelle systématique dans plusieurs pays partout dans le monde, et des ressources précieuses pour la majorité des populations rurales. Bien qu'une grande partie du XXème siècle ait été consacrée à la mise au point des molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening des sources naturelles a résulté dans la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles, qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines **(Gurib-Fakim, 2006)**.

I.1. Historique sur l'utilisation des plantes médicinales

Les traces de l'utilisation des plantes médicinales existent en chine depuis plus de 5000 ans. Les inscriptions cunéiformes, présentes sur des tablettes sumériennes, de Mésopotamie, prouvent que le pavot était déjà recherché il y a plus de 2000 ans. Le papyrus médical d'Ebert (environ 1500 ans) est le premier recueil consacré aux plantes médicinales, proposant un inventaire de 12 plantes accompagnées de leur mode d'utilisation (myrrhe, ricin, ail...) **(Anton, 1999)**.

Les Egyptiens, dont l'histoire remonte à plus de 4 000 ans furent les premiers à tirer partie du règne végétal dans un souci esthétique et spirituel. De petites amphores contenues des essences et parfums ont été retrouvés dans les sarcophages des rois. L'essence de térébenthine était déjà utilisée et tout porte à penser que certains parfums étaient déjà obtenus sous forme d'huiles distillées **(Lucchesi, 2005)**.

Synthèse bibliographique, Chapitre 1 : Présentation des plantes étudiées

En Inde, les «vedas», livres sacrés rédigés vers 1500 ans témoignent eux aussi de la connaissance des plantes.

Pendant le Moyen Age (5^{ème} au 12^{ème} siècle), ce sont les Arabes qui étaient responsables de la préservation d'une grande partie de l'expertise gréco-romaine et de l'élargir pour y inclure l'utilisation de leurs propres ressources. Les Arabes ont été les premiers à établir les pharmacies privées au 8^{ème} siècle, et le pharmacien Persan, médecin, philosophe et poète, Avicenne, a beaucoup contribué aux sciences de la pharmacie et de la médecine à travers des œuvres, telles que Canon Medicinæ « Kitab Al Qanûn fi Al-Tibb » (**Petersen et Amstutz, 2008**).

A partir du 19^{ème} siècle, des progrès immenses ont été réalisés par les chercheurs qui ont isolé les principes actifs : morphine (1817) par SERTURNER, quinine et strychnine (1820), la codéine par ROBIQUET (1832), la digitaline (1869), ... etc. (**Paris et Hurabielle, 1981**). Bien entendu, les structures chimiques complètes de ces composés furent élucidées bien plus tard.

Au début du 20^{ème} siècle, les succès de la chimiothérapie, résultats de la chimie de synthèse, provoquent le déclin de la médecine à base de plantes.

I.2. Les plantes médicinales : entre la médecine traditionnelle et d'aujourd'hui

À travers le monde, la médecine traditionnelle (MT) constitue soit le mode principal de prestation de soins de santé, soit un complément à ce dernier. Dans certains pays, la médecine traditionnelle est appelée médecine complémentaire (MC) (**OMS, 2014**). La médecine traditionnelle tire, comme ressource, surtout des plantes médicinales, les remèdes nécessaires au rétablissement de la santé du malade. Cette dernière demeure le recours principal pour une grande majorité des populations pour résoudre leurs problèmes de santé (**El yahiaoui et al., 2015**).

En Algérie et pendant longtemps, les plantes médicinales et les remèdes n'ont jamais été totalement abandonnés et les gens, malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne, n'ont jamais cessé de faire appel à la médecine traditionnelle, ce qui a conduit à maintenir une tradition thérapeutique vivante. Ces plantes trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement de plusieurs maladies par les tradithérapeutes et les herboristes.

Synthèse bibliographique, Chapitre 1 : Présentation des plantes étudiées

Cependant, les connaissances actuelles permettent d'analyser ces plantes et souvent de l'activité préconisée par nos ancêtres. Pour cela, La phytothérapie fait l'étude de plusieurs études récentes. Cette dernière est une thérapie médicale qui utilise les plantes ou les formes immédiatement dérivées de plantes, en excluant les principes actifs purs issus de celles-ci. Les plantes sont consommées sous plusieurs formes : en l'état (infusions) ou après transformation (teintures, extraits, médicaments à base de plantes...). Une relation entre la structure chimique et l'activité biologique est alors présente, aussi la production des molécules naturelles qui pourrait entrer dans la composition de médicament est moins agressifs vis-à-vis de l'organisme (**Larousse médicale, 2001; Gazengel et Orecchioni, 2013**).

Cette dernière perspective permet d'élargir le champ de valorisation des plantes médicinales par l'exploitation des nombreuses et diverses activités biologiques, et fera apparaître de nouvelles molécules «bio actives» dans des espèces référencées par la médecine traditionnelle.

II. Présentation des plantes étudiées

II. 1. *Pistacia lentiscus*

II.1. 1. Introduction

Le genre *Pistacia* appartient à la famille des Anacardiacees ou Pistaciacees (**Delazar et al., 2004**), ce genre est caractérisé par sa dioécie et ses fleurs nues, et est un genre particulier de cette famille (**Gaussen et al., 1982**). Il comprend 11 espèces d'arbres et d'arbustes dioïques, dont la majorité sont connues pour leurs capacité à produire les oléorésines (**Onay et Jeffrey, 2000; Brickell, 2004**).

Pistacia lentiscus L., qui est également connue par le lentisque, est très répandue de l'Asie Mineure aux îles Canaries et dans la région méditerranéenne (**Ak et Parlakci, 2009**). Les feuilles alternes sont pennées, parfois simples. Les petites fleurs apétales, le plus souvent vertes, s'épanouissent en grappes ou en panicules axillaires. Les fruits ont l'aspect de petites amandes ou de grosses graines de poivre (**Brickell, 2004**). C'est un arbuste avec de belles baies rouges et un feuillage vert foncé, il est souvent utilisé comme plante ornementale (**Mascarello et al., 2007**).

Le lentisque peut s'adapter à plusieurs conditions climatiques, comme une grave sécheresse et un sol calcaire (**Correia et Catarino, 1994**); il présente également la repousse après un incendie de forêt ou une déforestation (**Ladd et al., 2005**).

Synthèse bibliographique, Chapitre 1 : Présentation des plantes étudiées

En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces : *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* (**Quezel et Santa, 1963**).

II.1.2. Position systématique (Quezel et Santa, 1963 ; Dupont et Guignard, 2007)

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicots

Sous classe : Eurosidées II

Ordre : Sapindales (Rutales)

Famille : Anacardiacees- Térébinthacées

Genre : *Pistacia*

Espèce : *Pistacia lentiscus* L

Noms vernaculaires : Derou, darw.

II.1.3. Description botanique de *Pistacia lentiscus*

Le lentisque ou pistachier lentisque ou arbre à mastic (*Pistacia lentiscus* L) ; est un arbuste qui peut atteindre 3 m de hauteur (**Rodríguez-Pérez et al., 2013**).

Il se distingue des autres pistachiers par des feuilles, composées qui sont paripennées, et qui se terminent par une paire de folioles, tandis que celles des autres pistachiers se terminent par une seule foliole, elles sont caduques vertes en hiver, plus grandes en général. Les folioles, assez étroites et coriaces, sont ovales à elliptiques, terminées par une petite pointe. Leur nombre varie de 2 à 12. Les fleurs sont apétales. Les males ont 5 petits sépales qui émergent 5 étamines rougeâtres, les femelles, ont 3 ou 4 sépales qui ont un ovaire supère avec un style court à 3 stigmates. Le fruit est une petite drupe arrondie d'environ 5mm. D'abord rouge, elle devient ensuite noire, la graine est identique aux pistachiers, mais beaucoup trop petite pour être consommée. L'inflorescence en grappes composées lâches, aussi longues que les feuilles. La floraison a lieu pendant le mois de Mars à Mai (**Quezel et Santa., 1963**).



Figure 1. *Pistacia lentiscus*.

II.1. 4. Habitat

On la rencontre dans les garrigues et surtout les maquis du bassin méditerranéen et les forêts (Quezel et Santa, 1963). L'espèce *Pistacia lentiscus* peut se développer sur tout type de sol, dans l'Algérie subhumide et semi-aride (Arab et al., 2014). Elle préfère les endroits pauvres en nutriments, en eau et aussi à une exposition longue des températures et des radiations solaires plus élevées (Baratto et al., 2003).

En Algérie, le lentisque se trouve sur le long du tell et dans les zones forestières (More et White, 2005).

II.1.5. usages thérapeutiques et activités biologiques

Pistacia lentiscus occupe une place appréciable dans la médecine traditionnelle et pharmaceutique. L'utilisation thérapeutique de cette plante fait partie de la médecine traditionnelle de plusieurs régions méditerranéennes avec différentes utilisations.

Différentes parties de cette espèce (feuilles, fruits, tiges et racines) ont été traditionnellement utilisées pour un large éventail d'objectifs. La résine, elle même, est couramment utilisée aussi longtemps que 5000 ans, pour les maux gastriques dans les pays méditerranéens (Dimas et al., 2009). Elle est aussi connue pour son effet contre diverses affections comme les troubles gastro-intestinaux, les troubles hépato-biliaires et les maladies gynécologiques (Imtiyaz et al., 2013). Elle a aussi été employée pour son effet antibactérien, antifongique, antioxydant, anti-inflammatoire, expectorant, hypotensionnel et antidiabétique (Triantafyllou et al., 2007 ; Galderi et al., 2008; Loizou et al., 2009 ; Paraschos et al.,

Synthèse bibliographique, Chapitre 1 : Présentation des plantes étudiées

2012). Notons que cette résine 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 (Assimopoulou et Papageorgiou, 2005). Ces croyances traditionnelles sont en accord avec de récentes études montrant que cette résine induit l'apoptose et dispose d'action anti-prolifératrice contre les cellules cancéreuses du côlon (Balan et al., 2005; Balan et al., 2007).

D'autre part, cette substance purement économique, est très utilisée depuis longtemps pour préparer le chewing gum en Iran (Delazar et al., 2004). Elle entre dans la fabrication des dentifrices et des produits destinés au plombage (Duru, 2003).

Une étude a révélé que l'activité antibactérienne de l'huile extraite du mastic de *P. lentiscus* est très élevée contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* (Koutsoudaki et al., 2005). Cette huile a révélé aussi une activité antibactérienne sélective contre *Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella melaninogenica* et avait une activité anti-plaque sur les dents en inhibant la croissance bactérienne dans la salive (Sakagami et al., 2009).

L'huile essentielle et les différents extraits des feuilles de *P. lentiscus* ont indiqué un effet inhibiteur significatif sur la mutagénicité in vitro (Douissa et al., 2005 ; Haydar et al., 2005). L'acide gallique, l'acide digallique et 1,2,3,4,6-pentagalloylglucose isolés à partir des fruits de *P. lentiscus*, ont induit une activité inhibitrice contre la mutagénicité et la génotoxicité dans des essais in vitro (Bhourri et al., 2010 ; Abdelwahed et al., 2007). L'huile essentielle de *P. lentiscus* a démontré une inhibition significative de la croissance tumorale chez des souris immunocompétentes, sans signe de toxicité (Magkouta et al., 2009). En outre, elle a eu un effet antiprolifératif et pro-apoptotique sur les cellules de leucémie humaine et inhibe la libération de facteur de croissance vasculaire endothéliale de ces cellules (Loutrari et al., 2006).

En Algérie, l'huile fixe extraite des fruits mûrs est employée comme remède d'application locale externe sous forme d'onguent pour soigner les brûlures, les petites blessures, les érythèmes et les douleurs dorsales (Iserin, 2001; Baudoux, 2003; Grosjean, 2007).

II.1.6. Travaux antérieurs :

L'analyse phytochimique et les propriétés antioxydantes de différentes parties de la plante ont été l'objet de plusieurs études récentes (Bammou et al., 2015 ; Beghlal et al., 2016; Mamoucha et al., 2016 ; Zitouni et al., 2016).

Synthèse bibliographique, Chapitre 1 : Présentation des plantes étudiées

Les criblages phytochimiques réalisés dans les études de (Longo et al., 2007 ; Atmani et al., 2009 ; Hamad et al., 2011) ont confirmé la présence des anthocyanes, des flavonoïdes glycosylés et des triterpènes respectivement. De même, l'examen de screening phytochimique réalisé par Arab et al. (2014) a aussi révélé la présence des stérols insaturés et / ou triterpènes, des carbonhydrates, des flavonoïdes et des tanins.

Le pouvoir antioxydant de la plante est largement étudié ; Atmani et al. (2011) et Atmani et al. (2009) ont constaté que *P. lentiscus* présente un grand pouvoir réducteur. D'autres travaux ont été consacrés sur l'étude du piégeage du radical libre DPPH ; Arab et al. (2014), Krimat et al. (2014), Atmani et al. (2011), Gardeli et al. (2008) et Benhammou et al. (2007) ont indiqué que les extraits de *P. lentiscus* ont une puissante activité antiradicalaire.

Les potentiels antioxydants de l'espèce *P. lentiscus* sont du en particulier à la présence des flavonoïdes et des flavones (Kawashty et al., 2000 ; Topçu et al., 2007), des vitamines (alpha tocophérol) (Kivçak et Akay, 2005), des gallotannins (Wei et al., 2002 ; Zhao et al., 2005), des phénols simples tels que l'acide gallique et l'acide ρ -coumarique (Benhammou et al., 2008) et l'acide digallique (Bhourri et al., 2010).

Il est à souligner que la chimie de la plante est relativement peu étudiée. D'après une étude récente réalisée par Arab et al (2014), la composition chimique de l'huile essentielle de cette plante révèle la présence de plusieurs composés: α - Pinène, R-Comphène β -Pinène, β -Mircene, α - Phellandrene α -Terpinène Limonène, γ -Terpinène, L-terpinen-4-ol 3 cyclohexene-1- , 4, trimethyl, Carvone L- α -bornyl acetate 1-(3-methylcyclopent-2-enyl), cyclohexene, Undecanone, Caryophyllen β -Cubebene Spathulenol, α -Cadinol.

En Algérie, le myrcène est le composé majeur de l'huile essentielle (23-33.1%) suivi par le α -pinène (20.0-34.2%) (Dob et al., 2006; Mecherara-Idjeri et al., 2008), le terpinène-4-ol (17.3- 34.7%) (Benyoussef et al., 2005), le longifolène (16.4-12.8%) (Dob et al., 2006), le limonène (44-29%) (Castola et al., 2000; Mecherara-Idjeri et al., 2008), β -caryophellène (19.3-13.1%) (Mecherara-Idjeri et al., 2008).

D'autres études ont montré la présence des acides : oléique, palmitique, linoléique et stéarique dans l'huile fixe des fruits du *P. lentiscus* (Mezni et al., 2012).

II.2. *Gymnocarpos decander* Forsk

II.2.1. Position systématique (Quezel et Santa, 1963)

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicots

Ordre : Caryophyllales

Famille : Caryophyllacées

Sous famille : Paronychioidées

Genre : *Gymnocarpos*

Espèce : *Gymnocarpos decander* Forsk.

Noms vernaculaires : El djefna

II.2.2. Description botanique de *Gymnocarpos decander*

Plante herbacée, buissonnante à tiges couchées sur le sol. C'est un arbrisseau bas à souche épaisse et noueuse, à rameaux très divariqués, blancs; feuilles étroites, courtes, un peu charnues, terminées par une petite épine; fleurs en petites cymes contractées, verdâtres puis violacées; sépales persistants, coriaces, à bords membraneux, portant sur leur dos, près de l'extrémité, une épine entourée d'un faisceau de minuscules poils blancs crépus. Commun dans tout le Sahara septentrional (**Quezel et Santa, 1963 ; Ozenda, 2004**).

II.2.3. Distribution et habitat

Le genre *Gymnocarpos* s'installe dans les régions sèches des îles du Cap Vert et le nord-ouest de la Chine. Le centre de la diversité est la Corne de l'Afrique (**Oxelman et al., 2002**). *Gymnocarpos decander* diffuse dans les zones arides. C'est un élément floral de la zone saharo-arabe, qui se trouve aussi sur les îles Canaries, au Maroc, l'Algérie, la Tunisie, la Libye, l'Égypte, sur le continent africain, en Asie dans la Jordanie, la Syrie, l'Arabie Saoudite, Oman, Iran, Afghanistan et Pakistan (**Petrusson et Thulin, 1996**).

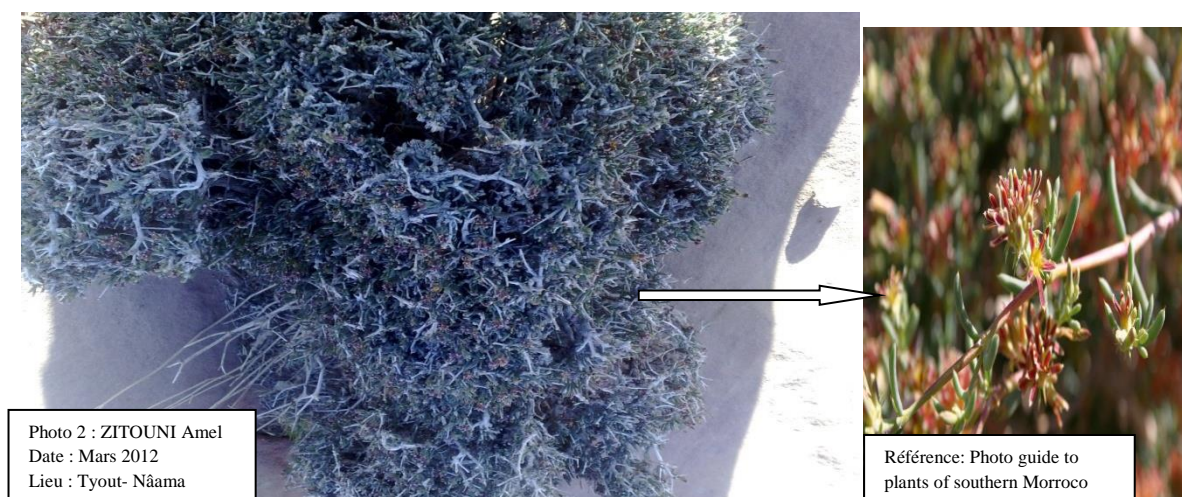


Figure 2. *Gymnocarpos decander*.

II.2.4. Propriétés et usages thérapeutiques

Suite à une étude ethnobotanique menée auprès de la population locale de la commune de Tyout (wilaya de Nâama), cette plante est utilisée contre certaines infections microbiennes de l'appareil digestif. Cette plante médicinale est utilisée au Maroc pour le traitement de diverses pathologies: Helminthiases, indigestion, calculs rénaux et néoplasmes cutanés (Abouri et al., 2012). Selon Tahrouni et al. (2010), cette plante steppique est qualifiée comme hautement appréciée par les animaux sauvages et domestiques. On sait que les animaux consomment instinctivement des plantes médicinales pour traiter leurs maladies (Russo et al., 2009).

II.2.5. Travaux antérieurs :

Peu de travaux ont été réalisés sur cette plante. Il y a un seul travail qui porte sur l'étude des teneurs en polyphénols et la mesure de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de certaines plantes recueillies dans le sud de la Tunisie ; *G. decander* était parmi 25 plantes choisies dans cette investigation (Bouaziz et al., 2009).

Les résultats de ce travail ont montré la richesse de cette plante en phénols totaux, flavonoïdes et flavonols, ainsi que ses puissants pouvoirs antioxydant et antimicrobien.

Un autre travail a été réalisé par Javidnia et al. (2008) dont l'objectif est d'étudier la composition en huile de *G. decander*. La composition de l'huile essentielle de cette plante a été étudiée par CG et CG / SM. Soixante-deux composés représentent 88,9% de l'huile ont été caractérisés. Les principaux composants étaient l'acide hexadécanoïque (17,8%), l'acide

Synthèse bibliographique, Chapitre 1 : Présentation des plantes étudiées

dodécanoïque (7,5%), le gaïacol de vinyle (5,1%), l'acide tétradécanoïque (3,1%), et de l'acide linoléique (3,1%)

Chapitre 2 : Les composés phénoliques

I. Généralités

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux qui existent dans la plupart des tissus de la plante, ils ne sont pas essentiels pour la croissance, le développement ou la reproduction, mais peuvent jouer des rôles comme antioxydant, et entrent dans les interactions entre la plante et son environnement biologique (**Macheix et al., 2005 ; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006 ; Collin et Crouzet, 2011**). Les composés phénoliques sont également des éléments importants de l'alimentation humaine en raison de leur pouvoir antioxydant potentiel, leur capacité à diminuer les dommages oxydatifs des tissus induite par le stress résultant de maladies chroniques, est potentiellement importante telle que l'activité anticancéreuse (**Liu et al., 2009**). Leur activité est basée sur les groupes fonctionnels capables d'accepter la charge négative d'un radical libre. Les polyphénols sont donc un groupe très diversifié et multifonctionnel des composés actifs des plantes ayant un potentiel de santé substantielle (**Watson et al., 2014**).

Ces composés présentent tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (**Urquiaga et Leighton, 2000 ; Hennebelle et al., 2004**).

Les composés phénoliques peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien leurs permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel. D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (**Macheix et al., 2005**).

II. Classification

Il existe dans les végétaux des milliers de composés phénoliques différents. Ces composés regroupent un ensemble de plus de 8000 molécules. Ces composés sont divisés en une dizaine de classes chimiques, selon leur nombre de cycle phénol ainsi que les éléments de structure qui lient leurs anneaux les uns aux autres. Ils peuvent aller de molécules simples,

comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, de plus de 30000 Dalton, comme les tanins (Collin et Crouzet, 2011).

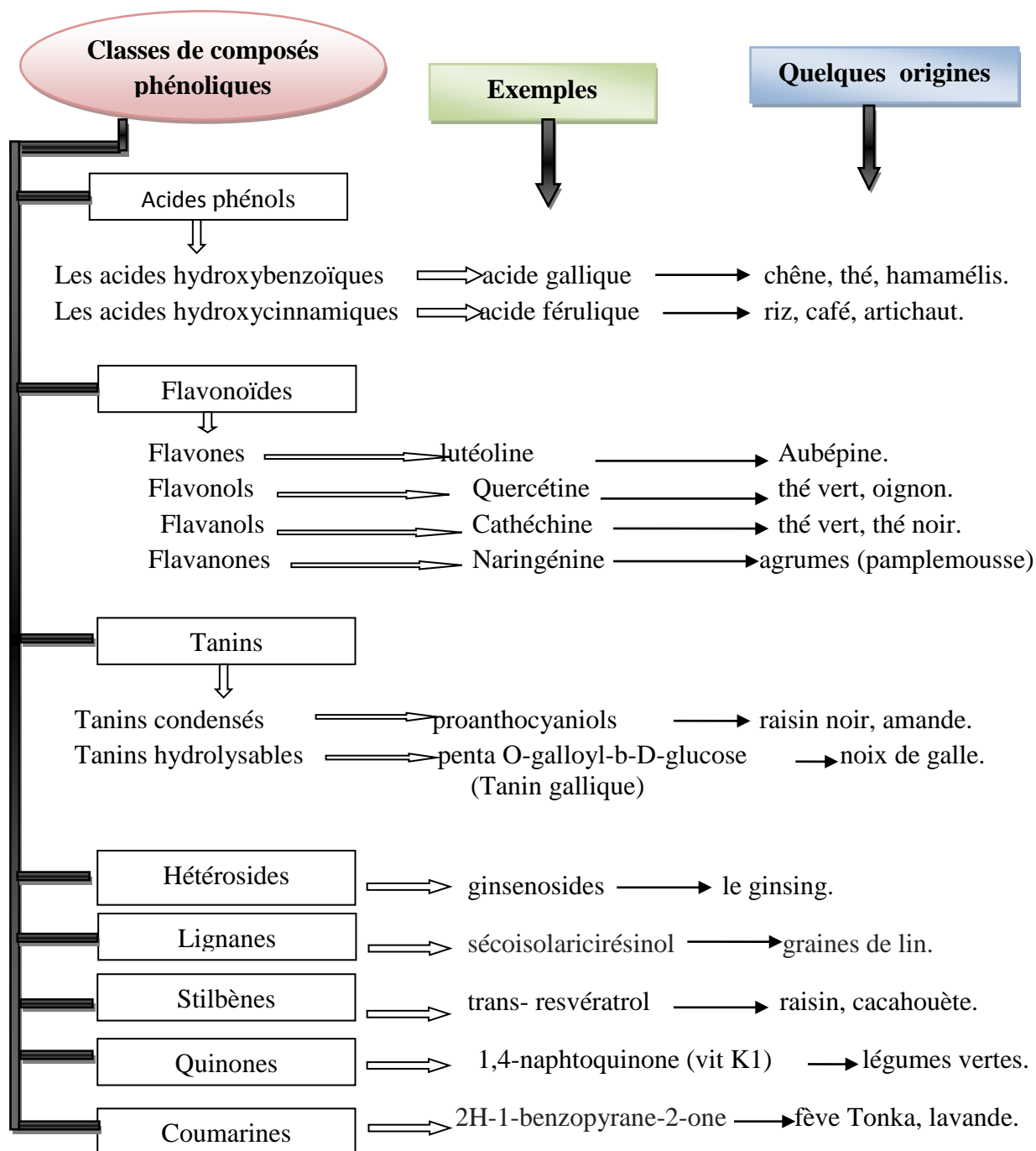


Figure 3. Principales classes de composés phénoliques et quelques exemples (Bruneton, 1999 ; Macheix et al., 2005 ; Watson et al., 2014).

II. 1. Les acides phénols

Les acides phénols ne sont pas à proprement parler des polyphénols. Ils sont composés d'un seul noyau phénolique et d'au moins une fonction carboxylique. Les acides phénoliques sont présents en abondance dans les aliments et divisés en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. Les acides hydroxycinnamiques sont plus fréquents que les acides hydroxybenzoïques et comprennent essentiellement l'acide p-coumarique, caféique, férulique et synapique (**Pandey et Rizvi, 2009**).

Certains des acides phénoliques sont capables d'agir positivement contre les cancers. L'acide gallique présente des effets chimio préventifs contre le cancer du côlon chimiquement induit chez le rat (**Giftson et al., 2010; Giftson et al., 2011**). L'acide caféique est capable d'inhiber la capacité d'invasion des cellules PC3 issues de cancer humain de la prostate (**Lansky et al., 2005**).

II. 1.1. Les acides hydroxybenzoïques

Présents dans peu de végétaux de l'alimentation courante, ils sont peu étudiés. Ils ont une formule de base de type C6-C1. Dérivés de l'acide benzoïque, leur diversité structurale est due aux hydroxylations et/ou méthoxylations du noyau aromatique en diverses positions (2, 3 et 4) donnant ainsi les acides 4-hydroxybenzoïques, 3-hydroxybenzoïques, protocatéchique, vanillique, gallique, syringique et salicylique (**Tomas-Barberan et al., 2000**). Ils sont le plus fréquemment présents dans les fruits et les légumes sous forme de conjugués (esters ou glycosides), cependant l'acide gallique peut être retrouvé sous forme libre dans certains fruits comme le kaki. La réaction d'estérification d'un de ces acides avec une molécule de glucose donnera des structures plus complexes appelées tanins hydrolysables (**Clifford et al., 2000**) comme les gallotanins retrouvés dans la mangue, ou les ellagitanins dans certains fruits rouges comme les fraises. Les acides hydroxybenzoïques sont également présents dans les plantes aromatiques et les épices (23 à 27 mg/kg dans l'écorce de cannelle).

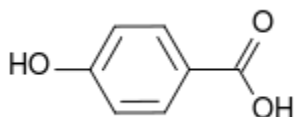


Figure 4. Structure de l'acide para-hydroxybenzoïque (**Bruneton, 1999**)

II. 1.2. Les acides hydroxycinnamiques

Très répandus dans le règne végétal, ces composés ont une formule de base de type (C6-C3) et leur diversité est également due à la variabilité des hydroxylations du noyau aromatique. Le composé le plus courant est l'acide caféique qui représente à lui seul 75 à 100% des acides hydroxycinnamiques totaux de la plupart des fruits (**D'Archivio et al., 2007**). L'acide férulique, sinapique et para-coumarique sont également répandus dans les aliments (**Clifford, 2000b**). Les acides hydroxycinnamiques sont rarement présents sous forme libre et sont retrouvés essentiellement sous formes conjuguées. Il s'agit de dérivés glycosylés ou d'esters avec les acides quinique, tartrique ou shikimique (**Manach et al., 2004; Macheix et al., 2006**).

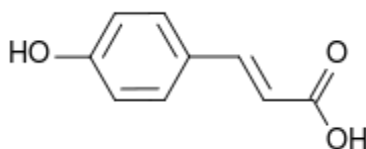


Figure 5. Structure de l'acide para- coumarique (**Bruneton, 1999**)

II. 2. Les flavonoïdes

II. 2. 1. Définition, structure et classification

Le terme « flavonoïde » désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme les pigments quasiment universels des végétaux (**Bruneton, 1999**).

Les flavonoïdes sont les polyphénols les plus abondants dans notre alimentation et plus de 4000 composés ont pu être identifiés (**D'Archivio et al., 2007**). Ils sont particulièrement présents dans l'épiderme des feuilles ainsi que dans la peau des fruits. Ils présentent une structure commune en C6-C3-C6. Deux cycles aromatiques (A et B) sont liés par une chaîne de 3 carbones formant un hétérocycle oxygéné (C) (**Macheix et al., 2006**).

Les flavonoïdes dérivent de l'enchaînement benzo- γ -pyrone, et c'est la structure de l'hétérocycle central et son degré d'oxydation qui permet de distinguer les différentes classes de flavonoïdes (**Macheix et al., 2005**). On distingue alors les 4-oxoflavonoïdes (flavones, isoflavones, flavonols et flavanones), les flavanols et les proanthocyanidines, les anthocyanes ainsi que des composés plus minoritaires ; les chalcones et dihydrochalcones (**Crozier et al.,**

2009). Il existe dans chaque sous-classe de nombreux composés selon les substitutions des cycles aromatiques. La plupart des flavonoïdes sont glycosylés, ce qui augmente leur solubilité dans l'eau (Crozier et al., 2009).

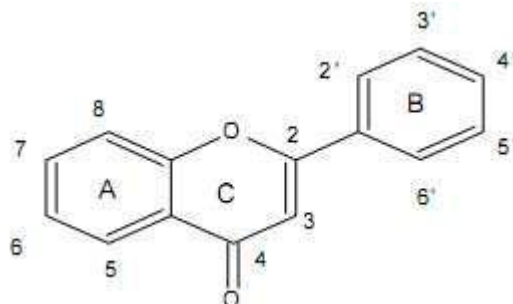


Figure 6. : Squelette de base des flavonoïdes (Girotti-Chanu, 2006).

II. 2. 2. Quelques propriétés des flavonoïdes

Les flavonoïdes protègent les plantes contre les radiations UV, elles sont également impliquées dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales. Agissent comme des pigments ou des co-pigments responsables de la coloration des fruits, des fleurs et des feuilles. De ce fait, ils jouent un rôle important dans les interactions avec les insectes (attraction et rôle dans la pollinisation entomophile et la dispersion des graines). Ils sont également présents dans les épices et les herbes aromatiques. Les flavonoïdes peuvent moduler la distribution d'auxine, comme elles fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire. Agissent sur la régulation de l'élongation des tiges et interviennent dans la maturité des fruits. Sont à l'origine des goûts amers, et astringents afin de repousser les animaux herbivores (Subramanian et al., 2007).

Les flavonoïdes hétérosidiques sont hydrosolubles et solubles dans les alcools. Les flavonoïdes lipophiliques des tissus superficiels des feuilles sont solubles dans les solvants polaires et dans les solvants moyennement polaires (comme par exemple le dichlorométhane) (Bruneton, 1999).

Elles possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Elles ont des propriétés anti-inflammatoire, anti-oxydante et hépatoprotectrice ; elles jouent un rôle important dans le

système de défense, Certaines sont particulièrement actives dans le maintien d'une bonne circulation sanguine (**Iserin, 2001**).

II. 3. Les Tanins

II. 3.1. Définition, structure et classification

Le terme de tanin désigne des composés phénoliques ayant la capacité de précipiter les protéines (**Atkinson et Hazleton, 1922**). Les tanins sont des composés polyphénoliques très répandus dans le monde végétal. Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 dalton qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (**Haslam, 1996 ; Cowan, 1999**).

On distingue deux groupes de tanins différents par leur structure et par leur origine biogénétique :

Tanins hydrolysables : Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie non phénolique (le plus souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être de l'acide gallique (**Macheix et al., 2005**). Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux (**Guignard, 1996**).

Tanins condensés ou catéchiques : Ce sont des oligomères ou des polymères de flavane –3 ols dérivés de la catéchine ou de ses nombreux isomères. À la différence des tanins hydrolysables, ils ne s'hydrolysent pas sous l'action des acides dilués (**Guignard, 1996 ; Macheix et al., 2005**).

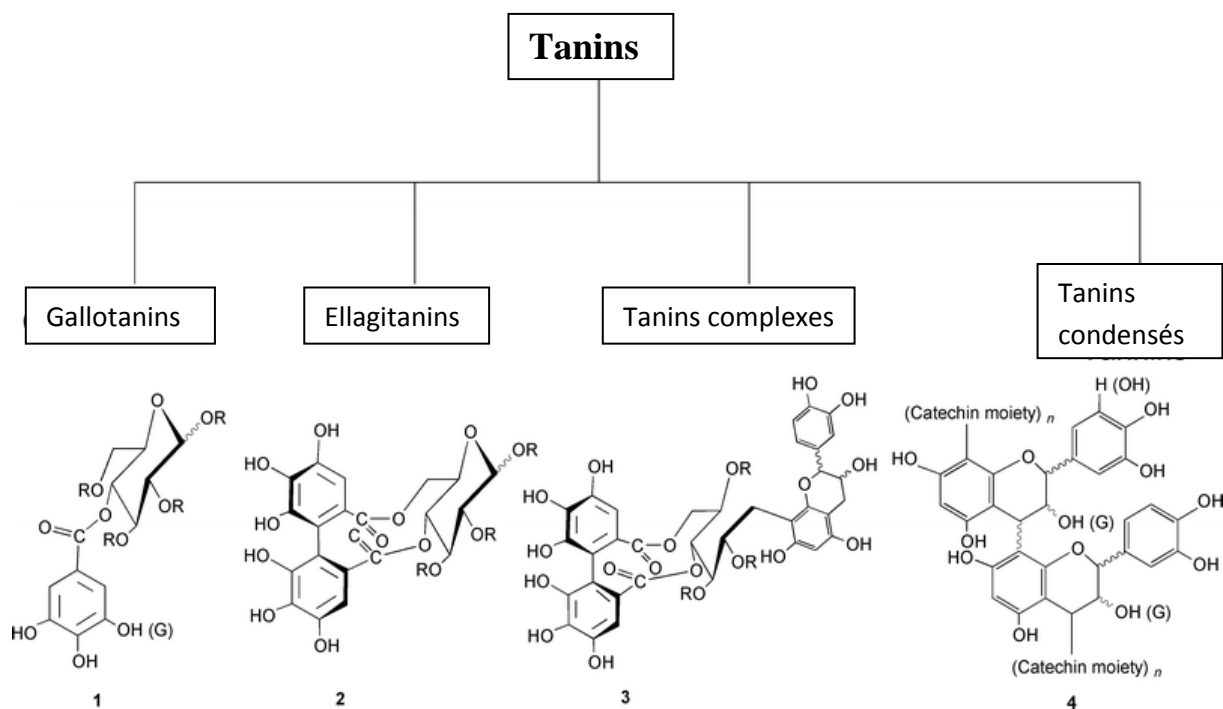


Figure 7. Exemples de structures des principaux types de tanins (Khanbabae et van Reeb, 2001).

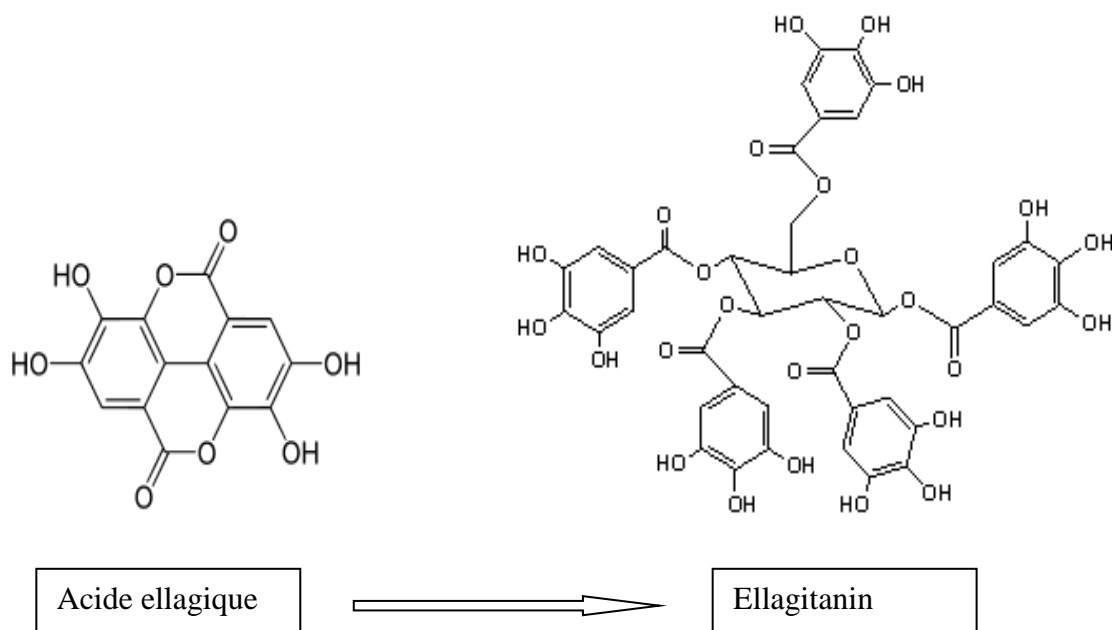


Figure 8. Formation d'un ellagitanin à partir de l'acide ellagique.

II. 3. 2. Quelques propriétés de tanins

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (**Eberhard et al., 2005**).

Des travaux récents ont montré un nombre d'effets bénéfiques des tanins y compris être un détergent naturel pour réduire le ballonnement (**Tanner et al., 1995**), et avoir une activité antimicrobienne (**Doughari et al., 2008**), et une activité antioxydante (**Zargham et Zargham, 2008**).

Les tanins ont la propriété de tanner la peau. Cette propriété de tannage provient de la création de liaisons entre les molécules de tanins et les fibres de collagène (**Gedir et al., 2005 ; Schauenberg et Paris ,2006**). Les tanins sont solubles dans l'eau et capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les autres protéines (**Vermeris, 2006**).

Les ellagitanins sont activement étudiés pour leurs effets contre le cancer, et en particulier le cancer de la prostate (**Heber, 2008**).

Les gallotanins ont montré des effets bénéfiques contre des xénogreffes de cellules HCT 116 issues de cancer colorectal humain chez la souris (**Al-Halabi et al., 2011**).

Des dimères de procyanidines ont été montrés comme capables d'inhiber la biosynthèse d'œstrogènes in vitro et in vivo (**Eng et al., 2003**), ce qui suggère des effets protecteurs contre le cancer du sein. Les proanthocyanidines, associées à des fibres, pourraient aussi permettre de réduire les risques de cancer du côlon (**Lizarraga et al., 2011**). D'autres études n'ont en revanche pas montré des effets significatifs de mélanges riches en proanthocyanidines sur l'apparition de cryptes aberrantes chez le rat (**Caderni et al., 1999**).

II. 4. Les anthocyanes

Les anthocyanes (également appelés anthocyanosides ou anthocyanines) sont issus de l'hydrolyse des anthocyanidines (flavonoïdes proches des flavones) qui sont responsables de la coloration vive , allant du rouge au violet en passant par le bleu, des fruits et des pigments floraux (**Garnero, 2000**). Les anthocyanes constituent un groupe de pigments solubles dans l'eau. Ils sont dissous dans les vacuoles des cellules épidermiques des fleurs et des tissus (**Mazza et al., 1993**).

Plusieurs centaines de molécules sont connues. Elles varient selon le nombre et la position de différents groupements hydroxyles et méthoxyles, la nature, le nombre et la position des sucres (Clifford, 2000a). Les anthocyanes les plus fréquents sont des 3-glycosides ou des 3,5-diglycosides de pélargonidine, cyanidine (anthocyanidine la plus répandue dans l'alimentation), delphinidine et malvidine. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, et changent de couleur en fonction de leur pH. (Manach et al., 2004).

Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres. Ils maintiennent une bonne circulation sanguine, notamment dans les régions du cœur, des mains, des pieds et des yeux. La mûre sauvage (*Rubus fruticosus*), la vigne rouge (*Vitis vinifera*) et l'aubépine (*Crataegus oxyacantha*) en contiennent toutes des quantités appréciables (Eberhard et al., 2005).

La cyanidine-3-glucoside permet de réduire le nombre d'adénomes intestinaux (au niveau de l'intestin grêle médian et distal principalement) des souris (Cooke et al., 2006). Même si l'efficacité antiproliférative in vitro des anthocyanes contre les cellules coliques (HT 29 et HCT 116) se révèle légèrement plus faible que celle des anthocyanidines (Kang et al., 2003), leur stabilité est considérable du fait de leurs potentiels composés chimiopréventifs (Thomasset et al., 2009).

II. 5. Les saponosides

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensioactives. La plupart des saponosides présentent des propriétés hémolytiques. Les saponosides peuvent être classés en deux groupes selon la nature de leur génine: saponosides à génine stéroïdiques et saponosides à génine triterpéniques (Bruneton, 1999).

II. 6. Les lignanes

Les lignanes sont formés par la dimérisation oxydative de deux unités de phénylpropane. La source alimentaire la plus riche est la graine de lin. D'autres céréales (le blé), des fruits (les poires et les prunes) et certains légumes (l'ail, les asperges et les carottes). Les lignanes sont métabolisés par la flore colique libérant de l'entérodiol et de l'entérolactone ; ils sont ainsi considérés comme des phytoestrogènes (Thompson et al., 1991; Adlercreutz et al., 1997).

II. 7. Les stilbènes

Les stilbènes sont une famille de molécules dérivées de la voie des phénylpropanoïdes dont le trans-resvératrol (3,5,4'-trihydroxystilbène) est le plus commun. Ils sont présents dans la plante sous forme de monomères, dimères, trimères ou polymères. Cette molécule est principalement citée pour leurs bénéfices sur la santé. Le resvératrol a fait l'objet de nombreuses études biomédicales notamment sur le cancer et les maladies cardiovasculaires (**Ferrer, 2005**).

II. 8. Les Quinones

Les quinones sont des noyaux aromatiques avec deux substitutions cétones. Ces composés, étant colorés, sont responsables de la réaction de brunissement dans les fruits et les végétaux coupés ou lésés. En plus de fournir une source de radicaux libres stables, les quinones sont connus pour se complexer de manière irréversible avec les nucléophiles des acides aminés dans les protéines (**Arif et al., 2009**).

II. 9. Les coumarines

Elles sont présentes en quantités plus faibles dans plusieurs plantes comme le mélilot, la sauge sclérée et la lavande. Les coumarines sont des composés phénoliques, portant un noyau benzopyrone dans leur structure, ils sont des 2H-1-benzopyran-2-ones que l'on peut considérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-Z-cinnamiques (**Bruneton, 1999**).

III. Propriétés thérapeutiques et activités biologiques des polyphénols

De nos jours, les propriétés des polyphénols sont largement étudiées dans le domaine médical. Des études récentes ont mis en évidence plusieurs activités biologiques dont l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, et anti-bactérienne. Les activités biologiques des polyphénols ont souvent été évaluées *in vitro* et souvent associées à leurs propriétés antioxydantes intrinsèques ; dans des extraits cellulaires, des protéines purifiées, ou des cellules en culture. Les propriétés biologiques *in vivo* ont en revanche été peu étudiées.

De nombreuses études se sont intéressées à l'effet des polyphénols contre plusieurs maladies, mais peu de données sont actuellement disponibles chez l'homme. De nombreux composés phénoliques ont été décrits comme ayant des activités anti-carcinogènes. Ceci a été

montré dans de nombreuses études menées *in vitro* sur des lignées de cellules cancéreuses ou *in vivo* à l'aide de modèles animaux. L'effet des polyphénols sur les lignées de cellules cancéreuses humaines est fréquemment protecteur, et induit une réduction du nombre de tumeurs et de leur croissance (**Scalbert et al., 2005**). Plusieurs mécanismes d'action ont été identifiés : activité œstrogénique ou antiœstrogénique, effets antiprolifératifs, induction de l'arrêt du cycle cellulaire ou de l'apoptose, prévention de l'oxydation, activité anti-inflammatoire, modification de la signalisation cellulaire. Les études *in vitro* ont montré que les polyphénols pouvaient agir sur les voies de signalisation impliquées dans les phénomènes de prolifération et de différenciation. Le resvératrol par exemple a des effets anti-prolifératifs (**Garcia-Lafuente et al., 2009**).

Diverses études épidémiologiques ont montré l'existence d'une corrélation inverse entre la consommation de polyphénols ou d'aliments riches en polyphénols, et le risque de développement de maladies cardiovasculaires. Ainsi une méta-analyse basée sur 7 études cas-témoins suggèrent une réduction du risque d'infarctus du myocarde de 11% lors de la consommation de trois tasses de thé par jour (**Peters et al., 2001**). Ces effets protecteurs du thé ont été confirmés par diverses études (**Mukamal et al., 2002; Mennen et al., 2004**).

Les pathologies liées au vieillissement cérébral (maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, autres types de démences ...) sont associées à différents événements cellulaires et moléculaires dont une diminution du fonctionnement mitochondrial, l'apoptose neuronale, le dépôt de protéines agrégées et le stress oxydant (**Spencer, 2010**). Ainsi, différents antioxydants, dont les polyphénols, pourraient jouer un rôle bénéfique vis-à-vis de ces pathologies. De nombreuses études d'intervention alimentaire menées chez l'homme ou chez l'animal avec des aliments ou boissons issus du raisin, du thé ou de baies comme les myrtilles ont montré une amélioration de la mémoire et de la cognition (**Rendeiro et al., 2009**). Il a été mis en évidence au cours d'une étude d'intervention chez l'homme que la consommation d'une boisson riche en flavanols de cacao résultait en une augmentation du flux sanguin cérébral, indispensable à un fonctionnement cérébral optimal (**Francis et al., 2006**). De plus, certaines flavonoïdes de la myrtille inhibent la production de différents facteurs inflammatoires : NO, et TNF- α dans les cellules de la microglie (**Lau et al., 2007**).

L'inflammation est la réponse principale de l'organisme à une agression et est précisément régulée afin de limiter les atteintes possibles des structures de l'organisme. Les différentes études menées sur les effets protecteurs des polyphénols dans ces contextes

pathologiques ont montré que ceux-ci diminuaient les marqueurs de l'inflammation (**Gonzalez-Gallego et al., 2010**), et agissaient sur de nombreuses cibles moléculaires au centre des voies de signalisation de l'inflammation (**Santangelo et al., 2007**).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent aussi bien le domaine de l'hygiène alimentaire et plusieurs autres domaines ; les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes, chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (**Hennebelle et al., 2004**).

Plus récemment, **Mena et al. (2014)** indiquent que les polyphénols isolés des extraits des végétaux peuvent être utilisés dans la chimiothérapie.

IV. Mesure de l'activité antioxydante des polyphénols

L'activité antioxydante des polyphénols se détermine in vitro par la mesure de la capacité de piégeage des radicaux libres et de la réduction de certains composés chimiques. Les données obtenues sont comparées à des composés de référence comme le Trolox (dérivé hydrosoluble de la vitamine E), l'acide gallique ou la catéchine.

Divers oxydants peuvent être utilisés pour cette détermination :

- l'ABTS^{o+} formé à partir de l'ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) en présence de metmyoglobine et de peroxyde d'hydrogène. Il est utilisé dans la méthode TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) (**Rice-Evans et al., 1994**).
- les radicaux formés par le chauffage de l'AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride) dans la méthode ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) (**Cao, 1998**) ou TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) (**Ghiselli et al., 1995**).
- l'ion ferrique Fe³⁺ dans la méthode FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) (**Benzie et al., 1996**).

- la méthode du radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (**Brand-Williams et al., 1995**).
- La méthode de DMPD (Balayage du radical cation N, N- diméthyl-phenylenediamine) (**Li et al., 1994**).
- La méthode TOSC (Capacité du piégeage des oxy-radicaux totaux) (**Winston et al., 1998**).
- les radicaux formés par l'auto-oxydation de l'acide linoléique (**Velioglu et al., 1998**).

Cependant, les mesures de l'activité antioxydante des polyphénols isolés ou extraits de végétaux ont une portée limitée et sont difficilement extrapolables pour évaluer l'effet antioxydant des molécules après ingestion, ces composés étant transformés lors de leur séjour dans l'organisme. De plus, les résultats peuvent différer d'un test à un autre pour une même molécule.

V. Polyphénols et phénomènes d'oxydation

V.1. Généralités

L'effet des polyphénols sur la protection antioxydante des tissus est influencé par leur biodisponibilité qui varie considérablement d'une molécule à une autre (**Manach et al., 1998**). La conjugaison des groupements catéchols permet la prévention de leur oxydation en quinones toxiques potentiellement génératrices du radical superoxyde. Ainsi, les polyphénols de type catéchol offrant la meilleure activité antioxydante (**Scalbert et al., 2005**). Les propriétés antioxydantes des polyphénols dépendent également de leur environnement physicochimique qui varie selon les conditions physiologiques et les tissus considérés. (**Dangles et al., 2001**).

Pour certains chercheurs, l'action pharmacologique des polyphénols issus des végétaux, est associée à deux propriétés : d'une part, leur capacité à se lier aux protéines, ce qui peut conduire à l'inhibition des activités enzymatiques (lipoxygénase, peroxydases, xanthine oxydase, glucosidases, galactosidases, etc.) et d'autre part, leur caractère antioxydant permet de neutraliser les formes actives de l'oxygène ou des radicaux libres à caractère toxique issus de la peroxydation lipidique. Ces résultats pourraient se révéler très utiles pour le développement des thérapies contre nombreuses maladies (**Macheix et al., 2005**).

Des dosages de types ORAC et FRAP ont montré que l'ingestion d'aliments ou de boissons riches en polyphénols induisait une augmentation quasiment systématique du

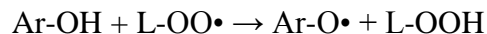
pouvoir antioxydant du plasma. Ceci a été observé lors de la consommation du thé (**Serafini et al., 1996; Leenen et al., 2000**), de bière (**Ghiselli et al., 2000**) ou encore de fruits et légumes comme les fraises ou les épinards (**Cao et al., 1998**).

Cependant, l'implication des polyphénols dans cette augmentation du pouvoir antioxydant du plasma est discutée. En effet, les polyphénols sont présents dans le plasma à de très faibles concentrations et ne pourraient être impliqués que dans 2 à 4% de cette augmentation (**Stevenson et al., 2007**).

Des études récentes discutent leur efficacité de protection de certains composés cellulaires comme les lipides ou l'ADN lors du stress oxydant. Ainsi, ces auteurs ont montré une diminution de la peroxydation lipidique dans le plasma après consommation de polyphénols : l'ingestion de catéchines du thé (250 mg) diminue les peroxydes de phospholipides (**Nakagawa et al., 1999**) chez des volontaires sains. De la même manière, une diminution de la concentration de MDA dans le plasma a également été observée chez des volontaires sains après consommation de cassis et de jus de pomme (1,5 l /j pendant 7 j) (**Young et al., 1999**). L'effet protecteur des polyphénols sur l'ADN a également été évalué in vitro, et les résultats montrent selon les cas, des effets protecteurs ou délétères. En présence de métaux de transition (Cu^{2+} , Fe^{3+}), les polyphénols induisent leur réduction. Une fois réduits, ces métaux catalysent la formation de radicaux hydroxyles pouvant provoquer des cassures de l'ADN. Ce phénomène pouvant être considéré comme toxique, est actuellement une voie de recherche dans les traitements anti-cancéreux, et il a été montré que cet effet de polyphénols comme le resvératrol visait préférentiellement les cellules tumorales où la concentration en cuivre est particulièrement élevée, induisant ainsi des effets apoptotiques (**Hadi et al., +2010**). Plusieurs études in vitro et in vivo ont mis en évidence des effets protecteurs des polyphénols vis-à-vis de la dégradation de l'ADN. Des effets similaires ont été mis en évidence avec l'acide ellagique (**Takagi et al., 1995**). Chez l'homme, la consommation d'antioxydants ou de fruits et légumes a également été associée à une réduction des atteintes oxydatives de l'ADN des lymphocytes (**Lampe, 1999; Boyle et al., 2000**). Cependant, d'autres auteurs n'ont observé aucun effet sur l'ADN lymphocytaire avec un régime similaire chez le sujet sain (**Beatty et al., 2000**).

V.2. Mécanisme d'action

Les polyphénols possèdent des groupes hydroxyles phénoliques (Ar-OH). Ils peuvent donc fournir des hydrogènes aux radicaux peroxydes L-OO• (très instable) et les neutraliser. Le radical ArO• étant assez stable et moins réactif, va briser la chaîne:



Les composés phénoliques peuvent transférer un hydrogène du noyau phénol à un radical de haute énergie, comme par exemple les radicaux peroxydes, produits lors de l'auto-oxydation des lipides (**Dangles et al., 2001**). Le composé phénolique « radicalaire » résultant est stabilisé par la délocalisation des électrons sur le cycle benzénique. Cette réaction entraîne donc la conversion d'un radical peroxyde très réactif en un radical phénoxyde moins réactif. Cette capacité antioxydante (capture des espèces réactives de l'oxygène) est encore accrue, pour les composés phénoliques possédant deux groupes hydroxyles. Ces groupements sont, par ailleurs, de bons donneurs d'hydrogènes pour la formation de liaisons hydrogènes. De nombreux composés phénoliques sont également chélateurs d'ions métalliques (**Bors et al., 1990**).

Chapitre 3 : Oxydation et antioxydants

I. Généralités

En condition physiologique, l'oxygène, élément indispensable à la vie, produit en permanence au niveau de la mitochondrie des espèces oxygénées activées (EOA) particulièrement toxiques pour l'intégrité cellulaire. Ces EOA, dont font partie les radicaux libres, sont dotées de propriétés oxydantes qui les amènent à réagir, dans l'environnement où elles sont produites, avec toute une série de substrats biologiques (lipides, protéines, ADN, glucose,..). Au niveau moléculaire, les EOA peuvent aussi agir comme messagers secondaires, et activer différents facteurs ou gènes impliqués dans le développement de diverses pathologies (**Pincemail, 2004**).

Pour se protéger contre l'effet toxique de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense qui permettent de réguler la production des EOA. Ces systèmes sont composés d'antioxydants (le groupe des vitamines A, C et E), d'oligo-éléments, des polyphénols et de protéines qui empêcheront le fer de déclencher une production d'EOA. Des enzymes protéolytiques dont le rôle consiste à dégrader les substrats oxydés, complètent cette panoplie.

Dans les systèmes biologiques, le phénomène d'oxydation correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire, induite soit par production excessive d'espèces hautement réactives principalement les radicaux libres, soit par diminution de la capacité de défense antioxydante (**Haleng et al., 2007; Robertson, 2004**).

De manière générale, le stress oxydant se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers avec comme conséquence, l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule (**Pincemail, 2004**).

Les dommages liés à un stress oxydant se traduisent par diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que l'oxydation de l'ADN (**Cooke et al., 2003; Marnett, 2000**), des protéines (**Davies, 2003**), ou la peroxydation des lipides (**Figure 9**). Il a également été montré que le stress oxydant jouait un rôle central dans l'initiation, la progression et la malignité de nombreux cancers (**Grek et al., 2010**).

Afin de maintenir l'homéostasie redox de la cellule, il existe de nombreux systèmes de défense antioxydante endogènes ou exogènes, enzymatiques ou non enzymatiques (**Rezaie et al., 2007**).

II. Mécanismes prooxydants

La production de radicaux libres est un phénomène permanent au sein de la matière vivante. La chaîne respiratoire mitochondriale, les leucocytes et la NAD(P) H oxydase, sont les principales sources biologiques de radicaux libres (**Souchard et al., 2002; Ventura et Lombes, 2002**).

Un radical libre est une espèce chimique (atomes ou molécules) possédant un électron célibataire ou plusieurs sur sa couche périphérique. Dans les phénomènes de stress oxydant, les radicaux libres qui interviennent ont une propriété caractéristique commune, celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'oxygène (**Gardès-Albert et al., 2005**). Parmi les radicaux libres, l'anion superoxyde, le radical hydroxyle, l'oxygène singulet, le peroxyde d'hydrogène, le monoxyde d'azote et le radical hydroxyle sont les plus connus.

L'avènement de la biologie moléculaire a permis de montrer que les EOA ont un rôle physiologique important en agissant à faible concentration comme des messagers secondaires capables:

- De réguler le phénomène d'apoptose qui est un suicide programmé des cellules évoluant vers un état cancéreux (**Curtin et al., 2002**).
- D'activer des facteurs de transcription (NFkB, p38-MAP kinase, ...) eux mêmes responsables de l'activation de gènes impliqués dans la réponse immunitaire (**Owuor et Kong, 2002**).
- De moduler l'expression de gènes de structure codant pour les enzymes antioxydantes (**Holgreem, 2003**).
- De détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) (**Levesque, 2006**).

Par contre, si les EOA sont produites en quantité trop importante, elles auront des effets néfastes en induisant un phénomène d'apoptose dans des cellules saines, ou en activant divers gènes codant pour l'expression de cytokines pro-inflammatoires ou de protéines d'adhésion. Par ailleurs, les lipides qu'ils soient circulants ou structurels des membranes

cellulaires, les protéines et l'ADN, sont les premières victimes de cette agression radicalaire (Levesque, 2006).

III. Principaux dommages liés au stress oxydant

III. 1. Oxydation des composés lipidiques

Les lipides membranaires sont les cibles privilégiées des attaques oxydatives. Les membranes sont plus particulièrement visées par le radical hydroxyle capable d'arracher un atome d'hydrogène pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxy. Le radical peroxy peut, quant à lui, libérer différents aldéhydes toxiques dont le malondialdéhyde (MDA) (Kruidenier et al., 2002; Thérond et al., 2005). Ainsi un unique évènement oxydatif peut altérer de nombreuses molécules lipidiques dans les membranes ce qui réduira leur fluidité, ainsi que l'activité des protéines transmembranaires (Kruidenier et al., 2002; Valko et al., 2006).

III. 2. Oxydation des composés protéiques

Les protéines sont les constituants cellulaires les plus abondants, et sont par voie de conséquence des cibles importantes de l'oxydation. L'oxydation des protéines peut induire des réticulations inter- et intra-protéines. De plus, la nitration des protéines sur les fonctions tyrosine peut induire de sévères modifications de fonction. En effet, la tyrosine est un acide aminé particulièrement impliqué dans les voies de signalisation. Ainsi, une oxydation d'une protéine peut avoir un effet sur sa fonction propre, mais peut également avoir des répercussions sur l'ensemble de la régulation cellulaire (Kruidenier et al., 2002; Valko et al., 2006).

III. 3. Oxydation de l'ADN

Les molécules d'ADN nucléaires et mitochondriales peuvent également être attaquées par l'oxydation. Les altérations les plus communes sont l'hydroxylation des bases puriques et pyrimidiques et du squelette désoxyribose provoquant le clivage des brins et des mutations génétiques (Valko et al., 2006). Ces altérations de la molécule d'ADN peuvent conduire soit à l'arrêt de l'induction de la transcription ou de la transduction des voies de signalisation, soit à des erreurs de réplication, ou soit à une instabilité génomique,

et l'ensemble est associé au phénomène de carcinogenèse (Valko et al., 2006).

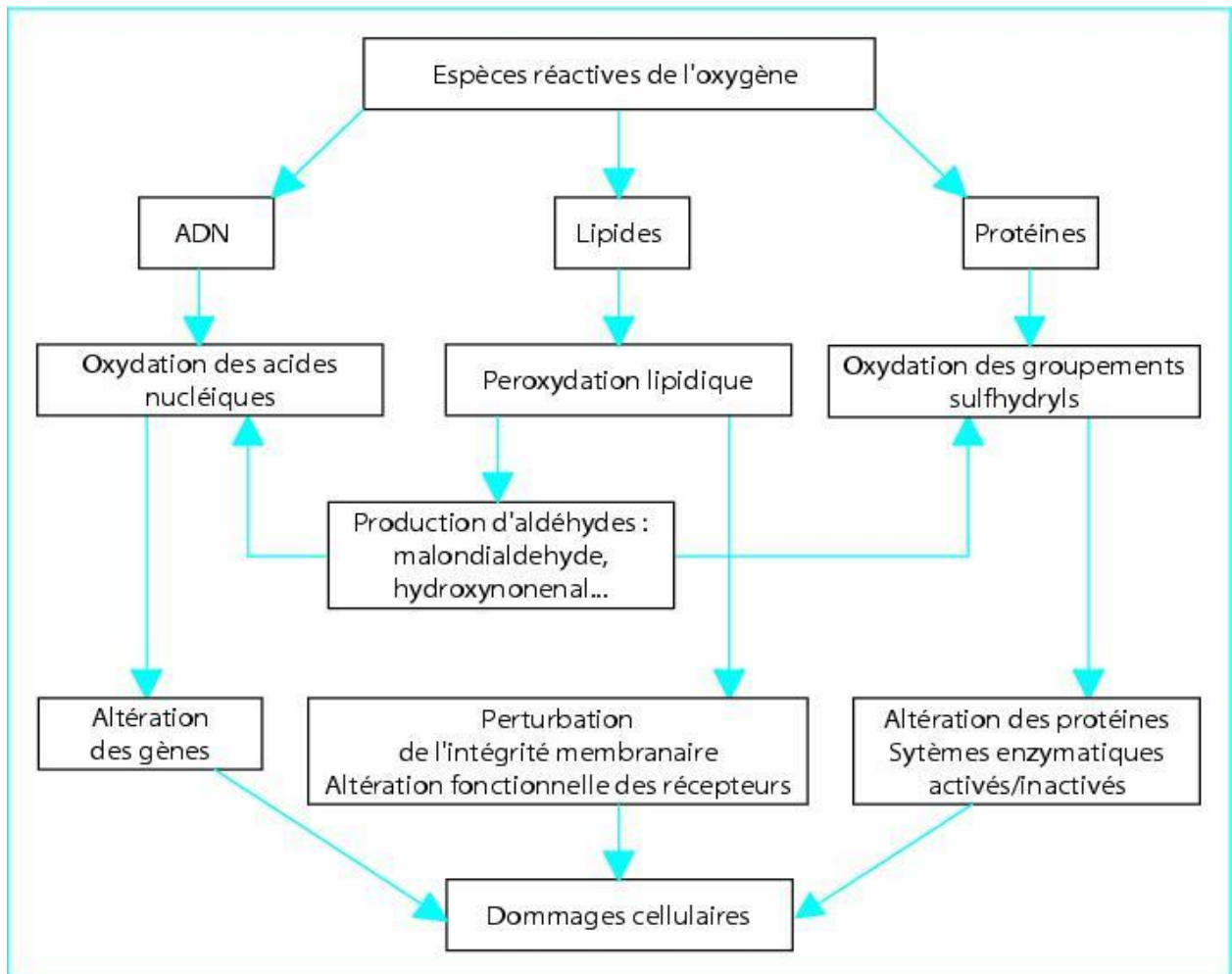


Figure 9. Principaux dommages cellulaires induits par les espèces réactives de l'oxygène et provoqués sur les lipides, les protéines et l'ADN (Monteil et al., 2004).

IV. Mécanisme de défense contre les réactions radicalaires

Pour faire face et détruire les radicaux libres produits en excès, les cellules possèdent des défenses antioxydantes de différentes natures. Ces protections sont assurées à la fois par des composés naturels endogènes ou apportés par l'alimentation, et par des enzymes spécifiques se comportant comme des piègeurs de radicaux libres (Belanger et al., 2006).

IV.1. Systèmes de défense enzymatiques contre le stress oxydatif

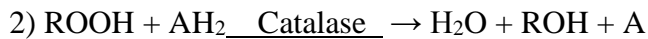
IV.1. 1. Les superoxydes dismutases (SOD)

La SOD est une enzyme antioxydante primaire essentielle qui réagit en défense de l'organisme contre les produits toxiques du métabolisme cellulaire. Elle est capable d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation. Son rôle est de transformer dans les mitochondries, les radicaux superoxydes en peroxydes d'hydrogène, ce dernier, étant beaucoup moins réactif (**Moumen et al., 1997**).

IV.1. 2. Les Catalases

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus et permettent de transformer le peroxyde d'hydrogène en oxygène moléculaire et en eau (**Souchard et al., 2002**). La catalase est composée de quatre sous unités protéiques d'environ 500 acides aminés, chacune contenant un groupe avec Fe^{3+} lié au site actif. Chaque molécule a habituellement une molécule de NADPH, H^+ , qui lui est liée, la protégeant ainsi d'une éventuelle inactivation par le peroxyde d'hydrogène (**Bonnefont et al., 2003**).

La réaction se fait en deux étapes:



IV.1. 3. Les peroxydases

Présentes dans les tissus des mammifères, sont des enzymes qui peuvent réduire le peroxyde d'hydrogène en eau (**Neill et al., 2002**). Les glutathions peroxydases permettent également de limiter la propagation des réactions radicalaires en chaîne, en réduisant les peroxydes instables en acides gras hydroxylés (**Souchard et al., 2002**).

IV.1. 4. La thiorédoxine (TRX)

Cette enzyme a une structure proche de celle de la glutathion réductase. Elle consomme aussi du NADPH dans son fonctionnement. Elle joue un rôle protecteur contre une grande variété du stress oxydatif grâce à ses propriétés de capture des radicaux libres (**Reichheld et al., 2005**). Ces systèmes de défense enzymatiques sont illustrés dans la Figure 10.

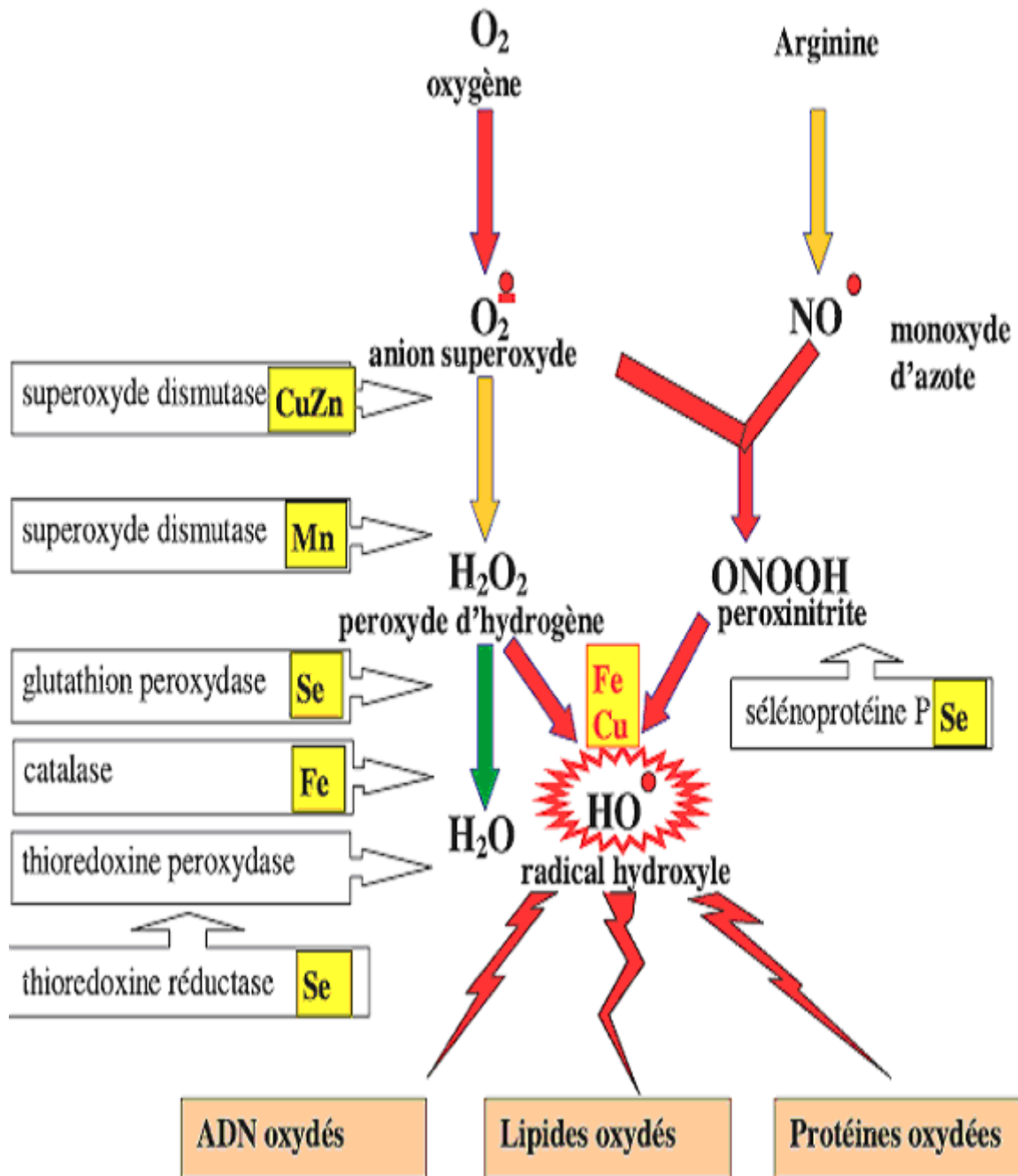


Figure 10. Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003).

IV.2. Systèmes non enzymatiques de défense antioxydante

IV. 2. 1. vitamines antioxydantes

- **Vitamine C**

La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène. Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (**Chen et al., 2000**).

- **Vitamine E**

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols. L'alpha- tocophérol est la forme la plus active de la classe des tocophérols (**Carr et al., 2000**). Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, l'alpha- tocophérol, connu comme inhibiteur de la propagation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, et constitue par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection (**Khalil, 2002**).

- **Vitamine A (β -carotène)**

La vitamine A est l'une des 600 caroténoïdes que l'on trouve dans la nature. Les sources sont les aliments d'origine végétale (**Gorin et Gottraux, 2006**). C'est une molécule liposoluble présente dans les membranes biologiques. Sa structure chimique hautement insaturée la fait réagir adéquatement avec les radicaux peroxydes, créant ainsi des produits non radicalaires, ce qui a pour effet d'arrêter la chaîne de réaction radicalaire (**Rissanen et al., 2003**).

IV. 2. 2. Oligo-éléments

- **Le sélénium**

Le sélénium est un constituant de la glutathion peroxydase. Il a un effet antioxydant capital dans la détoxification des radicaux libres produits par le métabolisme cellulaire, et serait responsable des effets anti-cancéreux et anti-vieillessement (**Wolters et al., 2005**).

- **Le zinc**

Le zinc est un oligo-élément présent dans toutes les cellules. Il intervient dans la constitution de nombreuses enzymes qui jouent un rôle important dans le métabolisme des protéines, des

glucides, des lipides et des acides nucléiques. Il intervient également dans la prévention des effets toxiques dus aux radicaux libres (Medart, 2005). C'est un des constituants de la superoxyde dismutase (SOD). La prise de zinc conduit à long terme à l'induction de protéines antioxydantes. Le zinc protège également les groupements thiols des protéines. Il peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre.

- **Le cuivre**

Le cuivre est l'un des cofacteurs de la superoxyde dismutase et de nombreuses enzymes essentielles à la respiration cellulaire, la lutte contre les radicaux libres, la synthèse de mélanine et le métabolisme du fer. Il intervient dans l'élaboration de l'hémoglobine sanguine, en harmonie avec le fer, ainsi que dans l'entretien des cartilages et des os. Il est également essentiel dans la lutte contre les infections et le bon fonctionnement du cœur (Pincemail, 2004).

- **Le manganèse**

Le manganèse est un oligo-élément indispensable qui participe à l'utilisation des glucides et des lipides par l'organisme. Il a aussi comme vertu de lutter contre l'oxydation et les radicaux libres. Le manganèse entre en jeu dans de nombreux systèmes enzymatiques qui sont responsables de la croissance des os, la bonne santé des dents et des gencives, de la lubrification des articulations, de la bonne utilisation des glucides. D'une manière générale, le manganèse participe à la dépollution de l'organisme et protège les cellules contre les attaques de radicaux libres (Pincemail, 2004).

IV. 2. 3. Les polyphénols

Le rôle des polyphénols comme antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Vu leurs propriétés redox les plus élevées, les polyphénols agissent comme des agents réducteurs, donateurs d'hydrogène en piégeant les radicaux libres et en chélatant les ions (Valko et al., 2006).

Partie expérimentale

Introduction

L'Algérie, par sa situation géographique particulière, est caractérisée par sa diversité florale: méditerranéenne, saharienne et paléo tropicale, appartenant à plusieurs familles botaniques.

La flore d'Afrique du nord résulte d'une multitude d'écosystèmes, offrant une richesse floristique d'espèces végétales, dont plusieurs centaines sont réputées pour leur usage traditionnel en thérapeutique humaine.

La zone Saharienne présente une flore spécifique, caractérisée par une importante diversité floristique, renfermant de nombreuses espèces endémiques hautement adaptées au climat de la zone.

L'intérêt porté aux plantes médicinales n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années. Notre choix s'est porté sur deux différentes plantes : la 1^{ère} est *Pistacia lentiscus* ; une plante méditerranéenne de la famille des Anacardiacees, et la 2^{ème} espèce est *Gymnocarpus decander* ; une plante saharienne de la famille des Caryophyllacées.

1. Matériel végétal; identification botanique et étude des stations de récolte

Les différentes parties (feuilles, tiges, fruits et racines) de *P. lentiscus* ont été récoltées en Mai 2012 à Nédroma, située près de la frontière marocaine, à environ 58 km au nord-ouest de Tlemcen (**Figure 11**). Les échantillons prélevés ont été identifiés par Dr Hassani F. et Dr Stambouli. H, Laboratoire d'écologie.

Pour la deuxième plante ; *G. decander*, les différentes parties (feuilles, tiges, fleurs et racines) ont été récoltées en Avril 2012 à Tyout, wilaya de Naama, située dans l'ouest de l'Algérie (**Figure 12**). Les échantillons prélevés ont été identifiés par Pr Maarouf. A, professeur au centre universitaire de Naama.

Le matériel végétal récolté a été trié (différentes parties), séché à l'air libre et à l'obscurité pendant 2 à 3 semaines. La matière végétale est réduite en poudre fine, juste avant l'extraction.

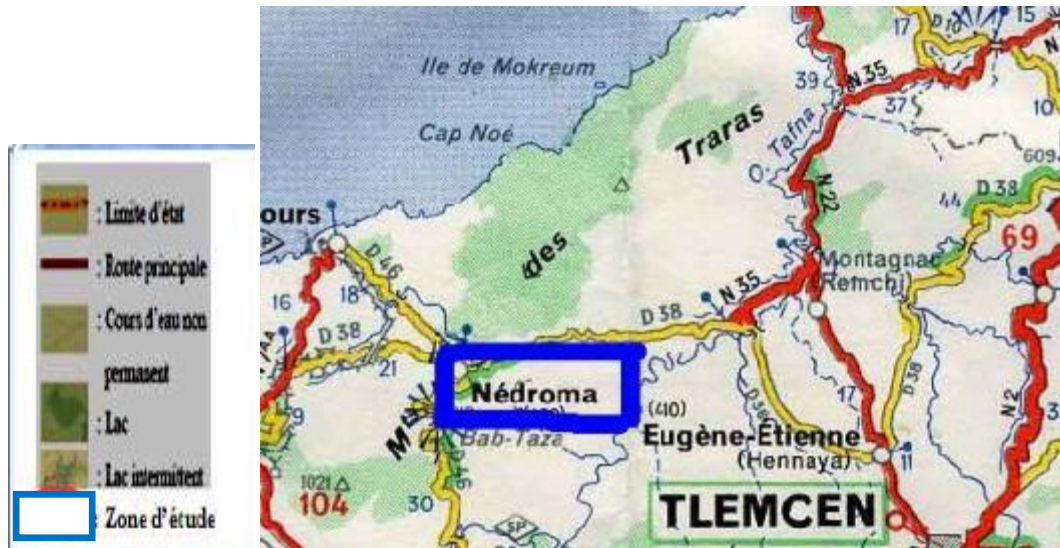


Figure 11. Situation géographique de la station de la récolte de *P. lentiscus*.



Figure 12. Situation géographique de la station de la récolte de *G. decander*.

Tableau 1. Lieu de récolte des plantes étudiées et caractéristiques géographiques et bioclimatiques de leurs stations.

Plantes	Stations	Période de récolte	Longitude (ouest)	Latitude (Nord)	Altitude (m)	Etage bioclimatique
<i>Pistacia lentiscus</i>	Nédroma (Tlemcen)	Mai 2012	1° 44' 51''	35° 00' 47''	650	Semi-aride, sec et froid
<i>Gymnocarpos decander</i>	Tyout (Naama)	Avril 2012	0° 25' 13''	32° 46' 16''	891	désertique, sec et froid

2. Tests phytochimiques

Le criblage phytochimique est une technique qui permet de déterminer les différents groupes chimiques, contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques. Les tests phytochimiques sont basés sur des essais de solubilité, sur des réactions de coloration et de précipitation, ainsi que sur des examens en lumière ultra violette.

Les principaux groupes phytochimiques qui font l'objet de ce criblage sont : les alcaloïdes, les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes et tanins), les saponosides, les stéroïdes, les coumarines, les stérols, les terpènes, les composés réducteurs, et les hétérosides stéroïdiques et triterpéniques,

2.1. Les différentes classes phytochimiques recherchées par épuisement du matériel végétal avec de l'eau chaude

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, 10g de chaque partie des deux plantes étudiées est mis en présence de 60 ml d'eau. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait aqueux est soumis à la mise en évidence de : l'amidon, les tanins et les saponosides.

2.1.1. Détection d'amidon

La détection de l'amidon s'effectue comme suit :

Chauffer 5 ml de l'extrait aqueux avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée dans un bain marie jusqu'à ébullition, ajouter le réactif d'amidon (**Annexe 1**). Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-violacée (**Bruneton, 1999**).

2.1.2. Détection des saponosides

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait aqueux, puis la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est abandonné pendant 20 min et la présence des saponosides est évaluée par :

Pas de mousse = test négatif

Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif

Mousse de 1 – 2 cm = test positif

Mousse plus de 2 cm = test très positif (**Trease et Evans, 1987**).

2.1.3. Recherche des tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de l'extrait aqueux, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de la solution de FeCl₃ diluée (1%). L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleue-verte indique la présence des tanins (**Trease et Evans, 1987**).

2.1.4. Les anthocyanes

Un volume de 2ml d'infusé aqueux est additionné à 2ml de HCl 2N. L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleue-violacée par addition d'ammoniac, indique la présence des anthocyanes (**Debray et al., 1971 ; Paris et al., 1969**).

2.2. Les différentes classes phytochimiques recherchées par épuisement du matériel végétal avec l'éthanol

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, 10g du matériel végétal est mis en présence de 60 ml d'éthanol. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait éthanolique est utilisé pour la mise en évidence des : flavonoïdes, composés réducteurs et tanins (galliques ou cathéchiques).

2.2.1. Détection des flavonoïdes

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 5 ml de l'extrait

éthanolique avec 1 ml HCL concentré, et 0.5g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 minutes (Earnsworth et al., 1974).

2.2.3. Recherche des tanins galliques et cathéchiques

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de l'extrait éthanolique 2ml d'eau, et 2 à 3 gouttes de la solution de $FeCl_3$ diluée (1%). Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire (tanins galliques), verte ou bleue verte (tanins cathéchiques) (Trease et Evans, 1987).

2.3. Autres métabolites secondaires

2.3.1. Détection des alcaloïdes

10 ml de H_2SO_4 dilué (1/10) est ajouté à 10 g de la poudre végétale. Ce mélange est macéré sous agitation pendant 24 h à la température ambiante du laboratoire. Une filtration est faite par la suite sur papier lavé à l'eau distillée, de manière à obtenir environ 10 ml de filtrat.

1 ml de filtrat + 5 gouttes du réactif de Mayer, s'il apparait un précipité blanc- jaunâtre c'est qu'on est en présence d'alcaloïdes.

1 ml de filtrat + 5 gouttes du réactif de Wagner, s'il apparait un précipité brun c'est qu'on est en présence d'alcaloïdes (Annexe 1) (Paris et Moyses, 1969).

2.3.2. Détection des coumarines

1 g de l'échantillon de la plante humide est placé dans un tube à essai. Le tube est couvert par un papier imbibé d'une solution de NaOH, et est placé dans un bain marie pendant quelques minutes. 0.5 ml de NH_4OH (10 %) est ajouté. deux taches sur un papier filtre ont été mises. L'examen sous la lumière ultraviolette est enfin effectué. La présence des taches fluorescentes confirme la présence des coumarines (Rizk, 1982).

2.3.3. Test pour la détection des stérols et stéroïdes :

Un volume de 10 ml de l'extrait éthanolique est placé dans un erlenmeyer. Après évaporation à sec, le résidu est solubilisé avec 10 ml du chloroforme anhydre. Ensuite, on mélange 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydre acétique en y ajoutant quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, on agite et on laisse la solution se reposer.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert (maximum d'intensité en 30 minutes à 21°C) (**Trease et Evans, 1987**).

2.3.4. Test pour les hétérosides stéroïdiques et triterpéniques :

Il consiste à évaporer à sec l'extrait éthanolique correspondant à 10 ml. Ensuite, on dissout le résidu obtenu dans un mélange d'anhydride acétique/ chloroforme (5/5 : V/V) ; puis on filtre et on traite le filtrat par quelques gouttes d'acide sulfurique concentré (réaction de Liebermann-Burchardt).

Si cette réaction donne des colorations verte-bleue et verte-violette, elle indique alors la présence respective des hétérosides stéroïdiques et triterpéniques (**Trease et Evans, 1987**).

3. Extractions

3. 1. Préparation des extraits des deux plantes étudiées

3.1.1. Extraits bruts méthanoliques

Une quantité de 1g de chaque partie des deux plantes étudiées est macérée dans 20 ml du méthanol, pendant 24 h (**Figure 13**). Après filtration sur papier Wattman, la solution méthanolique est évaporée à sec sous pression réduite, dans un évaporateur rotatif de type Buchi R-200 à 60°C. Le résidu sec pesé est repris par 3 ml du méthanol (**Benhammou et al., 2009**).

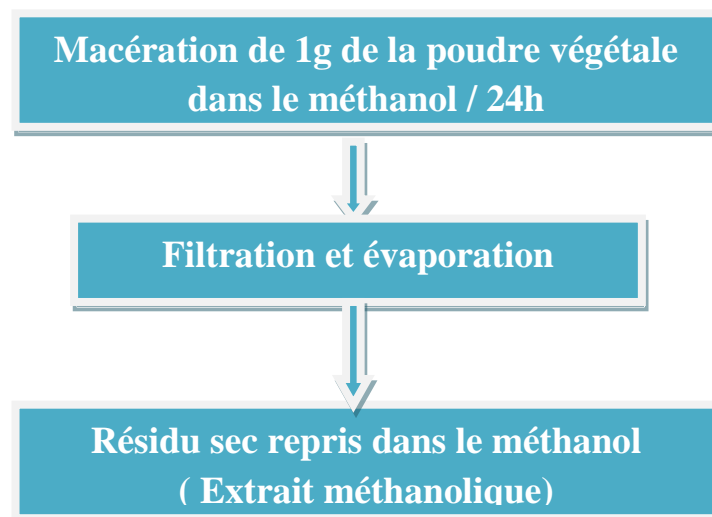


Figure 13. Protocole d'extraction de l'extrait brut méthanolique (**Benhammou et al., 2009**).

3.1.2. Extractions des flavonoïdes

1g du matériel végétal est macéré dans 20 ml du méthanol pendant 24 h. L'extrait méthanolique récupéré est ensuite évaporé à sec par un rotavapeur de type Buchi R-200 à 60°C. Le résidu sec obtenu est partagé entre 10 ml d'acétate d'éthyle et 10 ml d'eau distillée bouillante, dans une ampoule à décanter. Après agitation et décantation des deux phases, la phase acétate d'éthyle est récupérée puis évaporée par un évaporateur rotatif. Le résidu sec est repris par 3 ml du méthanol. La phase aqueuse issue est lavée par 10 ml de n-butanol. Après décantation, la phase butanolique est séchée au rotavapeur à 60 °C. Le résidu sec pesé est repris par 3 ml du méthanol (Bekkara et al., 1998) (Figure 14).

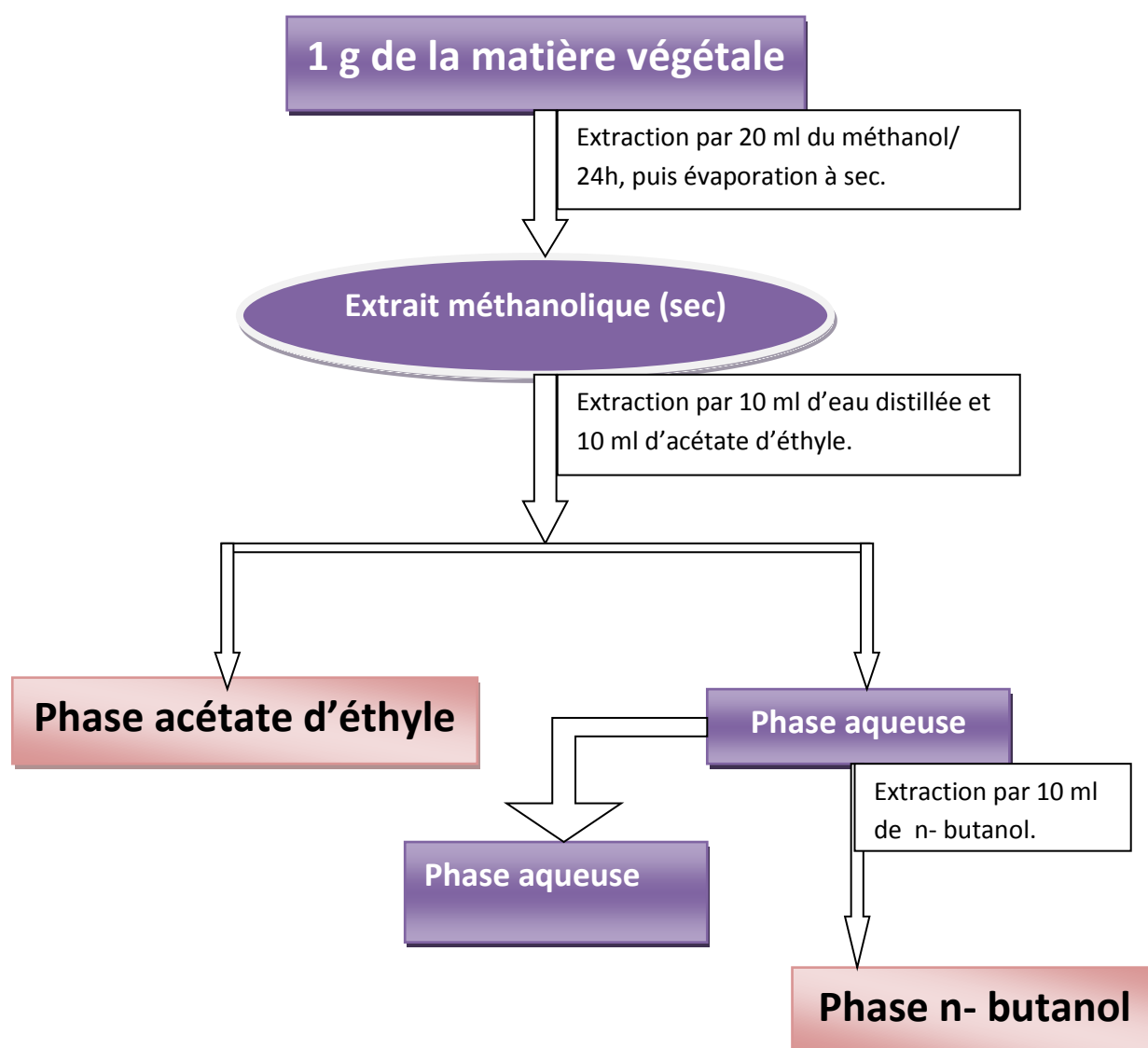


Figure 14. Protocole d'extraction des flavonoïdes (Bekkara et al., 1998).

3.1.3. Extraction des tanins

L'extraction des tanins est obtenue en suivant la méthode de **Zhang et al. (2008)**. Le broyat de chaque partie des deux plantes correspondant à 2,5 g est extrait par 50 ml du mélange acétone/ eau distillée (35/15 ; V/V) durant 72 h à la température ambiante. La solution est filtrée et évaporée à 40 °C, à l'aide d'un rotavapeur de type Buchi R-200 pour éliminer l'acétone. La phase aqueuse est lavée par la suite par 15 ml de dichlorométhane, afin d'éliminer les pigments et les lipides.

Après la séparation de la phase organique, la phase aqueuse est extraite deux fois avec 15 ml d'acétate d'éthyle. La phase organique ainsi obtenue est évaporée à sec à 40 °C, puis pesée et reprise par 3 ml de méthanol (**Figure 15**).

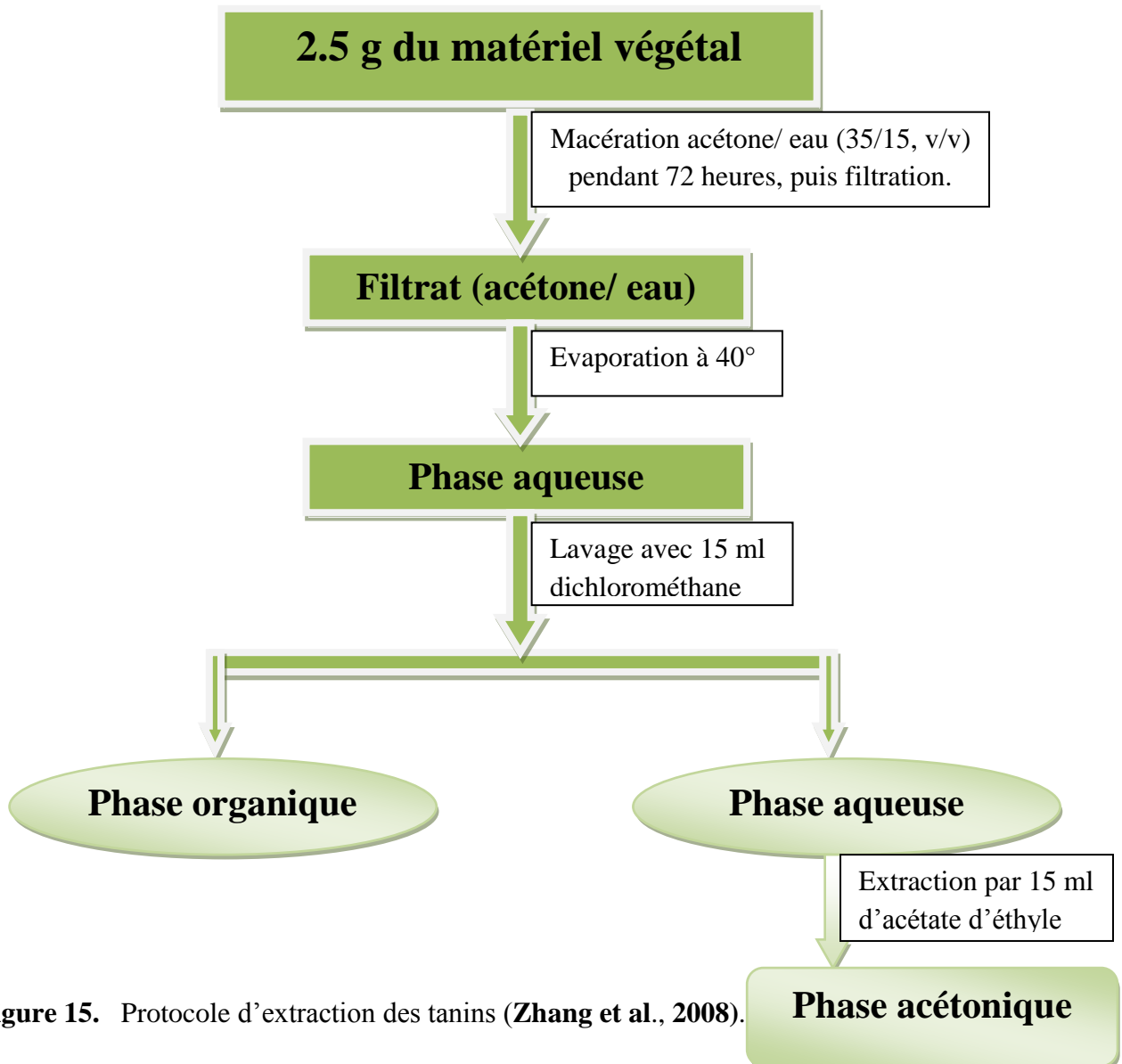


Figure 15. Protocole d'extraction des tanins (Zhang et al., 2008).

3.2. Extraction des saponosides de *G. decander*

Les saponosides de toutes les parties (feuille, tige, fleur et racine) de *G. decander* ont été extraits selon la méthode élaborée par **Applebaum et al. (1969)**. Le broyat (5 g) a été délipidé durant 2 h sous reflux par 75 ml d'hexane pur. Après élimination de la phase organique, le précipité obtenu a été macéré dans 25 ml d'éthanol absolu sous agitation à la température ambiante pendant 24 h. Après filtration, la phase éthanolique a été évaporée à sec sous vide à 60 °C par le rotavapeur. Le résidu sec a été extrait une fois par 50 ml du mélange eau distillée/éther de pétrole (v/v), chauffé à 50 °C dans un bain marie pendant 30 min. La phase aqueuse est reprise par 5 ml de n-butanol pendant 30 min. Après décantation, la phase organique a été évaporée à sec à 60 °C, et reprise par du méthanol. (**Figure 16**).

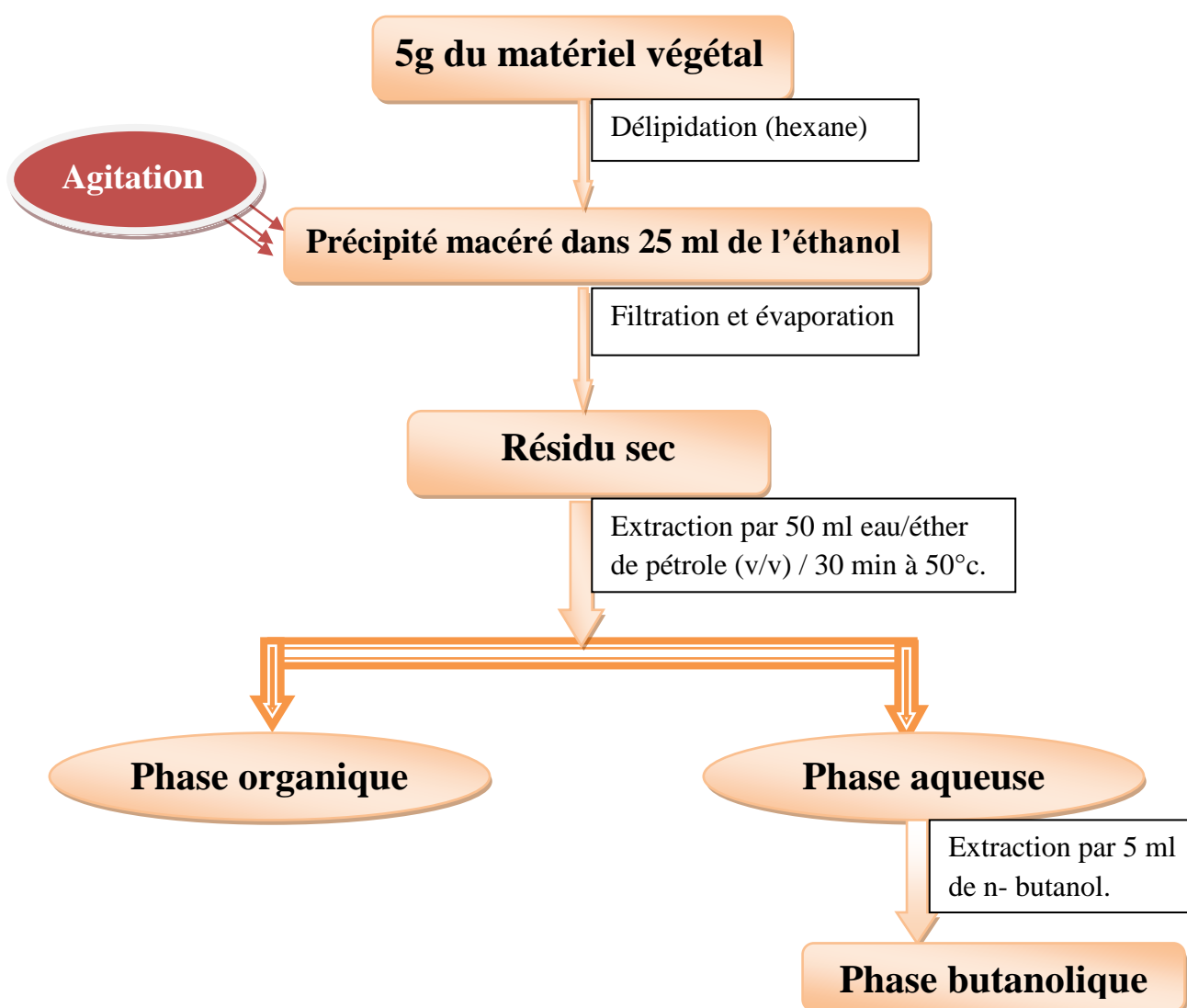


Figure 16. Protocole d'extraction des saponosides (Applebaum et al., 1969)

3.3. Extraction des anthocyanes de *P. lentiscus*

L'extraction des anthocyanes a été réalisée selon la méthode décrite par **Longo et al. (2007)**.

Après la mise en évidence des anthocyanes de toutes les parties de *P. lentiscus*, l'extraction a été faite par une macération de 2,5 g des fruits en poudre dans 12,5 ml d'une solution d'HCl / méthanol (v/v) à 0,1% pendant 20 h à une température ambiante. Après filtration, le résidu ainsi obtenu est lavé avec 12.5 ml d'HCl/méthanol (v/v) à 0,1%, puis l'extrait a été évaporé à sec par un rotavapeur type Buchi R-200 à 30°C. Le résidu sec est repris par 3 ml du méthanol (**Figure 17**).

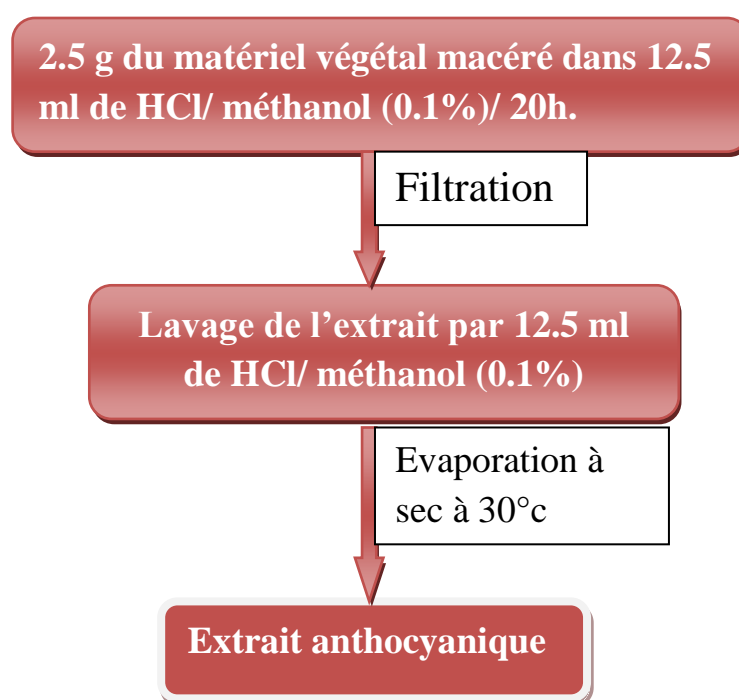


Figure 17. Protocole d'extraction des anthocyanes (**Longo et al., 2007**).

4. Teneurs en composés phénoliques

4.1. Teneurs en phénols totaux

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

Un volume de 200 µl pour chaque extrait brut méthanolique de différentes parties des deux plantes étudiées est introduit dans des tubes à essais. Un mélange de 1 ml de Folin

Cioalteau 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 Specord^R 200 Plus UV/ Vis.

Une courbe d'étalonnage à différentes concentrations d'acide gallique a été préparée.

La teneur en phénols totaux est exprimée en milligramme (mg) équivalents acide gallique par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg EAG/ g MS).

4.2. Teneurs en flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes sont estimées en utilisant la méthode colorimétrique adaptée par **Zhishen et al. (1999)**. Une quantité de 500 µl de la solution méthanolique de catéchine à différentes concentrations ou de l'extrait méthanolique, convenablement diluée, est mélangé avec 1500 µl de l'eau distillée. A temps zéro, 150 µl de nitrite de sodium (NaNO₂) à 5 % est ajouté au mélange. Après 5 min, 150 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10 % (m/v) est rajouté. Après l'incubation de 6 min à la température ambiante, 500 µl d'hydroxyde de sodium (NaOH) (1M) est additionné immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. L'absorbance de la solution de couleur rosâtre est déterminée à 510 nm contre le blanc.

La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée en milligramme (mg) équivalents catéchine par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg EC/g MS), à partir de la courbe d'étalonnage.

4.3. Teneurs en tanins condensés

La quantification des tanins condensés est réalisée par la méthode de la vanilline en milieu acide (**Julkunen-Titto, 1985**).

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

La concentration des tanins condensés est estimée en milligramme (mg) équivalents catéchine par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg EC/g MS), à partir de la courbe d'étalonnage.

4.4. Teneurs en flavonols totaux

Les teneurs en flavonols totaux ont été déterminées par la méthode décrite par

Kumaran et al. (2007). Un volume de 0.25 ml de l'extrait a été mélangé avec 0.25 ml d' AlCl_3 (2 mg/ ml) et 1.5 ml d'acétate de sodium (50 mg/ ml). L'absorbance est mesurée à 440 nm après 150 min d'incubation à la température ambiante.

La teneur en flavonols a été exprimée en mg équivalents quercétine par gramme du poids de la matière sèche (mg EQ/ g MS).

5. Activité antioxydante

Quatre différentes techniques ont été choisies dans notre étude pour évaluer le pouvoir antioxydant, *in vitro*, des extraits des deux plantes étudiées: la capacité antioxydante totale (CAT), la réduction du fer, le piégeage du radical libre DPPH et le test de blanchissement du β -carotène.

5.1. Capacité antioxydante totale (CAT)

Ce test est évalué par la méthode de phosphomolybdène (**Prieto et al., 1999**). Il est basé sur la réduction de Molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} en molybdène Mo (V) MoO^{2+} , en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide.

Un volume de 0.3 ml de chaque extrait est mélangé avec 3 ml de la solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm, contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0.3 ml du méthanol, dans les mêmes conditions. La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalents acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS). Les expériences sont répétées 3 fois.

5.2. Réduction du fer (FRAP)

Cette méthode est déterminée en utilisant la technique d'**Oyaizu (1986)** basée sur la réaction chimique de la réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en Fe^{2+} . La réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) en couleur bleue verte du fer ferreux (Fe^{2+}). Cette capacité réductrice peut servir comme un indicateur significatif d'une activité antioxydante potentielle d'un composé.

Les différentes concentrations des extraits dans l'eau distillée (1 ml) sont mélangées avec 2.5 ml de la solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2.5 ml de ferricyanure de potassium $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (1%). Les mélanges sont incubés à 50°C pendant

20 min. Après, 2.5 ml de l'acide trichloracétique (10%) est additionné. Ce dernier mélange est centrifugé à 3000 tours pendant 10 min. A la fin, 2.5 ml de surnageant de chaque concentration est mélangé avec 2.5 ml de l'eau distillée et 0.5 ml de FeCl₃, 6 H₂O (0.1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm. 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.

La valeur de CI₅₀ (aussi appelée EC₅₀ pour *Efficient concentration 50*) (mg / ml) qui est la concentration des antioxydants, nécessaire pour réduire 50% de la concentration initiale des ions ferriques, est un indice utilisé pour comparer et exprimer la puissance des capacités réductrices des substances bioactives.

L'acide gallique est utilisé comme contrôle positif dans cette technique dans les mêmes conditions expérimentales.

5.3. Piégeage du radical libre DPPH●

L'évaluation de la capacité du Piégeage du radical libre DPPH● de chaque extrait des deux plantes étudiées est réalisée par la technique décrite par **Sanchez-Moreno et al. (1998)**. Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH●). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène.

Un volume de 50 µl de différentes concentrations en mg/ml de chaque extrait est ajouté à 1.950 ml de la solution méthanolique du DPPH● (0.025 g/l), fraîchement préparée. L'absorbance est mesurée à 515 nm après 30 min d'incubation à la température ambiante et à l'obscurité. Les pourcentages d'inhibition (%) du radical DPPH● sont calculés à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(DO \text{ témoin} - DO \text{ échantillon}) / DO \text{ témoin}] * 100$$

Où : *DO* *témoin* : représente l'absorbance du contrôle sans extrait après 30 min.

DO *échantillon* : représente l'absorbance en présence d'extrait après 30 min.

Les concentrations nécessaires pour réduire 50 % du radical DPPH● (CI₅₀) sont calculées graphiquement par les régressions exponentielles des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés.

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience, dans les mêmes conditions expérimentales.

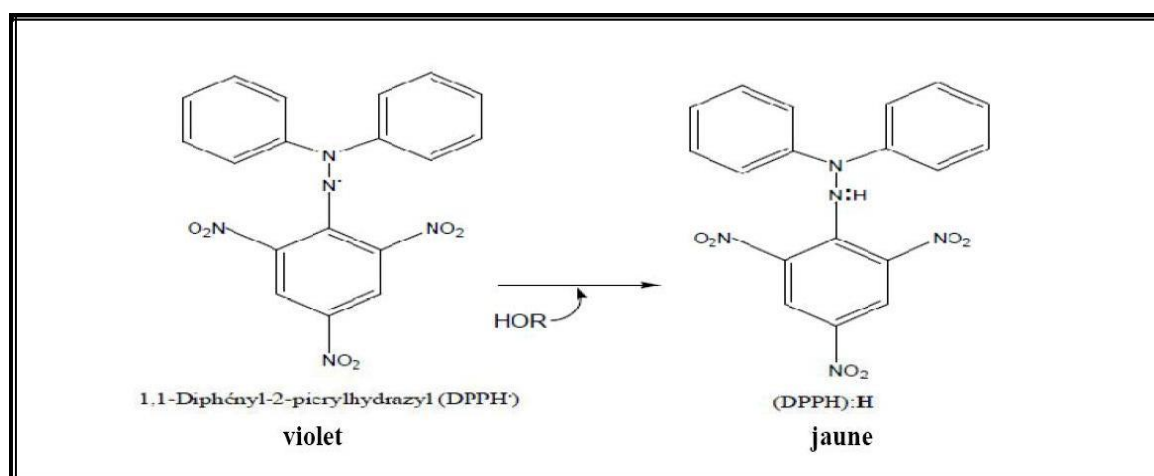


Figure 18. Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH●

5.4. Test de blanchissement du β -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique

Le test de blanchissement du β -carotène utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des deux plantes étudiées est celui de **Moure et al. (2000)**. Cette technique spectrophotométrique dans l'ultraviolet consiste à mesurer, à 470 nm, la décoloration du β -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique.

La dispersion de l'acide linoléique et du β -carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50° C) de manière non spécifique. L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux, induit un retard de la cinétique de décoloration du β -carotène. Cette méthode est sensible, rapide et simple, s'agissant d'une mesure spectrophotométrique dans le visible.

Une quantité de 2 mg du β -carotène est dissoute dans 10 ml de chloroforme. 1 ml de cette solution est prélevé dans une fiole contenant préalablement 200 mg de Tween 40, et 20 μ l d'acide linoléique. Cette solution est évaporée au rotavapeur jusqu'à disparition de l'odeur du chloroforme. Puis, un volume de 100 ml de l'eau distillée est ajouté dans la fiole, et le mélange résultant est agité vigoureusement. Dans des tubes à vis, l'émulsion β -carotène/acide linoléique de 4 ml est additionnée à 200 μ l des solutions méthanoliques de l'extrait ou de l'antioxydant de synthèse (BHT, acide gallique), de différentes concentrations, dans les mêmes conditions expérimentales. Après une agitation, l'absorbance est mesurée

immédiatement à 470 nm ce qui correspond à $t = 0$ min contre le blanc contenant l'émulsion sans β -carotène. Les tubes bien fermés sont placés dans un bain à 50°C pendant 120 min. Ensuite, l'absorbance de chaque extrait est mesurée à 470 nm à $t = 120$ min. Pour le contrôle positif, l'échantillon est remplacé par le BHT ou l'acide gallique. Le contrôle négatif est constitué par 200 μ l du méthanol au lieu de l'extrait ou de l'antioxydant de synthèse. Tous les échantillons sont répétés en deux essais.

L'activité antioxydante (%) des extraits est évaluée en termes du blanchissement du β -carotène en employant la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = [(A_{A(120)} - A_{C(120)}) / (A_{C(0)} - A_{C(120)})] * 100$$

Où : $A_{A(120)}$: représente l'absorbance en présence de l'extrait (antioxydants) à 120 min ;

$A_{C(120)}$: représente l'absorbance du contrôle à 120 min ;

$A_{C(0)}$: représente l'absorbance du contrôle à 0 min.

La valeur CI_{50} correspondant à 50 % d'inhibition, est calculée en traçant la courbe des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait.

6. Analyse statistique

Les données expérimentales du dosage et de l'activité antioxydante obtenues ont été exprimées par une moyenne, et plus ou moins l'écart type, en utilisant les programmes Microcal Origin 6 et l'Excel 2003.

7. Analyses chromatographiques

7.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

7.1.1. Principe

La chromatographie sur couche mince est un outil précieux pour l'analyse en phytochimie. Elle est assez peu onéreuse et son utilisation est très simple. C'est une méthode physique de séparation des constituants, elle est effectuée surtout en vue d'une analyse d'un mélange.

Les plaques de CCM utilisées pour cette méthode se composent d'un support en plastique, sur lequel est fixé une fine couche d'un milieu d'adsorption qui est le polyamide dans cette étape de notre étude, considéré comme phase stationnaire. On place la plaque en position verticale ou légèrement inclinée dans une cuve en verre. Elle repose contre l'une des parois, et elle est immergée d'environ 0,5 centimètre dans la phase mobile qui est constituée

d'un ou de plusieurs solvants, et dont les vapeurs auront préalablement saturé la cuve fermée. L'échantillon à étudier, déposé à l'état liquide par une micropipette et éventuellement séché, sera plus ou moins entraîné par la progression par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque.

Le comportement de chaque molécule sur la plaque dépend des interactions existant entre soluté, phase mobile et phase stationnaire.

L'identification des substances isolées se fait selon différentes méthodes :

- directement si les substances sont colorées ;
- à l'aide d'un révélateur si elles sont incolores, afin de les transformer en tâches colorées.

Dans notre travail, la plupart des substances sont étudiées par irradiation de lumière UV à ondes courtes ($\lambda_{\max} < 254\text{nm}$) ou à ondes longues ($\lambda_{\max} < 366\text{nm}$).

La révélation des composés phénoliques repose sur la coloration de leurs spots, à leur comportement chromatographique (R_f), et à leur fluorescence en lumière UV.

Le comportement d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par son R_f (*Rate factor* ou rapport frontal), qui est le rapport de la distance parcourue par cette molécule sur celle parcourue par la phase mobile (front du solvant) $R_f = d/D$, et qui peut donc être compris entre 0 et 1 (**Hennebelle, 2004**).

7.1.2. CCM des fractions acétate d'éthyle et n-butanol de *G. decander*

En se basant sur le manque des données bibliographiques de la phytochimie de *G. decander*, notre choix pour l'étude de CCM des flavonoïdes, s'est porté, pour la première fois, dans cette étude, sur les différentes parties de cette plante.

Pour obtenir un meilleur système chromatographique, la phase stationnaire a été le polyamide. Pour la phase mobile on a effectué beaucoup de tests pour choisir le meilleur éluant :

On a abouti à ce que le mélange 1-butanol, acide acétique, eau (4 V, 1 V, 5 V), respectivement (**Markham, 1982**) donne une bonne séparation.

Les différentes substances constituant l'échantillon, migrent à différentes vitesses selon qu'elles interagissent plus ou moins fortement. Les substances peuvent être identifiées en observant leurs couleurs, et en calculant leurs valeurs R_f qui peuvent être comparées à celles de la littérature ou à celles des étalons.

7.2. Séparation chromatographique de quelques composés phénoliques par CLHP (laboratoire pédagogique de l'université de Tlemcen)

7.2.1. Hydrolyse des extraits

Pour l'analyse par CLHP, nous avons choisi cinq (5) fractions flavoniques : pour *P. lentiscus*, nous avons sélectionné la fraction acétate d'éthyle et la fraction butanolique des feuilles, et pour *G. decander*, les fractions acétate d'éthyle des fleurs et des racines, et la fraction butanolique des fleurs ont été choisis pour cette analyse. Les fractions sélectionnées ont été hydrolysées avec HCl (1,2 M) par chauffage dans un bain d'eau pendant 1 h. Tous les échantillons ont été filtrés par un filtre de seringue entraîné (taille de pores 0,45 µm), avant l'injection (Hertog et al., 1992).

7.2.2. Chromatographie liquide de haute performance CLHP des fractions flavoniques

20 µl de chaque échantillon a été séparé en utilisant un système de chromatographie de haute performance en phase liquide (YL 9100 du système de HPLC, Corée), équipé d'un détecteur UV-Vis et colonne C-18 (25 cm x 4,6 cm, 5 µm). La phase mobile est composée d'un solvant (eau / acide formique à 0,4%) et le solvant B (acétonitrile). Le solvant a été utilisé selon gradient, comme suit: 0-2 min, 1% de B; 2-15 min, 7% de B; 15-25 min, 20% de B; 25-35 min, 40% de B; 35-46 min, 100% de B; 46-47 min, 100% de B; 47-48 min, 1% de B; 48 à 55 min, 1% de B. Le débit était de 1,2 ml / min. la détection UV a été réalisée à 280 nm, et les composés phénoliques ont été identifiés par comparaison de leurs temps de rétention avec ceux des composés standards, purement commerciales.

Les composés phénoliques standards qui sont l'acide tannique, la rutine, l'acide gallique, l'acide vanillique, l'acide ρ -coumarique, la catéchine, l'acide syringique, l'acide férulique, la quercétine et la naringénine sont fraîchement préparés et immédiatement injectés dans la colonne CLHP.

7.3. Chromatographie sur colonne de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de *G. decander*

La fraction acétate d'éthyle des fleurs de *G. decander* a été choisie pour un fractionnement par chromatographie sur colonne.

La colonne en verre de cette chromatographie a une longueur de 44 cm, et un

diamètre de 2.5 cm. elle est équipée d'un entonnoir et d'un robinet. La colonne est remplie avec le gel de silice 60 F254, sa granulométrie est de l'ordre de 0.063 à 0.2 mm.

10g de la poudre végétale des fleurs de *G. decander* a été macérée pendant 24 heures pour l'extraction des flavonoïdes par le protocole de **Bekkara et al. (1998)**, décrit préalablement. 80 mg de la fraction d'acétate d'éthyle des fleurs est obtenue, et est dissoute dans le méthanol, et mélangée avec une petite quantité de gel de silice. Ce mélange est ensuite séché à l'air libre. La poudre homogène a été déposée sur le gel de silice. L'élution a été réalisée par un gradient de solvants organiques composé de :

- Acétate d'éthyle/ cyclohexane (20/ 80) %.
- Acétate d'éthyle/ cyclohexane (50/50) %.
- Acétate d'éthyle/ cyclohexane (80/ 20) %.
- Acétate d'éthyle (100 %).
- Acétate d'éthyle/ méthanol (70/30) %.
- Acétate d'éthyle/ méthanol (50/50) %.
- Acétate d'éthyle/ méthanol (30/70) %.
- Méthanol (100 %).

Des volumes de 2 à 3 ml ont été récoltés dans des tubes en verre. L'analyse par CCM du contenu de chaque tube permet de réunir rationnellement les fractions, avant d'éliminer les solvants sous l'évaporateur rotatif. Nous avons obtenu finalement 14 sous- fractions pour cette fraction d'acétate d'éthyle des fleurs de *G. decander*. L'activité antioxydante par test de DPPH• de chaque sous fraction, a été réalisée afin de sélectionner les plus actives. Trois (3) sous- fractions ont été choisies pour les analyses CLHP-PR: SF1, SF7 et SF8 (**Figure 19**).

7.4. Analyses par CLHP-PR des sous- fractions de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de *G.decander* (laboratoire de Borj-cedria- Tunis)

Les analyses ont été réalisées au laboratoire des Plantes Extrêmophiles (LPE) de Borj Cédria (Tunisie). La CLHP analytique de type Agilent est constituée des éléments suivants : une pompe Prostar 1 100, une colonne Hypersil ODS C18 (4.6 m x 250 mm) de porosité 5 µm, un détecteur à barrettes diodes 1100, un système d'injection automatique modèle 1 100.

La phase mobile est constituée par un mélange de solvants A (acétonitrile) et B (eau à 0.2 % acide formique). L'échantillon est dissout dans le méthanol puis filtré à travers un

filtre millipore 0.45 μm . La séparation a été réalisée à température ambiante sous un débit de 0.7 ml/min, avec un gradient de solvants programmé selon le **tableau 2**.

Le volume de l'injection est de 20 μl . Les pics sont examinés à 280 nm et identifiés par les temps de rétention, comparés à ceux des témoins purs. Des acides phénoliques, des flavonoïdes purs et d'autres composés (38 composés) ont été utilisés comme standards.

Tableau 2. Programme (temps, débit et gradient de solvant) utilisé en CLHP-PR analytique pour l'injection des sous- fractions et des standards.

Temps	A %	B %	Débit
6	35%	65%	0.7 ml/min
9	60%	40%	0.7 ml/min
14	80%	20%	0.7 ml/min
25	100%	0%	0.7 ml/min
30	35%	65%	0.7 ml/min

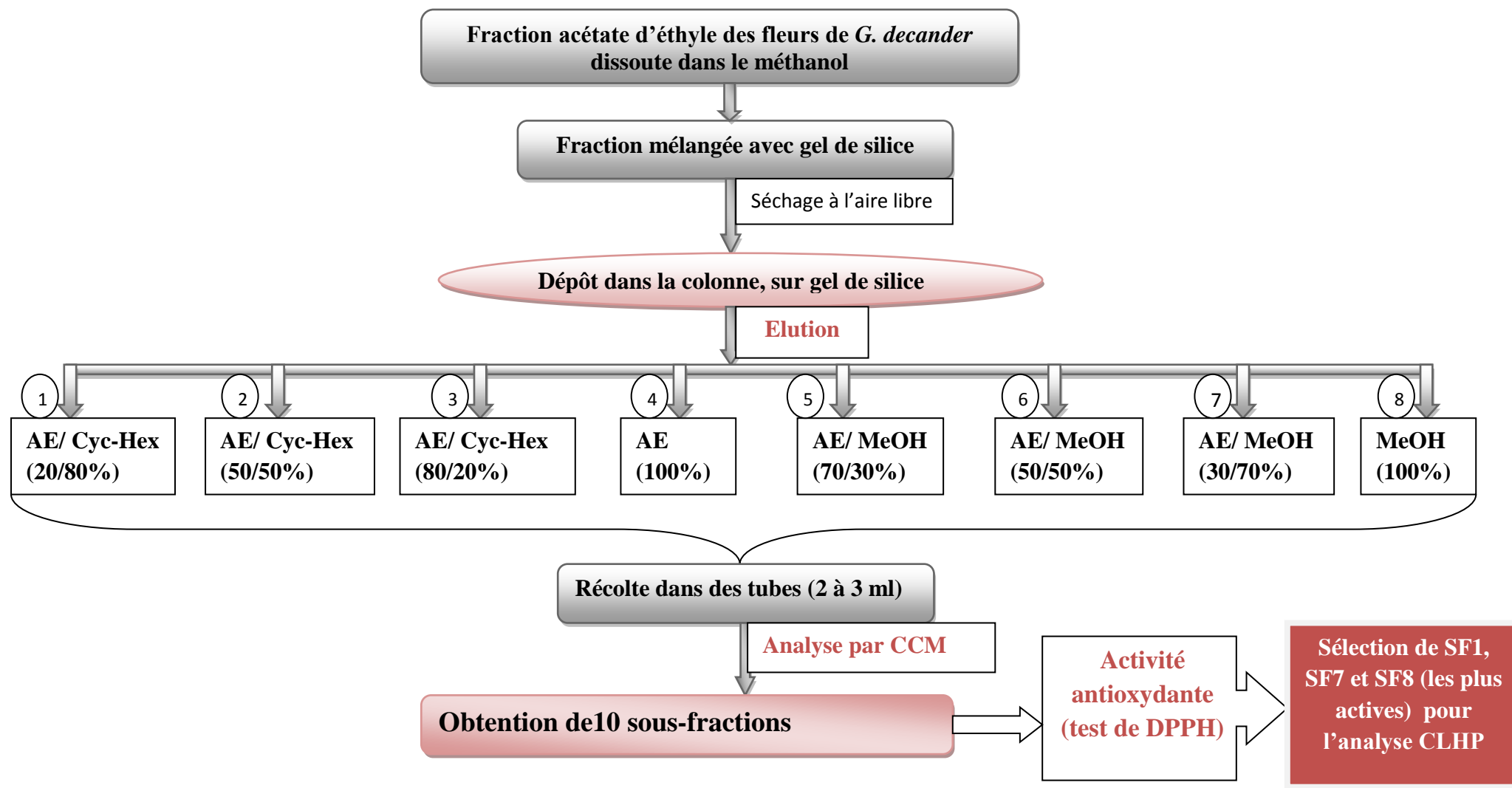


Figure 19. Etapes d'extraction, séparation et différentes analyses chromatographiques de la fraction AE des fleurs de *G. decander*.

Résultats et Interprétation

1. Etude phytochimique

Dans notre étude, le but des tests phytochimiques est la mise en évidence des principaux phyto-constituants dans les différentes parties des deux plantes étudiées.

Ce screening a permis de détecter les différentes familles de composés par des réactions de caractérisation en utilisant des réactifs spécifiques de révélation :

- + : Le réactif présente une légère opacité (présence en faible quantité).
- ++ : Le réactif produit une turbidité et non une floculation (présence en quantité moyenne).
- +++ : Le réactif produit une floculation ou un précipité lourd (présence en forte quantité).
- : Absence de turbidité et de floculation.

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés dans *P. lentiscus* révèlent la richesse de cette plante en flavonoïdes, en tanins et en anthocyanes dans les différentes parties étudiées de la plante. Pour les deux classes testées de tanins, les feuilles, les tiges et les racines sont caractérisées par la présence des tanins catéchiques, en revanche des fruits qui sont riches en tanins galliques. Une faible quantité en saponosides et en composés réducteurs est marquée dans les différentes parties de *P. lentiscus*. Les feuilles enregistrent une quantité moyenne en stérols et triterpènes et en hétérosides stéroïdiques et triterpéniques, une faible quantité en ces deux composés est aussi marquée dans les autres parties étudiées de cette plante. Une absence totale des coumarines est enregistrée dans les différentes parties étudiées de *P. lentiscus*.

Pour *G. decander*, les feuilles et les fleurs sont caractérisées par leur richesse en saponosides, en tanins catéchiques et en flavonoïdes, une présence moyenne de ces composés est aussi marquée au niveau des tiges et des racines. Pour les anthocyanes, les composés réducteurs, les stérols et les triterpènes et les hétérosides stéroïdiques et triterpéniques, une légère présence est constatée.

L'amidon est totalement absent dans toutes les parties des deux plantes étudiées.

Les résultats des tests phytochimiques réalisés sont résumés dans le tableau ci- dessous.

Tableau 3. Résultats des tests de la mise en évidence de différents groupes chimiques dans les différentes parties des deux plantes étudiées.

		<i>P. lentiscus</i>				<i>G. decander</i>			
Composés phyto-chimiques	Parties étudiées	feuilles	tiges	fruits	racines	feuilles	tiges	fleurs	racines
saponosides		+	+	+	+	+++	++	+++	+
Tanins		++	++	++	++	++	++	+++	++
Tanins catéchiqes		++	++	-	+	++	+	++	+
Tanins galliques		-	-	+++	-	-	-	-	-
flavonoïdes		+++	++	+++	+	++	+	+++	+
Anthocyanes		+++	++	+++	++	+	+	+	+
Composés réducteurs		+	+	+	+	+	+	+	+
coumarines		-	-	-	-	+	+	+	+
Alcaloïdes		+	+	+	+	+	+	+	+
Stérols et triterpènes		++	+	+	+	+	+	+	+
Hétérosides stéroïdiques et triterpéniques		++	+	+	+	+	+	+	+
Amidon		-	-	-	-	-	-	-	-

2. Rendements en extraits

L'estimation quantitative de quelques constituants chimiques en pourcentages dans les différentes parties de *P. lentiscus* et de *G. decander* est résumée dans le **tableau 4**. Ces rendements ont été déterminés par rapport à 100 g de la matière végétale sèche.

Les quatre parties étudiées de *P. lentiscus* sont caractérisées par la présence de différents groupes de métabolites secondaires, où les rendements les plus élevés en flavonoïdes ont été trouvés dans la fraction acétate d'éthyle ($6,831 \pm 0,254\%$) et la fraction butanolique ($6,24 \pm 0,587\%$) des feuilles et, en tanins dans les racines ($25,25 \pm 1,75\%$). En ce qui concerne les anthocyanes, le rendement le plus considérable est celui des fruits ($17,343 \pm 0,895\%$) et celui des racines ($17,055 \pm 1\%$).

Pour *G. decander*, l'extrait méthanolique des fleurs ($40 \pm 1,235\%$) ainsi que les extraits tanins des feuilles et des tiges ($45 \pm 3,254\%$ et $40,05 \pm 3,487\%$) présentent les rendements les plus élevés par rapport aux autres constituants phytochimiques des autres parties. La fraction acétate d'éthyle et la fraction butanolique des feuilles, des tiges et des racines révèlent les rendements les plus faibles; les valeurs sont comprises entre 3% et 5%.

Tableau 4. Résultats des rendements des différents extraits dans les différentes parties des deux plantes étudiées.

Extrait	Parties étudiées	Rendements de <i>P. lentiscus</i> (%)				Rendements de <i>G. decander</i> (%)			
		feuilles	tiges	fruits	racines	feuilles	tiges	fleurs	racines
Extrait brut		28.50 ± 1.013	16.25 ± 1.06	13.369 ± 0.58	18.055±0.5	20.5± 2.325	16.3± 0.9	40± 1.235	17.5± 0.856
F-Acétate d'éthyle		6.831 ± 0.254	3.22 ± 0.023	2.631 ± 0.312	4.75 ± 0.25	5.3± 0.065	3.25± 0.09	9.35± 0.056	4.5± 0.054
Fraction n-butanol		6.24 ± 0.587	2.25 ± 0.353	4.515 ± 0.536	3.25 ± 0.25	4.1± 0.521	4.44± 0.085	19.5± 0.963	3.32± 0.021
Tanins		3.35 ± 0.636	1.5 ± 0.027	5.267 ± 0.804	25.25± 1.75	45± 3.254	40.05± 3.48	10.42± 0.74	27.5± 0.821
Saponosides						24.25± 1.58	21.5± 1.054	32± 1.239	16.25± 0.853
Anthocyanes		9.075 ± 0.813	8.56 ± 0.536	17.343 ± 0.8	17.055 ± 1				

3. Détermination des teneurs en principaux composés phénoliques

Les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés ont été déterminées dans les extraits bruts méthanoliques de différentes parties des deux plantes étudiées. Les teneurs en flavonols ont été aussi mesurées dans les différentes parties de *G. decander*.

Les dosages des phénols totaux, des flavonoïdes totaux, des flavonols et des tanins condensés sont déterminés à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage exprimées en mg équivalent d'acide gallique, mg équivalent de catéchines, ou mg équivalent de quercétine (**Figures 20, 21, 22, 23**).

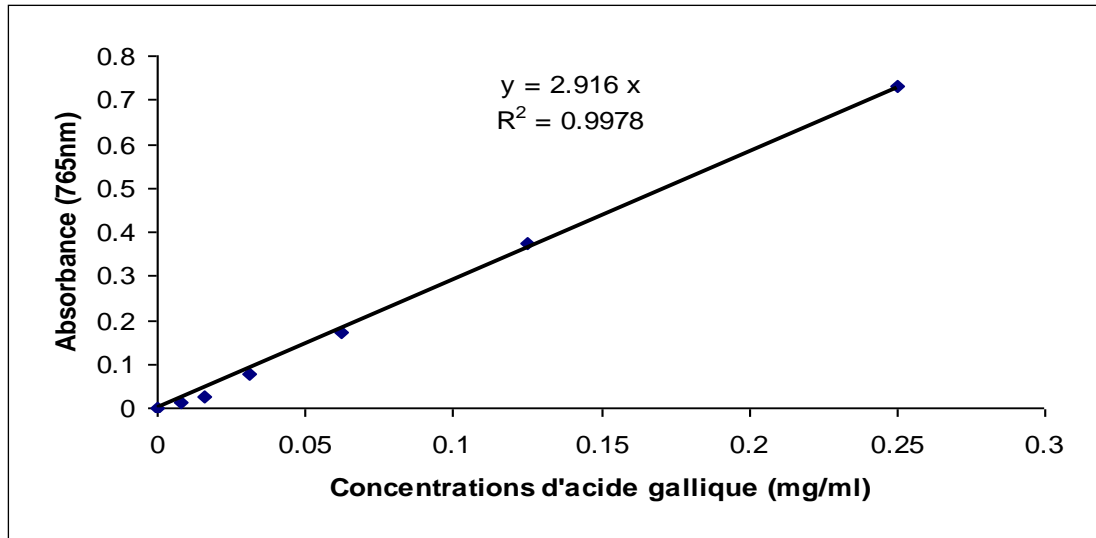


Figure 20. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

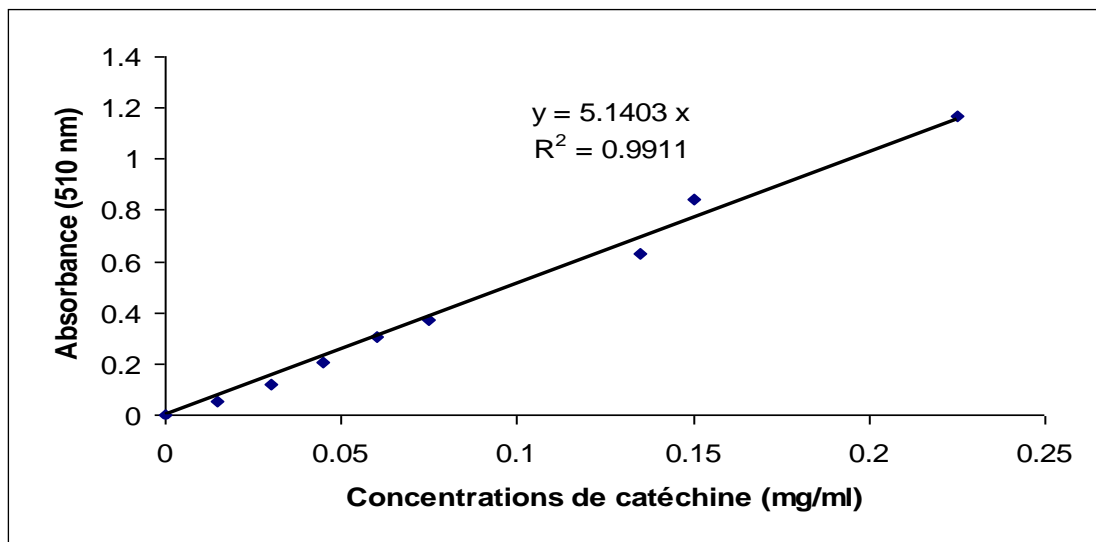


Figure 21. Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

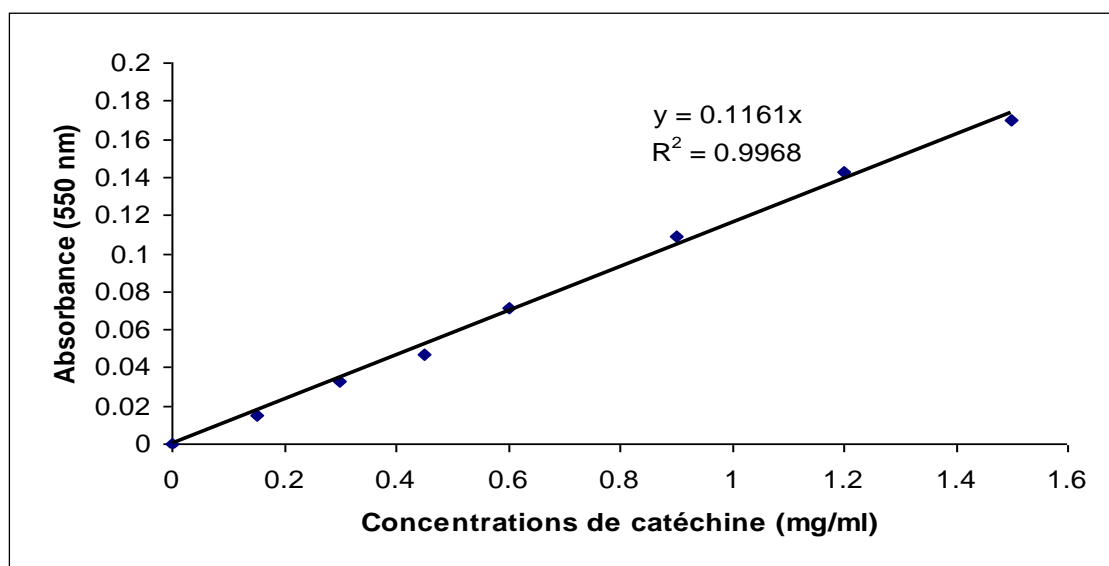


Figure 22. Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

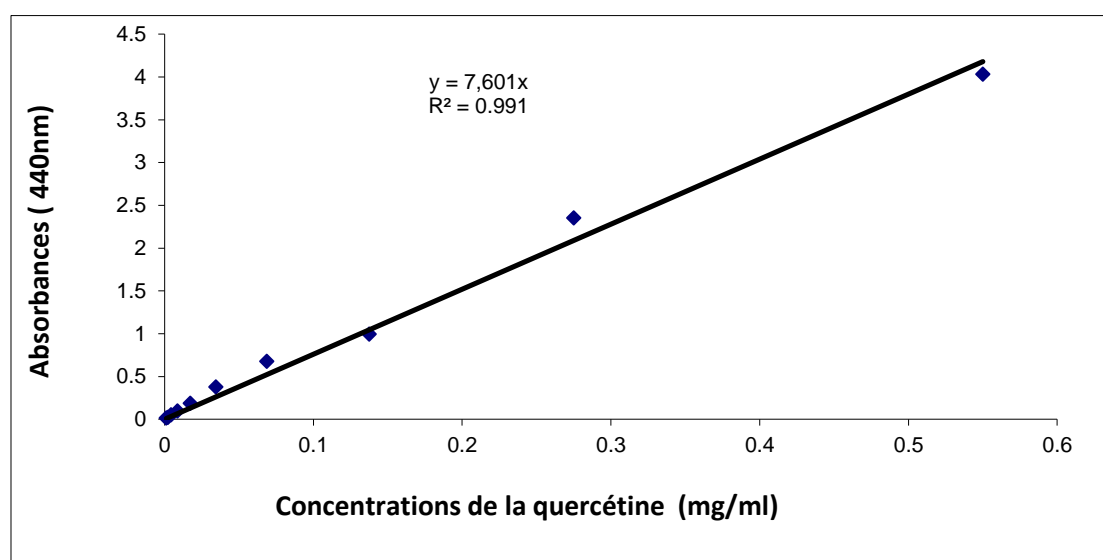
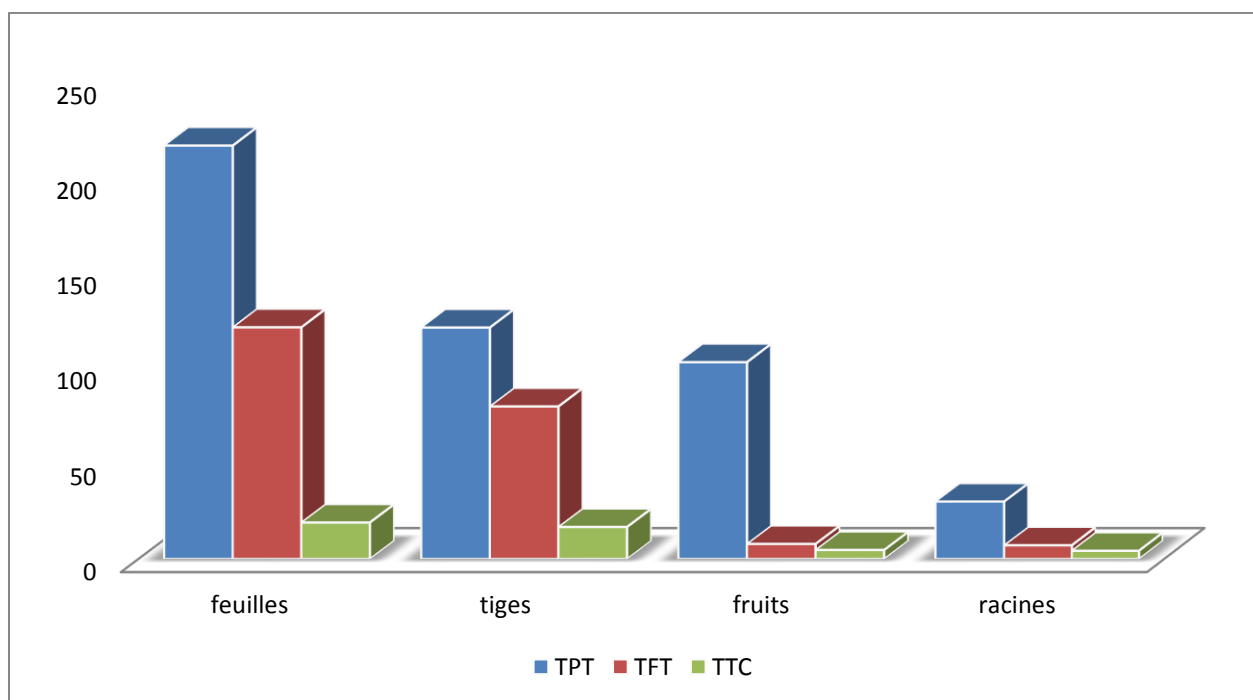


Figure 23. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonols.

3.1. Détermination des teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés dans les différentes parties de *P. lentiscus*

Ces teneurs ont été calculées dans les extraits bruts méthanoliques. La teneur en phénols totaux dans les feuilles de *P. lentiscus* (216.289 ± 20.62 mg GAE / g MS) est significativement plus élevée que celles révélées dans les tiges ($121,399 \pm 3,354$ mg / g) et les fruits ($103,342 \pm 2,317$ mg / g). Les racines ont la teneur relativement la plus basse (30.188 ± 1.291 mg / g). Concernant les deux autres classes de composés phénoliques étudiées, les plus fortes concentrations sont enregistrées dans les feuilles et les tiges de *P. lentiscus*.

La figure et le tableau suivants résument les teneurs en principaux composés phénoliques dans les différentes parties de *P. lentiscus*.



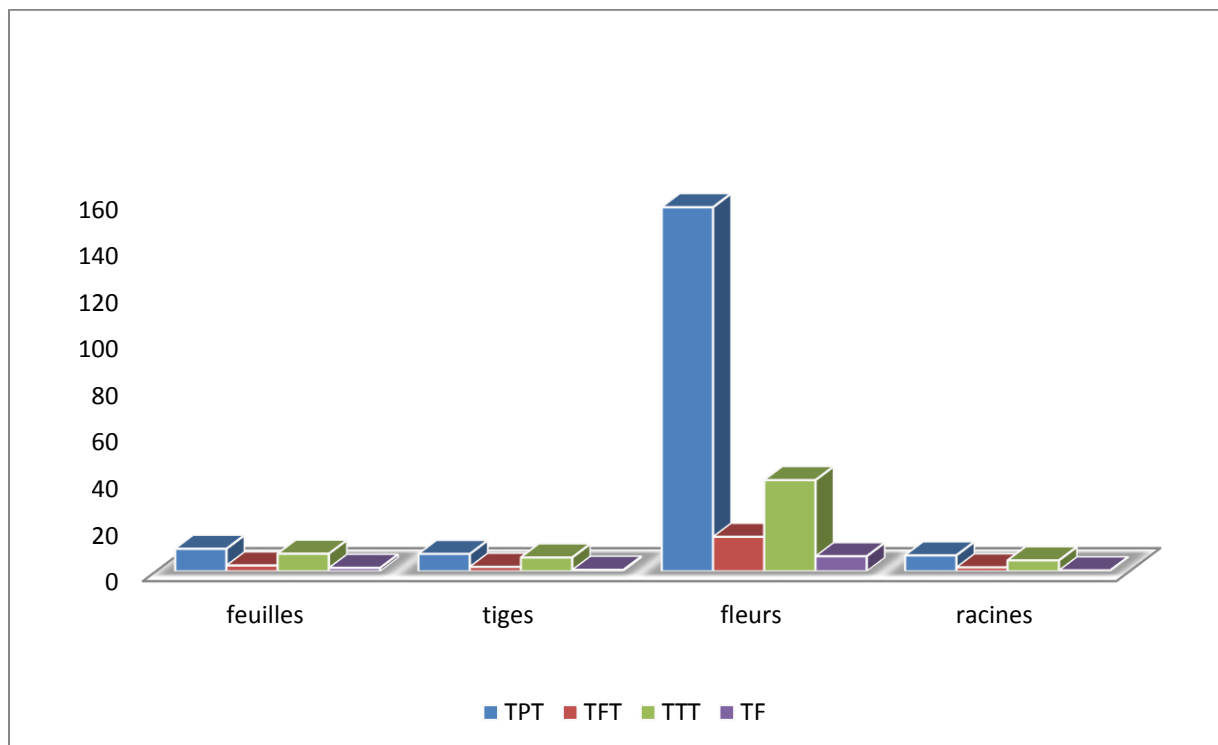
TPT : teneurs en phénols totaux, TFT : teneurs en flavonoïdes totaux, TTC : teneurs en tanins condensés.

Figure 24. Histogrammes de comparaison entre les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés dans les différentes parties de *P. lentiscus*.

3.2. Détermination des teneurs en phénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés et flavonols dans les différentes parties de *G. decander*

La figure et le tableau ci- dessous présentent une comparaison des teneurs en phénols totaux, tanins condensés, flavonoïdes et flavonols entre les différentes parties étudiées de *G. decander*.

L'extrait méthanolique des fleurs contient la plus haute teneur en phénols totaux ($156,097 \pm 2,312$ mg GAE / g MS). Cet extrait a montré également une forte teneur en flavonoïdes ($14,878 \pm 0,275$ mg CE / g MS), flavonols ($6,506 \pm 1,021$ mg QE / g MS) et en tanins condensés ($39,388 \pm 1,599$ mg CE / g de MS). Pour les autres extraits, les feuilles ont des quantités moyennement importantes en composés phénoliques. Concernant les tiges et les racines, il n'y a pas significativement de différence entre les teneurs en composés phénoliques.



TPT : teneurs en phénols totaux, TFT : teneurs en flavonoïdes totaux, TTC : teneurs en tanins condensés, TF : teneurs en flavonols.

Figure 25. Histogrammes de comparaison entre les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés et flavonols dans les différentes parties de *G. decander*.

4. Evaluation de l'activité antioxydante des différents extraits des deux plantes

La détermination du pouvoir antioxydant des extraits de plantes a été réalisée par quatre techniques différentes, in vitro (la capacité antioxydante totale, la réduction de fer, le piégeage du radical libre DPPH, et le test de blanchissement du B-carotène).

4.1. Capacité antioxydante totale

4.1.1. Capacité antioxydante totale dans les différentes parties de *P. lentiscus*

La **Figure 26** présente les histogrammes des valeurs de la CAT exprimées en acide ascorbique.

La méthode de phosphomolybdène est basée sur la réduction de Mo (VI) en Mo (V) par les composés antioxydants, et la formation d'un phosphate vert / Mo (V) complexe, avec une absorption maximale à 695 nm (**Rosales-Castro et al., 2014**). Les résultats obtenus indiquent que tous les extraits ont une capacité antioxydante élevée. L'extrait méthanolique ($69,959 \pm$

2,609 mg AAE / g MS) et la fraction butanolique des feuilles ($63,714 \pm 3,972$ mg AAE / g MS) révèlent la plus bonne capacité antioxydante par rapport aux autres extraits. La plus faible capacité antioxydante a été trouvée dans la fraction butanolique des racines ($0,824 \pm 0,192$ mg AAE / g MS).

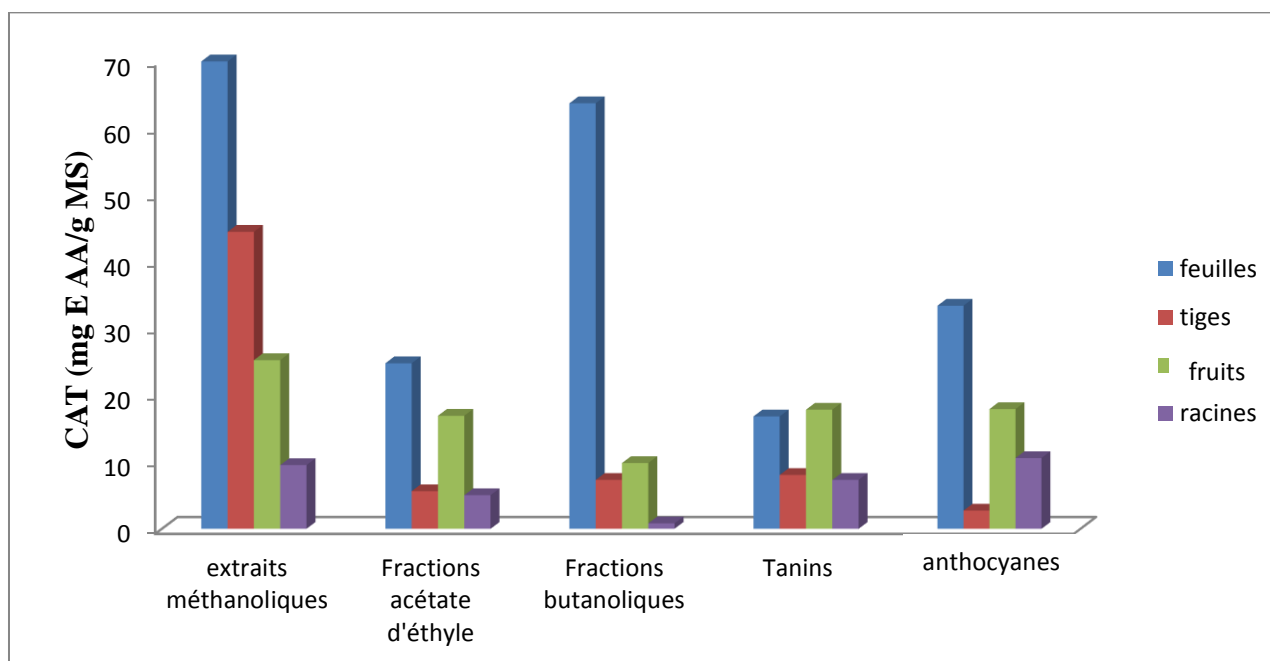


Figure 26. Capacité antioxydante totale exprimée en mg EAA/g MS, des extraits de toutes les parties de *P. lentiscus*.

4.1.2. Capacité antioxydante totale dans les différentes parties de *G. decander*

Les résultats obtenus montrent que tous les extraits ont une bonne capacité antioxydante. L'extrait méthanolique des fleurs ($32,27 \pm 2,400$ mg AAE / g MS) a révélé la capacité la plus considérable, comparé aux autres extraits.

La figure ci-dessous présente une comparaison entre la capacité antioxydante des extraits des feuilles, tiges, fleurs et racines de *G. decander*.

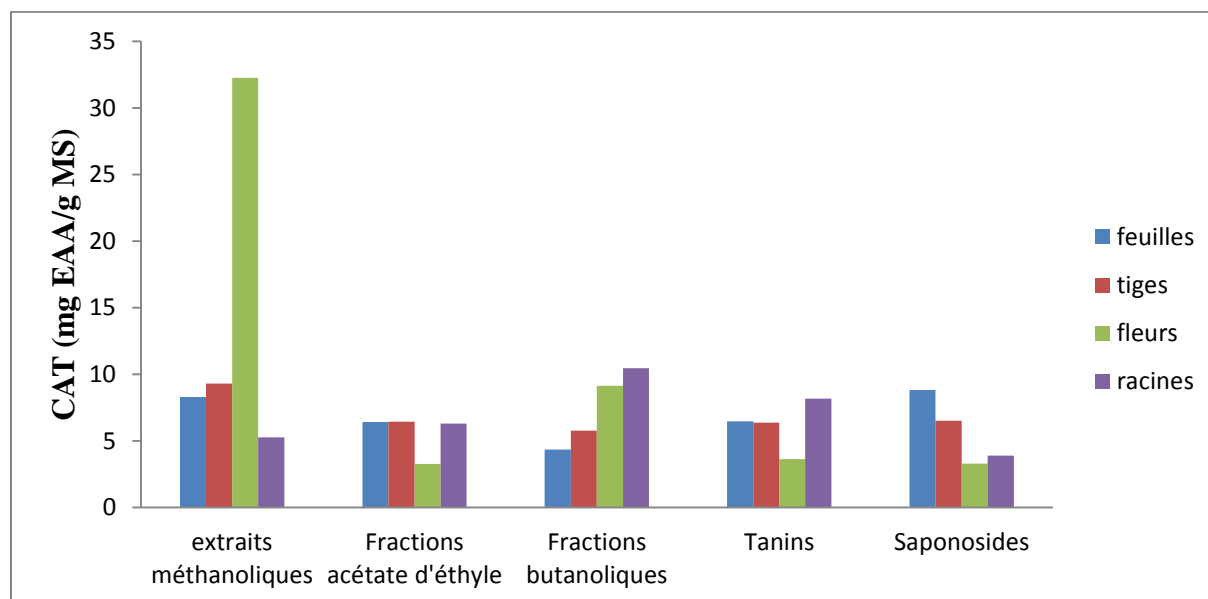


Figure 27. Capacité antioxydante totale exprimée en mg EAA/g MS, des extraits de toutes les parties de *G. decander*.

4.2. Réduction de fer (FRAP)

4.2.1. Réduction de fer des extraits de *P. lentiscus*

Ce test est basé sur la capacité des composés phénoliques à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) (Karagozler et al., 2008).

Le pouvoir réducteur de tous les extraits de *P. lentiscus* est présenté en histogrammes dans la **Figure 28**. Tous les extraits montrent une forte activité à réduire le fer. La capacité la plus élevée est observée dans les tanins des racines ($\text{CI}_{50} = 0,061 \pm 0,001$ mg / ml), suivie par les tanins des feuilles ($\text{CI}_{50} = 0,075 \pm 0,001$), ce qui est comparable avec l'acide gallique, indiquant une bonne activité. L'extrait méthanolique des fruits ($\text{CI}_{50} = 0,666 \pm 0,035$ mg / ml) et la fraction acétate d'éthyle des tiges ($0,416 \pm 0,004$ mg / ml) présentent l'activité la plus faible à réduire le fer. Pour les autres extraits, la CI_{50} est comprise entre $0,088$ et $0,369 \pm 0,000 \pm 0,002$ mg /ml.

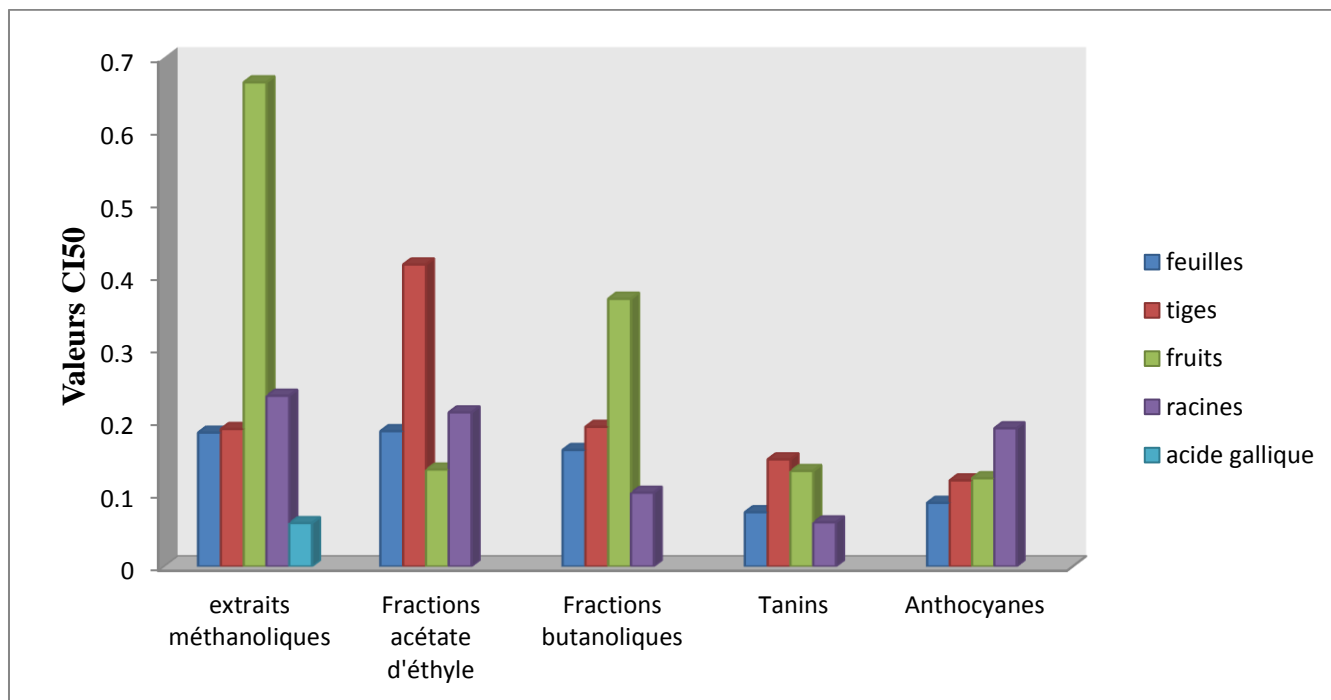


Figure 28. Valeurs CI_{50} de la réduction de fer des extraits de différentes parties de *P. lentiscus*.

4.2.2. Réduction de fer des extraits de *G. decander*

Nos résultats révèlent que tous les extraits ont montré la présence des effets réducteurs. Les extraits des fleurs de *G. decander* présentent une réduction de fer plus élevée que les autres extraits des autres parties de la plante. L'extrait des tanins et l'extrait méthanolique des fleurs ont montré une meilleure activité avec des valeurs de $CI_{50} = 0,083 \pm 0,004$ et $0,107 \pm 0,007$ mg / ml, respectivement. Cette suggestion est confirmée lorsqu'on compare ces valeurs avec celle de l'acide gallique standard. En outre, les données ont montré que le reste des extraits présentent un pouvoir réducteur intéressant compris entre $0,239 \pm 0,015$ et $3,663 \pm 0,026$ mg / ml.

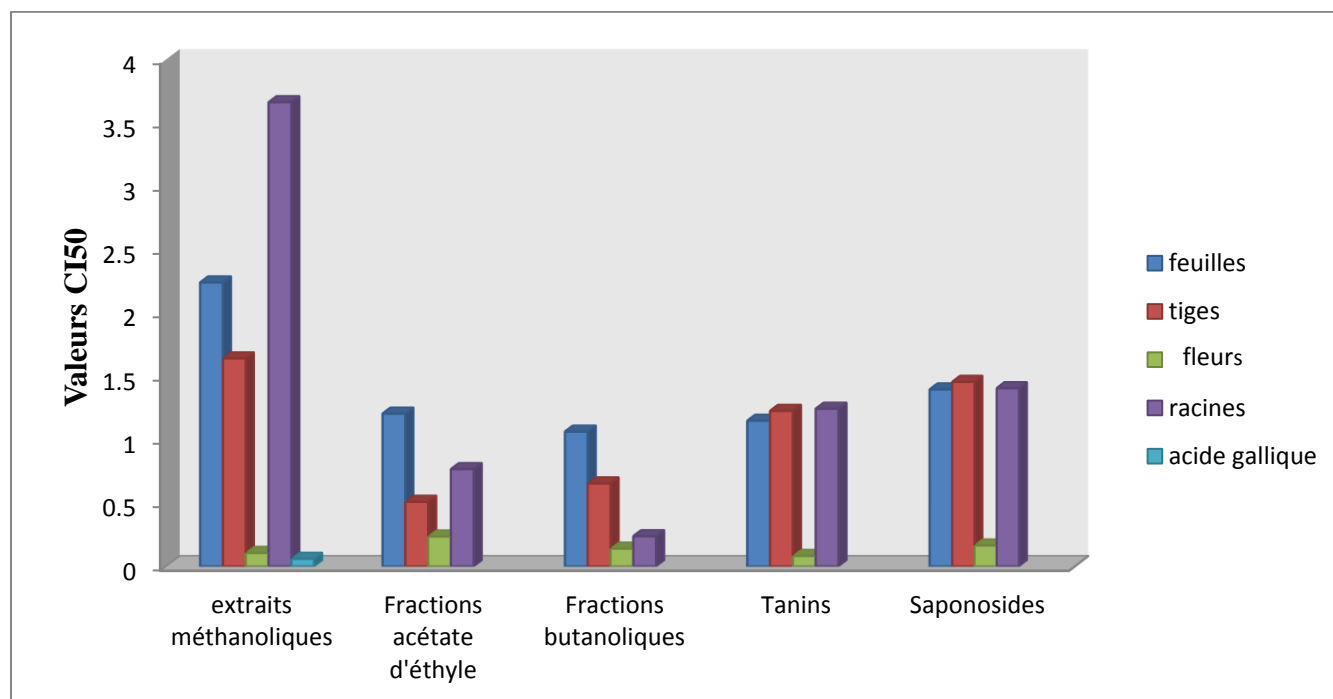


Figure 29. Valeurs CI_{50} de la réduction de fer des extraits de différentes parties de *G. decander*.

4.3. Piégeage du radical libre DPPH

4.3.1. Piégeage du radical libre DPPH dans les différentes parties de *P. lentiscus*

D'après le **tableau 7** et les **Figures** suivantes (**30, 31, 32, 33 et 34**), tous les extraits de *P. lentiscus* présentent une meilleure efficacité de piégeage du radical libre DPPH. Les extraits des tanins de toutes les parties possèdent l'activité anti-radicalaire la plus puissante. Les concentrations étaient $CI_{50} = 0,069 \pm 0,001$ mg / ml pour les feuilles et $0,057 \pm 0,001$ mg / ml pour les tiges; ces valeurs sont meilleures que celle de l'acide ascorbique ($0,090 \pm 0,002$ mg / ml). Les tanins des racines et des fruits présentent également une forte activité à piéger le radical DPPH, avec CI_{50} de $0,090 \pm 0,011$ mg / ml et $0,099 \pm 0,019$ mg / ml, respectivement. Ces valeurs sont similaires à celle de l'acide ascorbique, signalant ainsi une très bonne activité.

Une gamme de concentration est préparée pour chaque extrait dans les différentes parties de la plante. Les densités optiques (DO) ainsi obtenues nous ont permis de calculer les pourcentages d'inhibition. Ceci est présenté dans les figures suivantes (**30, 31, 32,33, 34, 35**).

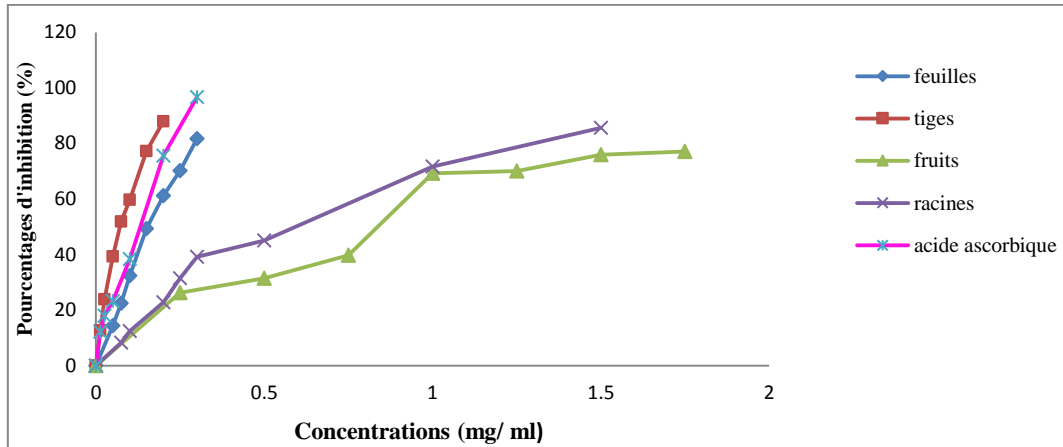


Figure 30. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits bruts méthanoliques de différentes parties de *P. lentiscus*.

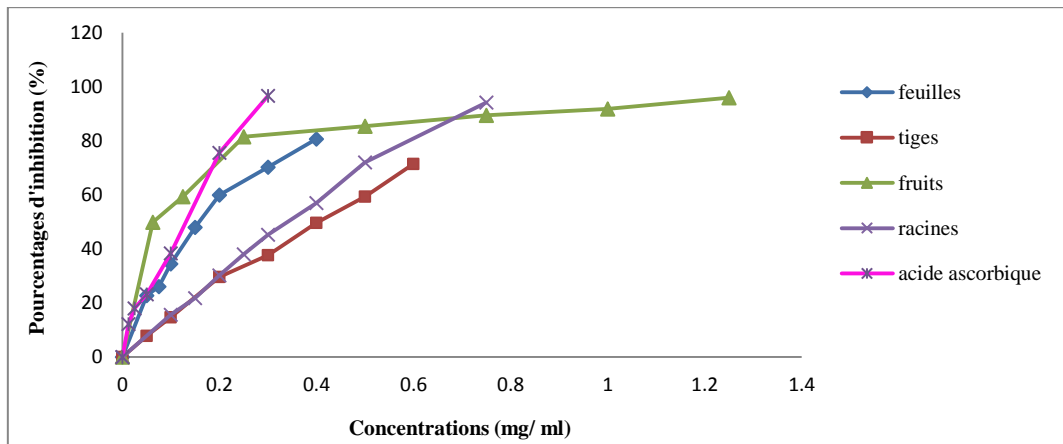


Figure 31. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des fractions d'acétate d'éthyle de différentes parties de *P. lentiscus*.

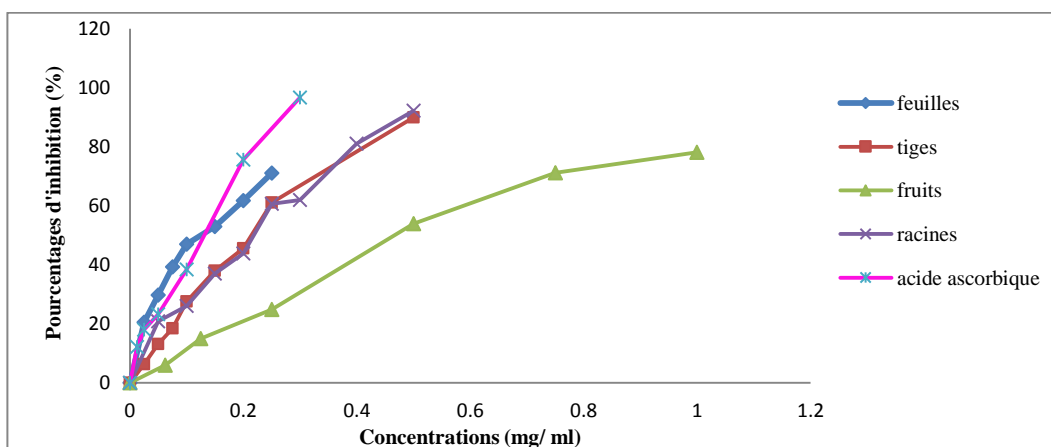


Figure 32. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des fractions butanoliques de différentes parties de *P. lentiscus*.

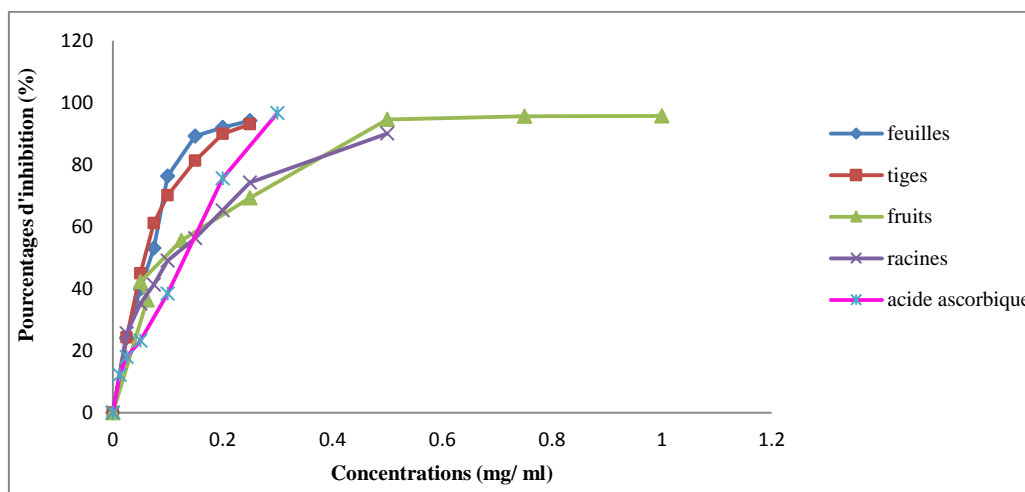


Figure 33. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits des tanins de différentes parties de *P. lentiscus*.

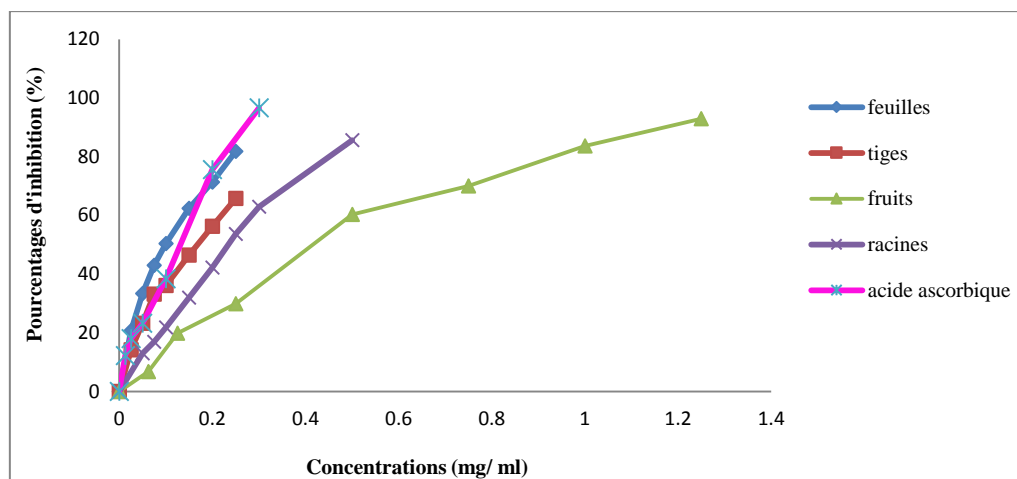


Figure 34. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits des anthocyanes de différentes parties de *P. lentiscus*.

4.3.2. Piégeage du radical libre DPPH dans les différentes parties de *G. decander*

Tous les composés chimiques testés ont la capacité de piéger le radical libre DPPH exprimée en concentrations CI_{50} . Les résultats de l'activité antioxydante sont présentés dans le **tableau 8** et les **Figures** suivantes (**35, 36, 37,38 et 39**). On constate que les extraits des tanins ($0,063 \pm 0,000$ mg / ml) et des saponosides ($0,126 \pm 0,000$ mg / ml) des fleurs ont la capacité la plus importante à piéger le radical libre DPPH, même par rapport à l'acide ascorbique ($0,090 \pm 0,002$ mg / ml). Cependant, les extraits bruts méthanoliques des racines ($6,260 \pm 0,052$) et des feuilles ($5,892 \pm 0,065$ mg / ml) révèlent la plus faible capacité de piégeage du radical libre DPPH.

Les résultats sont illustrés sous forme de courbes de pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations pour chaque extrait dans les différentes parties de la plante.

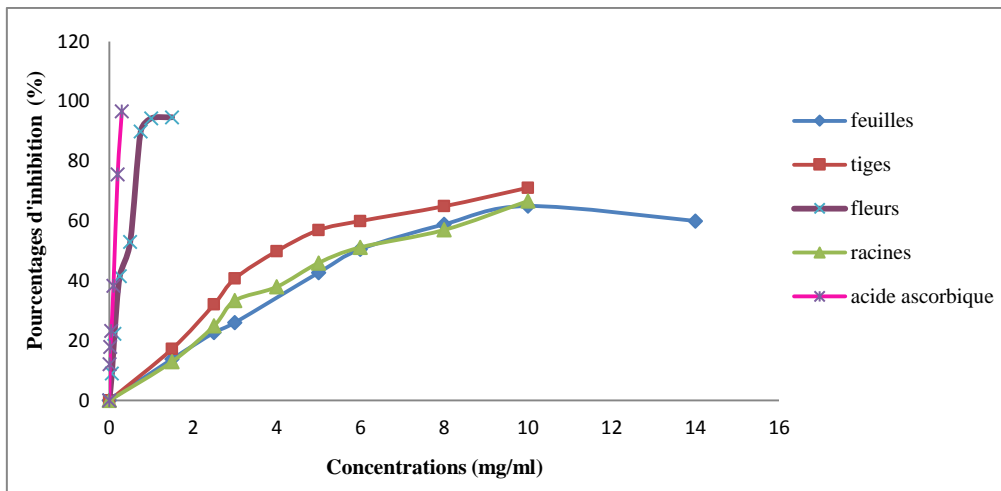


Figure 35. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits bruts méthanoliques de différentes parties de *G. decander*.

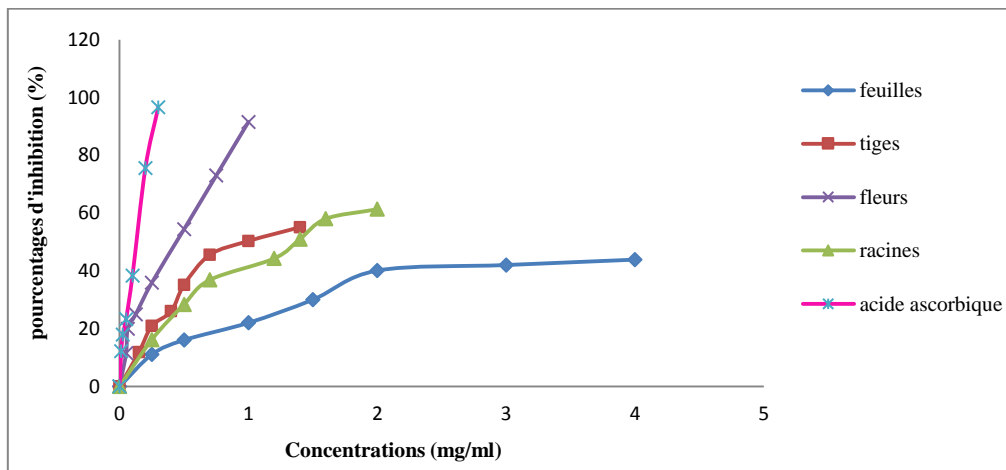


Figure 36. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des fractions d'acétate d'éthyle de différentes parties de *G. decander*.

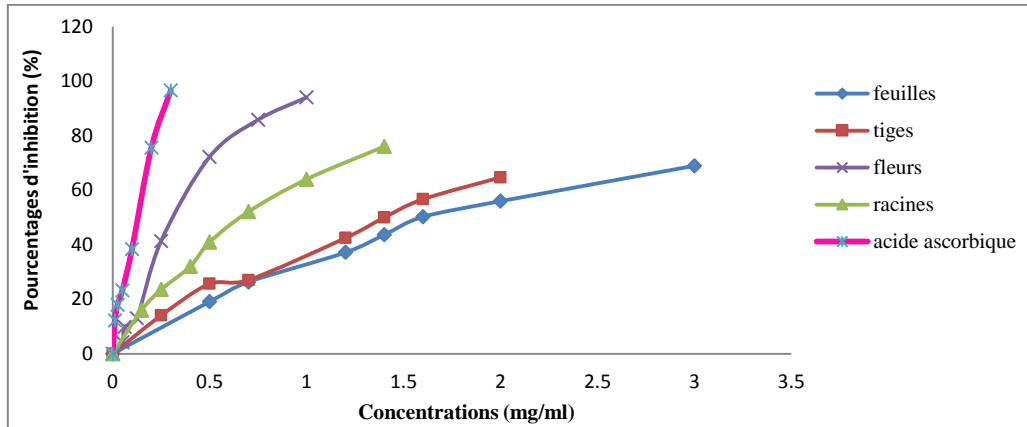


Figure 37. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des fractions butanoliques de différentes parties de *G. decander*.

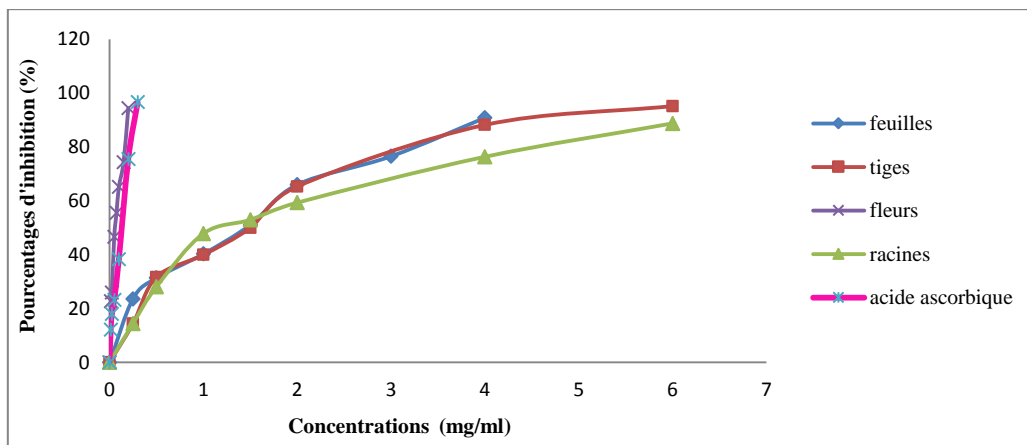


Figure 38. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits des tanins de différentes parties de *G. decander*.

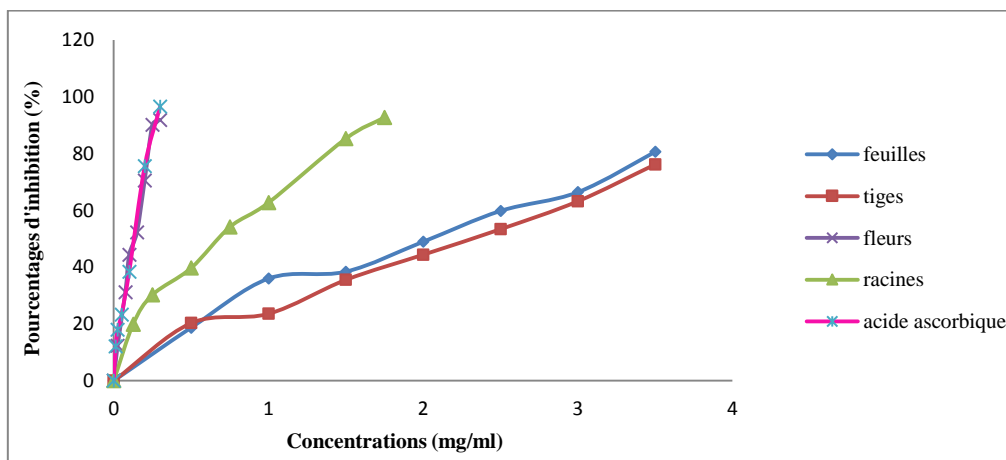


Figure 39. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des extraits des saponosides de différentes parties de *G. decander*.

4.4. Méthode de blanchissement du B-carotène

4.4.1. Méthode du blanchissement du B-carotène dans les extraits de *P. lentiscus*

Les résultats indiquent que tous les extraits testés possèdent cette propriété antioxydante. L'activité antioxydante la plus élevée a été enregistrée dans la fraction acétate d'éthyle ($0,052 \pm 0,006$ mg / ml) suivie par la fraction butanolique ($0,058 \pm 0,018$ mg / ml) des racines. Pour les autres extraits, la gamme de cette activité est variée entre $0,104 \pm 0,005$ et $0,768 \pm 0,001$ mg / ml.

Les courbes de chaque plante présentées ci-dessous dans les figures suivantes (de **Figure 40** à **Figure 44**), ont été établies en faisant varier les concentrations de chaque extrait, en calculant pour chaque concentration le pourcentage d'inhibition correspondant, passant par la CI_{50} .

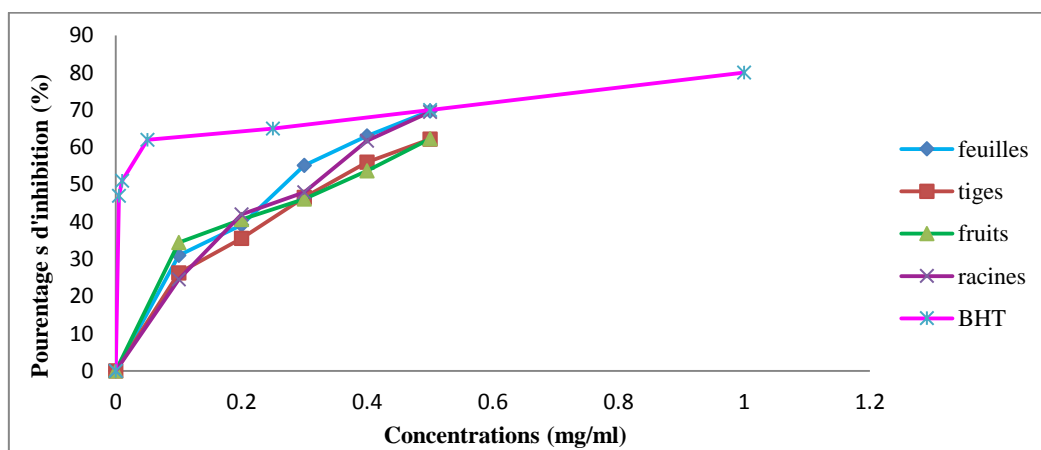


Figure 40. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène en fonction de différentes concentrations des extraits bruts de différentes parties de *P. lentiscus*.

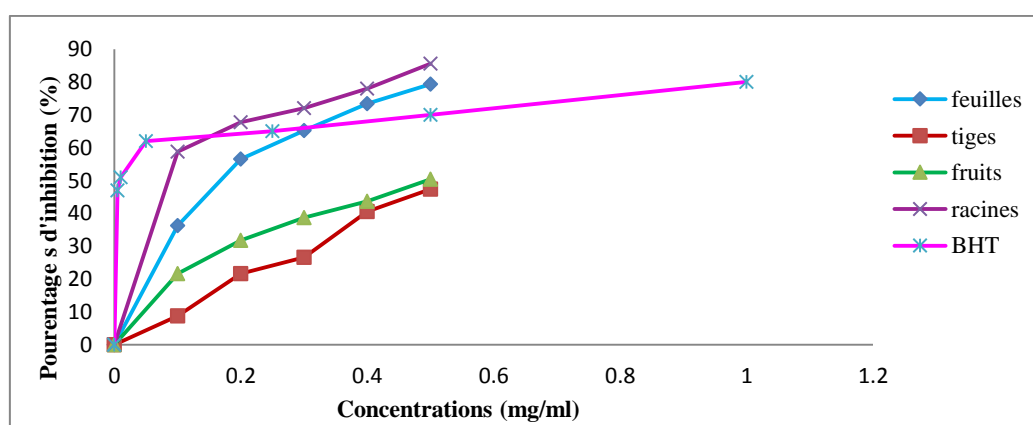


Figure 41. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène en fonction de différentes concentrations des fractions acétate d'éthyle de différentes parties de *P. lentiscus*.

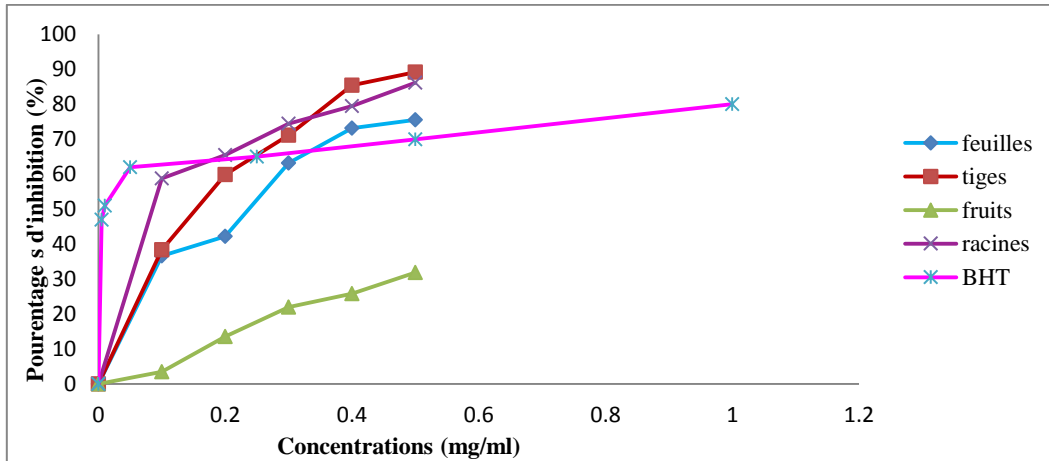


Figure 42. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène en fonction de différentes concentrations des fractions n- butanol de différentes parties de *P. lentiscus*.

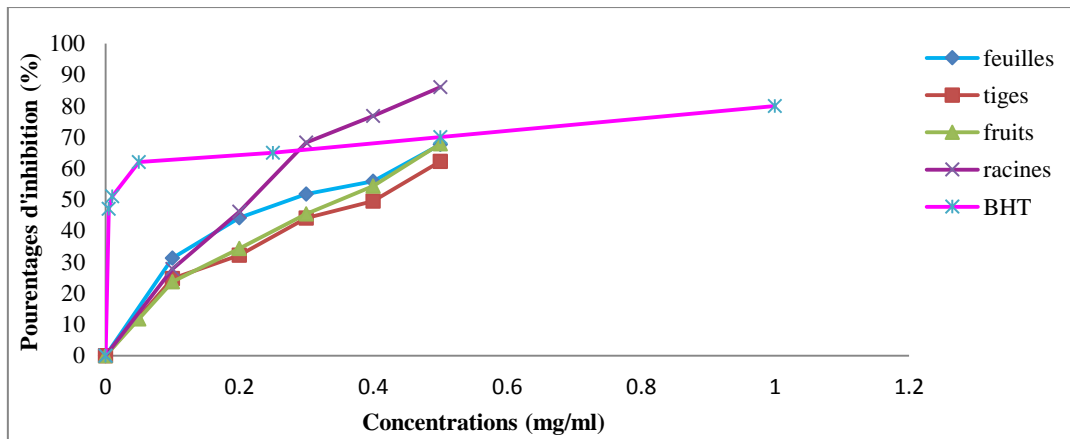


Figure 43. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène en fonction de différentes concentrations des extraits de tanins de différentes parties de *P. lentiscus*.

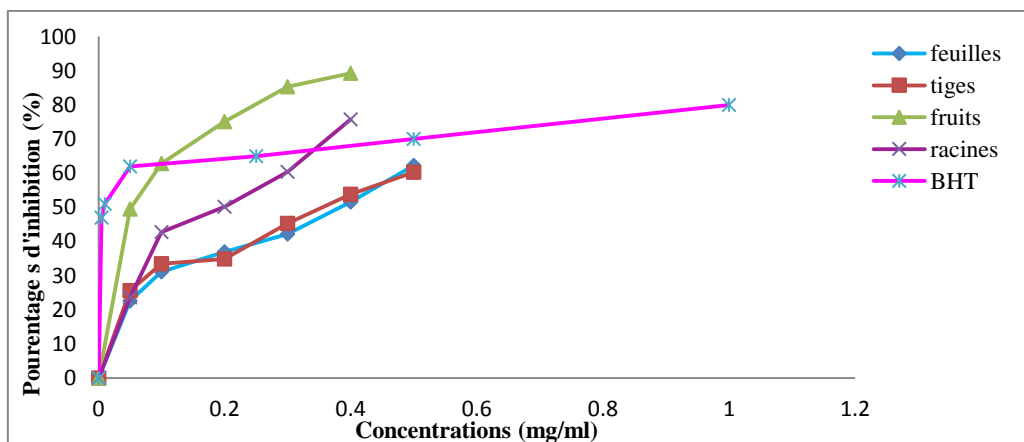


Figure 44. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène en fonction de différentes concentrations des extraits des anthocyanes de différentes parties de *P. lentiscus*.

4.4.2. Méthode du blanchissement du B-carotène dans les extraits de *G. decander*

Dans la présente partie des résultats, les saponosides et les extraits méthanoliques des feuilles révèlent la plus haute capacité à inhiber la dégradation du β -carotène ($CI_{50} = 0,082 \pm 0,013$ et $0,090 \pm 0,016$ mg / ml, respectivement) par rapport à tous les extraits des autres parties. Cependant, les tanins des tiges présentent la faible activité ($CI_{50} = 3,623 \pm 0,025$ mg / ml). Pour les autres extraits, les concentrations varient entre $CI_{50} = 0,121 \pm 0,020$ et $1,365 \pm 0,104$ et mg / ml.

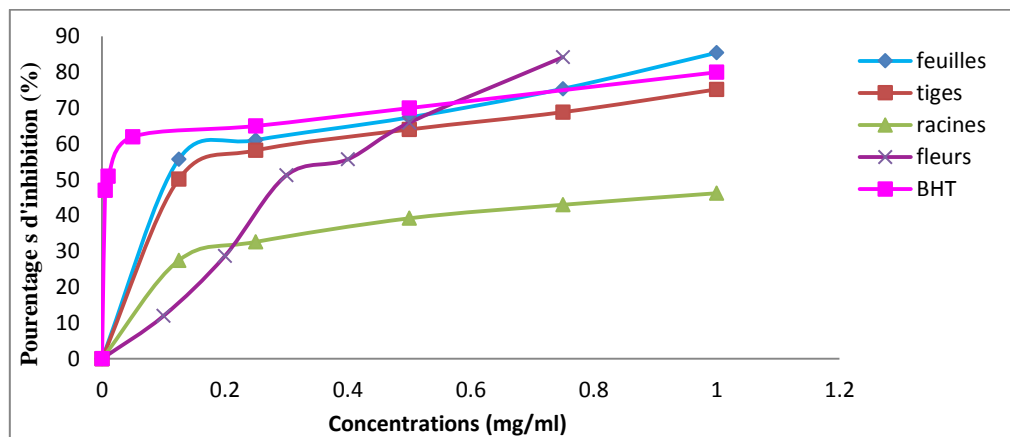


Figure 45. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène en fonction de différentes concentrations des extraits bruts de différentes parties de *G. decander*.

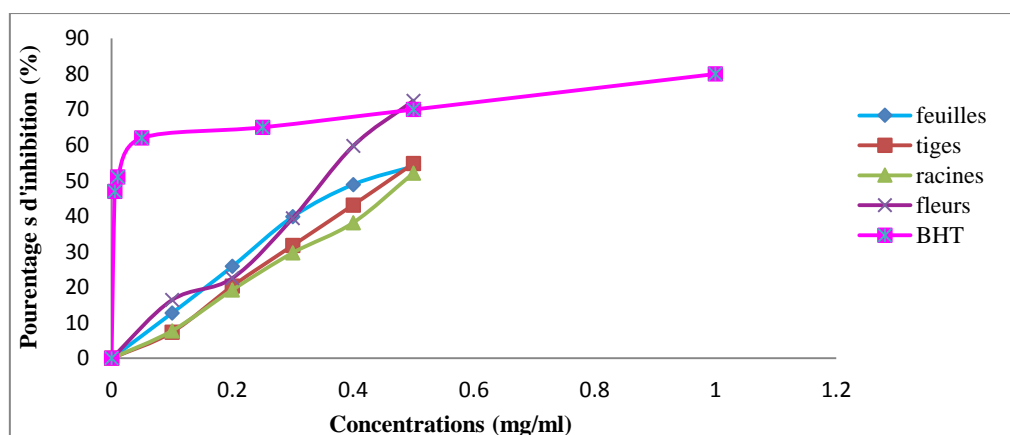


Figure 46. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène en fonction de différentes concentrations des fractions acétate d'éthyle de différentes parties de *G. decander*.

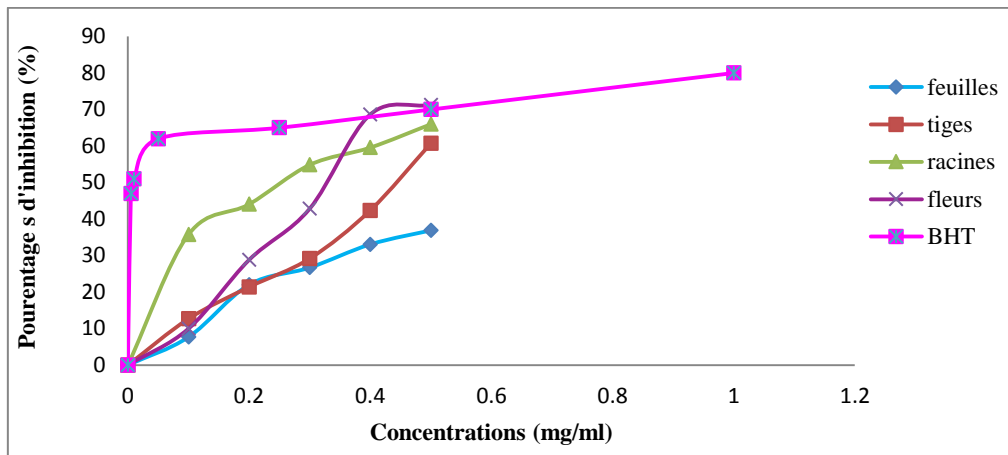


Figure 47. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène en fonction de différentes concentrations des fractions n- butanol de différentes parties de *G. decander*.

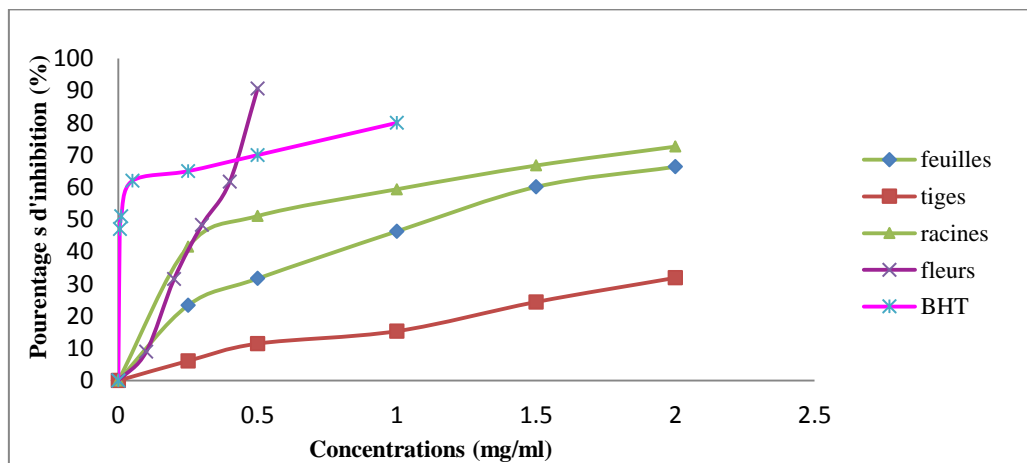


Figure 48. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène en fonction de différentes concentrations des extraits des tanins de différentes parties de *G. decander*.

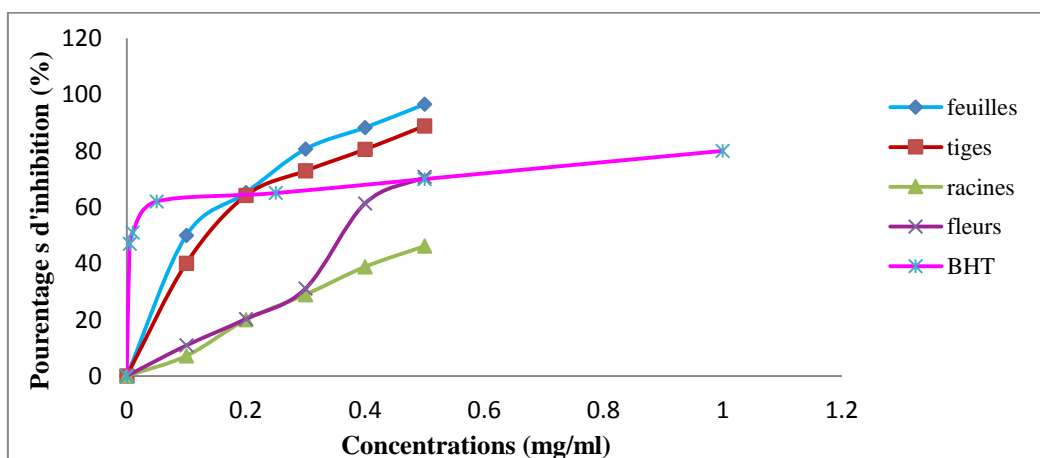


Figure 49. Pourcentages d'inhibition de blanchissement de B- carotène en fonction de différentes concentrations des extraits des saponosides de différentes parties de *G. decander*.

Le pouvoir antioxydant de nos différents extraits a été déterminé à partir des CI_{50} ; Le paramètre le plus couramment utilisé pour mesurer l'activité antioxydante. Cette valeur est la concentration en extrait nécessaire pour aboutir à 50% de la réaction. Une valeur faible de CI_{50} correspond à une activité antioxydante plus élevée de l'extrait.

Les valeurs des CI_{50} obtenues dans la méthode de la réduction de fer, de piégeage du radical libre DPPH et du test de blanchissement du B- carotène, et les valeurs de la capacité antioxydante totale pour tous les extraits testés de *P. lentiscus* et de *G. decander* sont présentées dans les **tableaux 7 et 8**.

Tableau 7. Valeurs CI_{50} de la réduction de fer, piégeage du radical DPPH, et du blanchissement du B-carotène, et valeurs de la CAT des extraits de toutes les parties de *P. lentiscus*.

Tests		Extraits	Feuilles	Tiges	Fruits	Racines
CI_{50} (mg/ml)	Réduction de fer	Extrait méthanolique	0.185 ± 0.002	0.190 ± 0.001	0.666 ± 0.035	0.236 ± 0.001
		Fraction AE	0.187 ± 0.001	0.416 ± 0.004	0.134 ± 0.006	0.213 ± 0.002
		Fraction butanolique	0.161 ± 0.001	0.193 ± 0.000	0.369 ± 0.002	0.102 ± 0.001
		Tanins	0.075 ± 0.001	0.148 ± 0.003	0.132 ± 0.015	0.061 ± 0.001
		Anthocyanes	0.088 ± 0.000	0.119 ± 0.001	0.122 ± 0.000	0.191 ± 0.000
		Acide gallique	0.060 ± 0.000			
	Piégeage de DPPH	Extrait méthanolique	0.166 ± 0.001	0.076 ± 0.001	0.772 ± 0.043	0.370 ± 0.002
		Fraction AE	0.171 ± 0.000	0.402 ± 0.015	0.080 ± 0.003	0.347 ± 0.006
		Fraction butanolique	0.127 ± 0.000	0.221 ± 0.002	0.484 ± 0.042	0.216 ± 0.000
		Tanins	0.069 ± 0.001	0.057 ± 0.001	0.099 ± 0.019	0.090 ± 0.011
		Anthocyanes	0.102 ± 0.005	0.163 ± 0.000	0.380 ± 0.030	0.245 ± 0.004
		Acide ascorbique	0.090 ± 0.002			
	Blanchissement de β-carotène	Extrait méthanolique	0.252 ± 0.002	0.321 ± 0.033	0.317 ± 0.009	0.316 ± 0.038
		Fraction AE	0.165 ± 0.013	0.521 ± 0.010	0.499 ± 0.018	0.052 ± 0.006
		Fraction butanolique	0.141 ± 0.011	0.151 ± 0.012	0.768 ± 0.001	0.058 ± 0.018
		Tanins	0.252 ± 0.000	0.373 ± 0.027	0.376 ± 0.007	0.213 ± 0.006
		Anthocyanes	0.603 ± 0.122	0.477 ± 0.001	0.104 ± 0.005	0.283 ± 0.007
		Acide gallique BHT	3.220 ± 0.020 0.010 ± 0.000			
CAT (mg AAE/g MS)	Extrait méthanolique	69.959 ± 2.609	69.959 ± 2.609	44.546 ± 0.343	9.606 ± 1.269	
	Fraction AE	24.952 ± 0.619	24.952 ± 0.619	5.676 ± 0.236	5.073 ± 0.453	
	Fraction butanolique	63.714 ± 3.972	7.372 ± 0.170	7.372 ± 0.170	0.824 ± 0.192	
	Tanins	16.952 ± 0.484	16.952 ± 0.484	8.124 ± 2.455	7.376 ± 0.338	
	Anthocyanes	33.532 ± 2.491	33.532 ± 2.491	2.748 ± 1.594	10.675 ± 0.573	

Tableau 8. Valeurs CI_{50} de la réduction de fer, piégeage de radical DPPH et du blanchissement du B-carotène et valeurs de la CAT des extraits de toutes les parties de *G. decander*.

Tests		Extraits	Feuilles	Tiges	Fleurs	Racines
CI ₅₀ (mg/ml)	Réduction de fer	Extrait méthanolique	2.242 ± 0.044	1.643 ± 0.023	0.107 ± 0.007	3.663 ± 0.026
		Fraction AE	1.207 ± 0.021	0.511 ± 0.007	0.237 ± 0.001	0.769 ± 0.000
		Fraction butanolique	1.065 ± 0.002	0.659 ± 0.000	0.141 ± 0.003	0.239 ± 0.015
		Tanins	1.151 ± 0.016	1.229 ± 0.007	0.083 ± 0.004	1.246 ± 0.001
		Saponosides	1.399 ± 0.017	1.458 ± 0.014	0.166 ± 0.008	1.408 ± 0.087
		Acide gallique	0.060 ± 0.00			
	Piégeage de DPPH	Extrait métanolique	5.892 ± 0.065	4.095 ± 0.042	0.350 ± 0.000	6.260 ± 0.052
		Fraction AE	4.485 ± 0.062	0.653 ± 0.012	0.401 ± 0.011	1.261 ± 0.013
		Fraction butanolique	1.687 ± 0.012	1.385 ± 0.005	0.322 ± 0.001	0.701 ± 0.008
		Tanins	1.302 ± 0.046	1.314 ± 0.029	0.063 ± 0.000	1.294 ± 0.029
		Saponosides	2.026 ± 0.011	2.247 ± 0.001	0.126 ± 0.000	0.649 ± 0.005
		Acide ascorbique	0.090 ± 0.002			
	Blanchissement de β-carotène	Extrait méthanolique	0.090 ± 0.016	0.121 ± 0.020	0.325 ± 0.037	1.365 ± 0.104
		Fraction AE	0.432 ± 0.014	0.457 ± 0.003	0.359 ± 0.018	0.489 ± 0.018
		Fraction butanolique	1.168 ± 0.392	0.441 ± 0,019	0.314 ± 0.008	0.246 ± 0.005
		Tanins	1.129 ± 0.022	3.623 ± 0.025	0.328 ± 0.003	0.493 ± 0.038
		Saponosides	0.082 ± 0.013	0.122 ± 0.000	0.386 ± 0.003	0.529 ± 0.007
		Acide gallique BHT	3.220 ± 0.020 0.010 ± 0.000			
CAT (mg AAE/g MS)	Extrait métanolique	8.293 ± 1.624	9.319 ± 0.401	32.27 ± 2.400	5.275 ± 0.694	
	Fraction AE	6.431 ± 1.271	6.447 ± 0.191	3.270 ± 0.121	6.311 ± 0.214	
	Fraction butanolique	4.350 ± 0.156	5.766 ± 1.059	9.135 ± 0.771	10.453 ± 1.756	
	Tanins	6.477 ± 1.396	6.369 ± 0.075	3.628 ± 0.087	8.184 ± 0.771	
	Saponosides	8.019 ± 1.175	6.532 ± 0.994	3.311 ± 0.451	3.896 ± 0.438	

5. Résultats des analyses chromatographiques

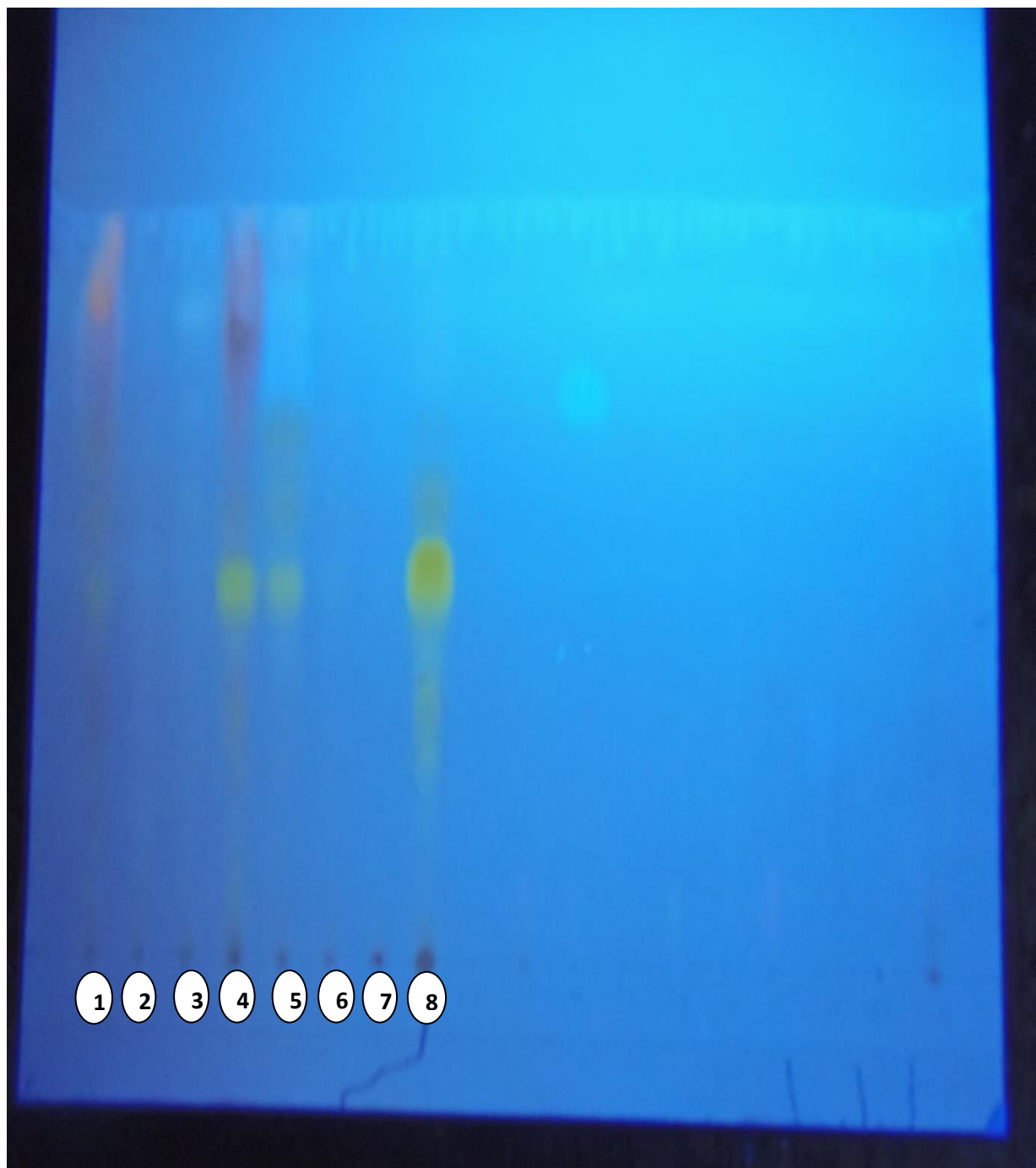
5.1. Interprétation des CCM des fractions flavoniques de *G. decander*

Pour la première fois dans cette étude, nous avons réalisé une chromatographie sur couche mince pour les fractions acétate d'éthyle et les fractions n- butanol pour les quatre parties de *G. decander* (feuilles, tiges, fleurs et racines).

Après le développement du chromatogramme et après que le front du solvant d'éluion ait atteint la ligne supérieure, la plaque a été retirée, séchée et examinée sous une lampe UV à 366 nm, puis à 254 nm, afin d'avoir une identification des constituants présents.

Le chromatogramme de la CCM (**Figure 50**) montre une présence importante de divers types de flavonoïdes par l'apparition des taches de différentes couleurs et de différents Rf qui leurs caractérisent.

Les dépôts 1, 4, 5, et 8 qui correspondent aux fractions d'acétate d'éthyle et n- butanol des feuilles et des fleurs marquent les nombres les plus élevés en spots. Ce constat est perçu en observant les chromatogrammes.



1 : fraction AE feuilles, 2 : AE tiges, 3 : AE racines, 4 : AE fleurs, 5: n-butanol feuilles, 6 : n-butanol tiges, 7 : n-butanol racines, 8 : n-butanol fleurs.

Figure 50. Chromatogramme de la CCM des fractions flavoniques de différentes parties de *G. decander* sous UV/366 nm.

Les taches oranges, jaunes, blanches, marrons, bleues et violettes observées sur le chromatogramme sous UV/ 254 nm et UV/366 nm (**Tableau 9**), peuvent correspondre à plusieurs classes de flavonoïdes. Le **Tableau 9** présente les caractéristiques de différents spots observés, et les classes de composés phénoliques dans lesquelles on peut classer ces composés.

Tableau 9. Composés phénoliques identifiés par CCM des fractions flavoniques de toutes les parties étudiées de *G. decander*. FAE: fraction acétate d'éthyle ; N-buOH : fraction butanolique.

Fractions étudiées	Spots (n°)	Rf	Sous UV/ 366 nm	Sous UV/ 254 nm	Composés phénoliques possibles
F AE feuilles	1 2 3 4 5	0.470 0.476 0.571 0.666 0.690	Jaune claire Jaune foncé Jaune claire Jaune claire Orange rouge	Marron claire noir	Flavonol (Dawson et al., 1991). Flavonol (Dawson et al., 1991). Flavonol (Dawson et al., 1991). Flavonol (Dawson et al., 1991). Anthocyanidine-3- glycoside (Markham, 1982 ; Mohammedi, 2006)
F AE tiges	1 2	0.480 0.690	Blanc claire Marron claire		
F AE racines	1 2 3 4	0.480 0.590 0.714 0.857	Blanc Blanc Blanc Bleu	Marron claire	
F AE fleurs	1 2 3 4 5 6 7 8	0.110 0.247 0.325 0.350 0.476 0.590 0.761 0.933	Jaune claire Blanc claire Orange claire Jaune claire Jaune foncé Orange claire Orange rouge Rouge brique foncé	Marron claire Marron foncé Marron claire Marron foncé	Flavonol (Dawson et al., 1991). Xanthone (Ladiguina et al., 1983) Flavonol (Dawson et al., 1991). Xanthone (Ladiguina et al., 1983) Anthocyanidine-3- glycoside (Markham, 1982 ; Mohammedi, 2006)
N-buOH feuilles	1 2 3 4 5 6	0.350 0.476 0.581 0.676 0.781 0.925	Jaune claire Jaune foncé Marron claire Marron claire Violet Bleu ciel	Marron claire Marron claire Violet	Flavonol (Dawson et al., 1991). Flavonol (Dawson et al., 1991). Flavone (Brou Kouassi et al., 2010) Flavone (Brou Kouassi et al., 2010)
N-buOH tiges	1 2	0.4 0.476	Blanc Jaune claire		Flavonol (Dawson et al., 1991).
N-buOH Racines	1	0.476	Jaune claire		Flavonol (Dawson et al., 1991).
N-buOH fleurs	1 2 3 4 5 6 7 8	0.247 0.323 0.35 0.4 0.476 0.6 0.690 0.760	jaune blanc orange claire blanc jaune foncé marron claire rouge claire bleu	Jaune claire Marron foncé marron claire marron claire	Flavonol (Dawson et al., 1991). Xanthone (Ladiguina et al., 1983) Flavonol (Dawson et al., 1991). Methylated flavones (Kadja et al., 2011)

5.2. Séparation chromatographique des composés phénoliques de quelques fractions flavoniques par CLHP

Dans cette partie de l'étude, les fractions flavoniques les plus actives dans les deux plantes étudiées, ont été sélectionnées pour une analyse par CLHP. Les composés phénoliques présents dans ces fractions ont été identifiés par comparaison de leurs temps de rétention à ceux des étalons (acide tannique, rutine, acide gallique, acide vanillique, acide ρ -coumarique, catéchine, acide syringique, acide férulique, quercétine et naringénine), puis quantifiés.

5.2.1. Analyses CLHP des fractions flavoniques des feuilles de *P. lentiscus*

Les deux fractions ; acétate d'éthyle et n- butanol des feuilles de *P. lentiscus* préparées dans la présente étude ont été analysées par CLHP.

Les résultats de l'analyse quantitative ($\mu\text{g} / \text{g MS}$) de chaque composé phénolique identifié sont indiqués dans le **tableau 10**. Dans la fraction d'acétate d'éthyle, la quantité des composés identifiés varie considérablement, allant de 1945,45 $\mu\text{g} / \text{g MS}$ de la quercétine à 15,44 $\mu\text{g} / \text{g MS}$ de l'acide gallique. Cependant, l'acide tannique, la rutine, l'acide vanillique et de l'acide syringique sont introuvables. Dans la fraction butanolique, la molécule la plus élevée est la quercétine (139.45 $\mu\text{g} / \text{g MS}$). La concentration en acide vanillique était la plus faible (32,67 $\mu\text{g} / \text{g MS}$). L'acide férulique a également été identifié dans cette fraction.

Tableau 10. Analyse quantitative des composés phénoliques ($\mu\text{g} / \text{g}$ de MS) de la fraction acétate d'éthyle et la fraction n- butanol des feuilles de *P. lentiscus*.

N°	Etalons	Temps de Réention	Concentrations ($\mu\text{g} / \text{g}$ MS)	
			Fraction A E feuilles	Fraction n-butanol feuilles
1	Acide Tannique	1.58	N. D	N. D
2	Rutine	1.85	N. D	N. D
3	Acide Gallique	4.5	15.44	N. D
4	Acide Vanillique	15.2	N. D	32.67
5	Acide ρ -Coumarique	16.48	131.90	N. D
6	Catéchine	14.48	41.06	N. D
7	Acide Syringique	1.93	N. D	N. D
8	Acide Férulique	24.80	91.23	44.08
9	Quercétine	30.48	1945.5	139.45
10	Naringénine	43.45	1652.1	N. D

5.2.2. Analyses CLHP de quelques fractions flavoniques de *G. decander*

La fraction acétate d'éthyle et la fraction butanolique des fleurs, et la fraction acétate d'éthyle des racines, préparées dans cette étude, ont été sélectionnés pour une analyse par CLHP. Le **tableau 11** présente les résultats de l'analyse quantitative ($\mu\text{g} / \text{g}$ MS) des composés phénoliques identifiés dans ces fractions. Dans la fraction acétate d'éthyle des fleurs, l'acide vanillique, l'acide ρ -coumarique, la quercétine et la naringénine ont été détectées. La quantité des composés identifiés varie considérablement, allant de 623,14 ($\mu\text{g} / \text{g}$ MS) de la quercétine, à 18.24 ($\mu\text{g} / \text{g}$ MS) d'acide vanillique. Cependant, l'acide tannique, la rutine, l'acide gallique, la catéchine, l'acide syringique et l'acide férulique ne sont pas mis en évidence. Dans la fraction butanolique des fleurs, l'acide ρ -coumarique, la quercétine et la naringénine, ont été détectés. Seulement, un composé a été trouvé dans la fraction acétate d'éthyle des racines: la naringénine.

Tableau 11. Analyse quantitative des composés phénoliques ($\mu\text{g} / \text{g}$ de MS) de la fraction acétate d'éthyle et la fraction n- butanol des fleurs, et la fraction acétate d'éthyle des racines de *G. decander*.

N°	Etalons	Temps de Rétection	Concentrations ($\mu\text{g} / \text{g}$ MS)		
			F Acétate E Fleurs	F butanolique Fleurs	F Acétate E Racines
1	Acide Tannique	1.58	N. D	N. D	N. D
2	Rutine	1.85	N. D	N. D	N. D
3	Acide Gallique	4.5	N. D	N. D	N. D
4	Acide Vanillique	15.2	18.24	N. D	N. D
5	Acide ρ -Coumarique	16.48	54.37	N. D	N. D
6	Catéchine	14.48	N. D	N. D	N. D
7	Acide Syringique	1.93	N. D	N. D	N. D
8	Acide Férulique	24.80	N. D	N. D	N. D
9	Quercétine	30.48	72.95	124.84	85.41
10	Naringénine	43.45	623.14	454.20	325.24

5.3. Interprétation des analyses chromatographiques de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de *G. decander* (chromatographie sur colonne, et analyses CLHP-PR)

Vu l'efficacité antioxydante de la fraction acétate d'éthyle de la partie des fleurs de *G. decander*, cette dernière a été choisie pour la séparation de ses composés actifs par chromatographie sur colonne, puis analyse des sous- fractions actives par CLHP.

Après séparation sur colonne de la fraction acétate d'éthyle de la partie fleurie de *G. decander*, les dix (10) sous-fractions obtenues ont été testées pour leur capacité à piéger le radical DPPH. Les pourcentages d'inhibition des 10 sous-fractions sont présentés dans le **tableau 12**.

Tableau 12. Pourcentages d'inhibition des sous- fractions obtenues par CC de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de *G. decander*.

Sous- fractions (SF)	Concentrations (mg/ ml)	Pourcentages d'inhibition (%)
SF1	23	93
SF2	2	65
SF3	5	51
SF4	1	35
SF5	8	47
SF6	0.5	53
SF7	15	95
SF8	13	93
SF9	1	39
SF10	4	54

Les sous fractions SF1, SF7 et SF8 marquent le pouvoir le plus élevé à piéger le radical libre DPPH. Ces 3 sous-fractions ont été choisies pour des analyses CLHP-PR, qui ont été faites au laboratoire des plantes extrêmophiles au centre de biotechnologie de Borj cedria (Tunis) sous la direction de Monsieur Riadh KSOURI.

Une gamme de concentration a été préparée pour le test DPPH pour chacune de ces sous- fractions. La **figure 51** ci- dessous présente les résultats du pouvoir de piégeage du radical libre DPPH de SF1, SF7 et SF8. D'après ces résultats, les deux sous- fractions SF1 et SF7 marquent une bonne activité antioxydante ; à une concentration de 0.05 mg/ml, le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH se rapproche de 50%.

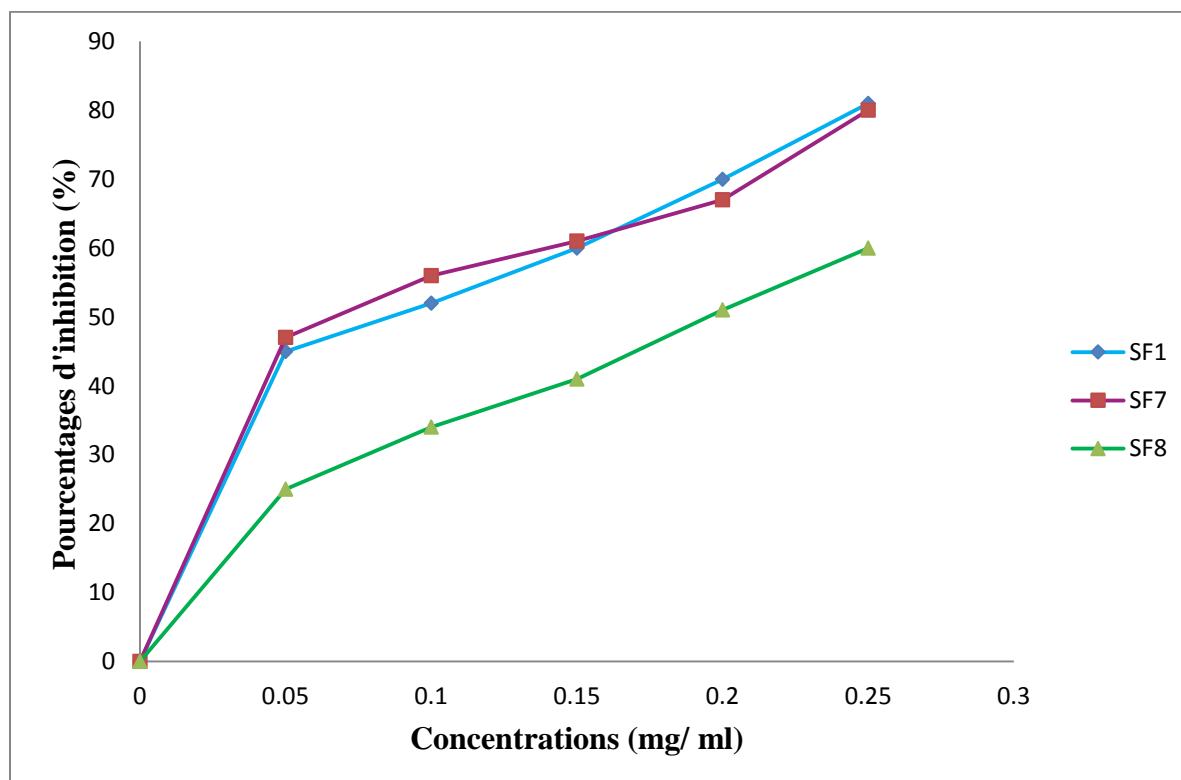


Figure 51. Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des sous fractions actives obtenues par CC de la fraction acétate d'éthyle de la partie fleurie de *G. decander*. SF1 : sous fraction1 ; SF7 : sous fraction7; SF8 : sous fraction8.

Les sous fractions choisies SF1, SF7 et SF8 ont été analysées, par la suite, par CLHP-PR.

L'identification est basée sur la comparaison des temps de rétention des composés phénoliques des sous- fractions, avec ceux de différents standards analysés dans les mêmes conditions. Les données des temps de rétention des différents standards sont présentées dans le **Tableau 13**. La détection des composés est effectuée à 280 nm.

Les chromatogrammes que présentent les figures suivantes illustrent les résultats de ces analyses.

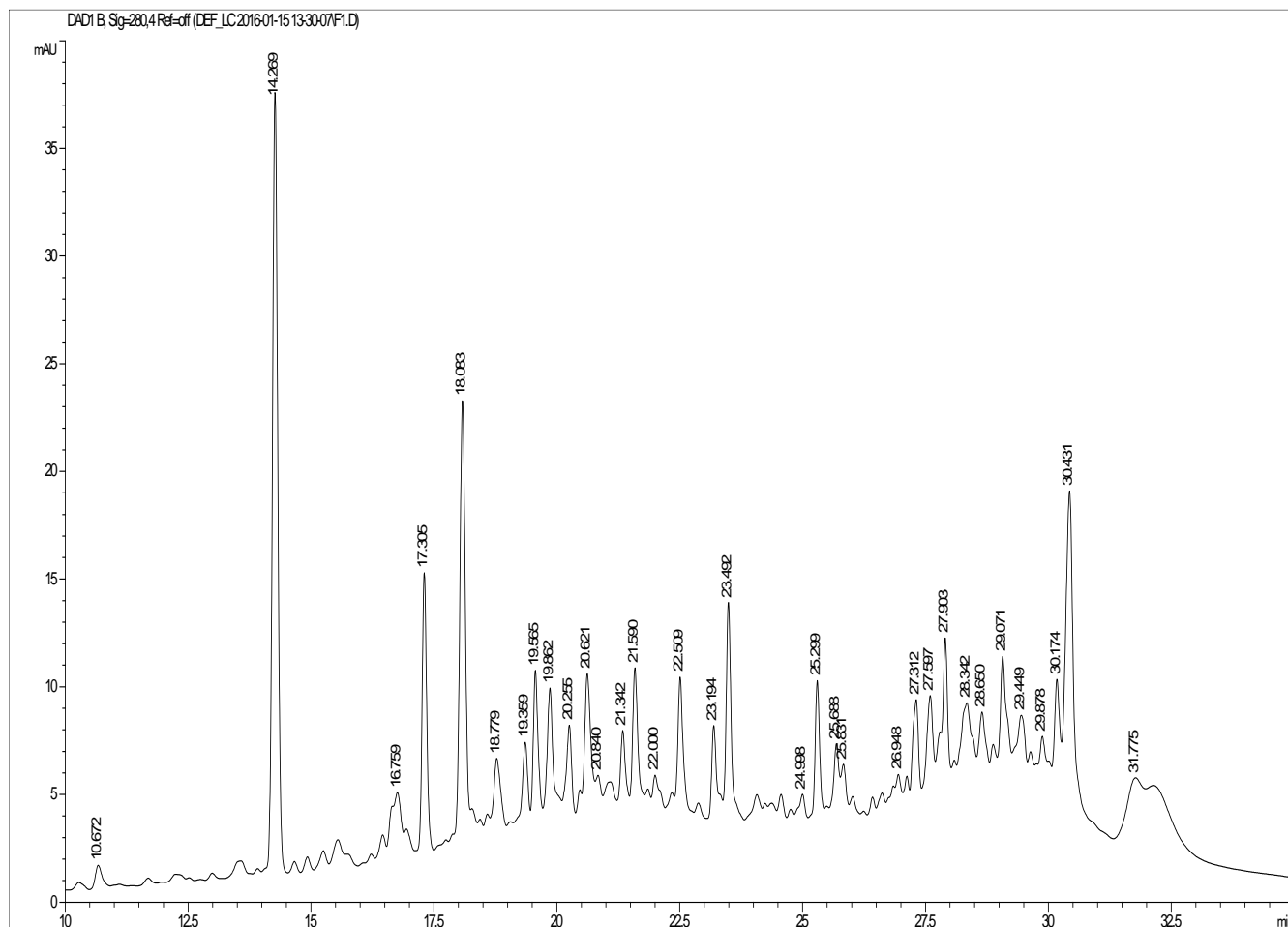


Figure 52. Chromatogramme de la SF1 de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de *G. decander* obtenu par CLHP-PR.

Le chromatogramme présenté dans la **Figure 52** montre un profil des pics d'un ensemble de différents composés phénoliques. La comparaison des temps de rétention de ces composés avec ceux des standards nous a confirmé la présence de seize (16) composés phénoliques qui sont : l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p -coumarique, la lutéoline, la luteoline 7-O glucoside, l'isoquercitrine, l'acide rosmarinique, l'hypéroside, l'oleuropeine, la rutine, la kaempferol, la kaempferol 3-O rutinoside, l'isorhamnetine, l'apigénine, la laricitrine et la polydatine.

La **Figure 53** ci-dessous présente le chromatogramme de la sous-fraction7.

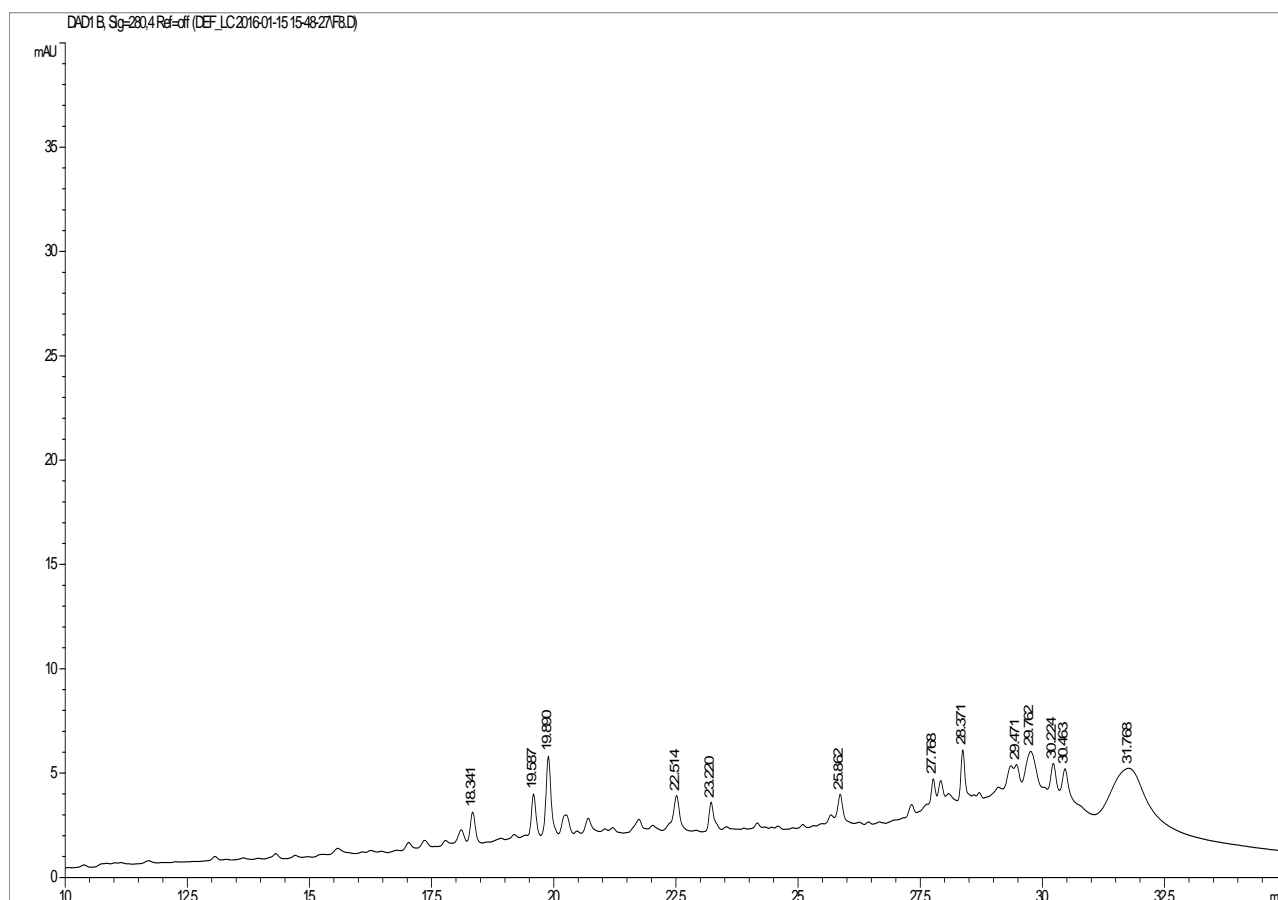


Figure 53. Chromatogramme de la SF7 de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de *G. decander* obtenu par CLHP-PR.

La comparaison des temps de rétention des composés de la sous fraction SF7 avec ceux de différents standards, nous a permis que de suspecter la présence éventuelle de six (06) composés phénoliques : l'acide p -coumarique, l'acide synapique, l'oleuropeine, la kaempférol 3 O rutinoside, l'apigénine et la polydatine.

La **Figure 54** ci-dessous présente le chromatogramme de la sous-fraction **8**.

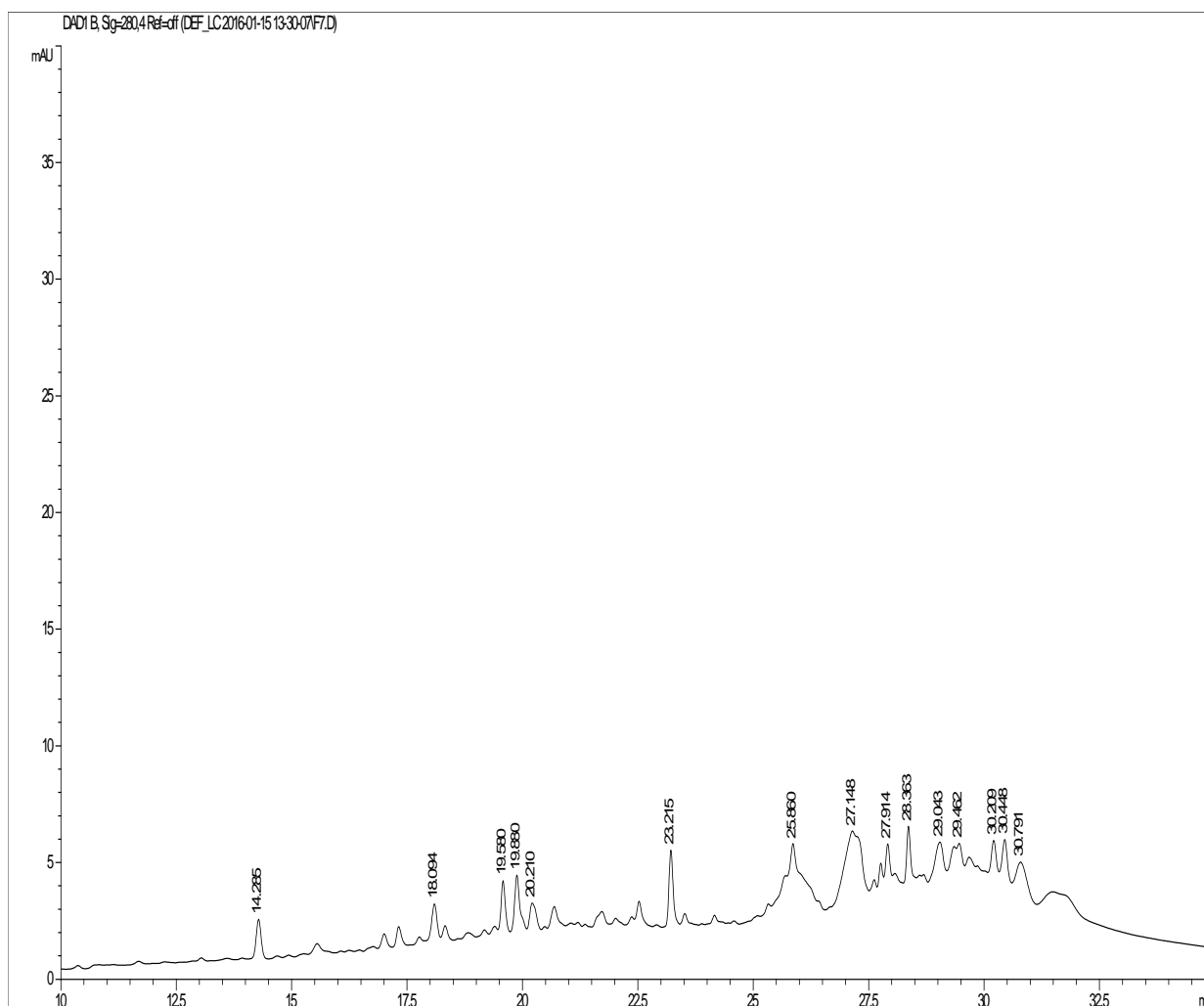


Figure 54. Chromatogramme de la SF8 de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de *G. decander* obtenu par CLHP-PR.

Après observation et comparaison des temps de rétention des pics du chromatogramme de la sous fraction SF8 présenté dans la **Figure 54**, il apparaît qu'uniquement trois (3) composés ont été identifiés : l'acide synapique, l'apigénine et la polydatine.

Les résultats de la CLHP des sous- fractions (SF1, SF7 et SF8) de la fraction acétate d'éthyle de *G. decander* sont résumés dans le **Tableau 13**.

Tableau 13. Résultats de la CLHP-PR des sous- fractions (SF1, SF7 et SF8) de la fraction acétate d'éthyle de *G. decander* (Id : identifié ; N. Id : Non identifié).

N°	Etalons	Temps de Retention	SF1	SF7	SF8
1	Acide Trans- cinnamique	24.36	N. Id	N. Id	N. Id
2	Acide Cafféique	17.089	Id	N. Id	N. Id
3	Catéchine hydraté	14.988	N. Id	N. Id	N. Id
4	Catéchol	12.034	N. Id	N. Id	N. Id
5	Résorcinol	10.308	N. Id	N. Id	N. Id
6	Acide gallique	7.994	N. Id	N. Id	N. Id
7	Acide Chlorogénique	15.341	N. Id	N. Id	N. Id
8	Acide Syringique	17.555	N. Id	N. Id	N. Id
9	Acide p-coumarique	19.692	Id	Id	N. Id
10	Acide Férulique	20.043	Id	N. Id	N. Id
11	Lutéoline 7-O glucoside	20.937	Id	N. Id	N. Id
12	Acide Synapique	19.977	N. Id	Id	Id
13	Isoquercitrine	21.925	Id	N. Id	N. Id
14	Acide Rosmarinique	21.625	Id	N. Id	N. Id
15	Acide Ellagique	22.278	N. Id	N. Id	N. Id
16	Oleuropéine	21.909	Id	Id	N. Id
17	Rutine	21.386	Id	N. Id	N. Id
18	Myricetine	22.457	N. Id	N. Id	N. Id
19	kaempferol 3 O rutinoside	22.538	Id	Id	N. Id
20	Acide Protocatechuic ethyl ether	21.773	N. Id	N. Id	N. Id
21	Quercétine	24.043	N. Id	N. Id	N. Id
22	Isorhamnétine	25.68	Id	N. Id	N. Id
23	Kaempférol	25.45	Id	N. Id	N. Id
24	Epigallocatechine	14.69	N. Id	N. Id	N. Id
25	Epicatechine 3 O gallate	16.26	N. Id	N. Id	N. Id

26	Isorhamnetin 3 O rutinoside	22.83	N. Id	N. Id	N. Id
27	Isorhamnetin 3 O glucoside	22.718	N. Id	N. Id	N. Id
28	Resvératrol	21.737	N. Id	N. Id	N. Id
29	Lutéoline	24.787	Id	N. Id	N. Id
30	Naringénine	24.32	N. Id	N. Id	N. Id
31	Apigénine	25.897	Id	Id	Id
32	Coumarine	20.995	N. Id	N. Id	N. Id
33	Cirsimaritine	26.948	N. Id	N. Id	N. Id
34	Laricitrine	24.749	Id	N. Id	N. Id
35	Polydatine	19.693	Id	Id	Id
36	Acide Trans-hydroxycinnamique	20.942	N. Id	N. Id	N. Id
37	Hypéroside	21.386	Id	N. Id	N. Id
38	Acide ascorbique	4.414	N. Id	N. Id	N. Id

Discussion

Les substances phytochimiques sont recherchées en raison de leurs activités biologiques nombreuses et leurs effets positifs sur la santé.

Dans *P. lentiscus*, le screening phytochimique a permis de détecter les principaux composés phytochimiques tels que les flavonoïdes, les tanins et les anthocyanes. Nos résultats sont en accord avec certains auteurs (**Vaya et al., 2006; Longo et al., 2007; Atmani et al., 2009 ; Beghlal et al., 2016**) qui ont trouvé les anthocyanes, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides et les triterpènes dans cette plante. De même, l'examen de criblage phytochimique réalisé par **Hamad et al. (2011)** a révélé la présence des stérols insaturés et / ou triterpènes, des carbonydrates, des flavonoïdes et des tanins. Une autre étude récente réalisée par **Arab et al. (2014)** a signalé une abondance de composés phénoliques dans les feuilles (116,49%) et les fruits (61,34%).

Pour la première fois dans cette étude, le criblage phytochimique et l'estimation qualitative de toutes les parties ; feuilles, fleurs, tiges et racines de *G. decander* ont montré la présence des saponosides, des tanins, des flavonoïdes, des anthocyanes et d'autres métabolites secondaires. Cette étude a révélé que les feuilles et les fleurs sont riches en composés phytochimiques, considérés comme des constituants chimiquement actifs. La présence de ces composés dans les différentes parties de *G. decander* indique que cette plante peut avoir la capacité en tant qu'agent antioxydant.

Vu la quantité importante des polyphénols notamment les flavonoïdes et les tanins, nous avons choisi de réaliser des extractions sélectives de ces différents composés.

Pour les deux plantes et, dans la plupart des parties étudiées, le plus grand rendement déterminé est raisonnablement celui de l'extrait brut. Ainsi, ces rendements confirment les intensités des résultats des tests phytochimiques.

Toutes les plantes produisent une étonnante diversité de métabolites secondaires. Un des groupes le plus important de ces métabolites est le groupe des composés phénoliques. La conception de l'action antioxydante des composés phénoliques n'est pas nouvelle (**Khan et al., 2012**). Plusieurs études ont montré que l'effet antioxydant des produits végétaux est principalement attribuable aux composés phénoliques comme les flavonoïdes, les acides phénoliques, les tanins, etc (**Nagavani et al., 2010 ; Cartea et al., 2010**).

Les flavonoïdes et les acides phénoliques sont classés comme des antioxydants mixtes (**Romalho et al., 2006**), car ils sont capables de donner des protons aux radicaux libres, et

sont encore capables d'empêcher la formation des espèces réactives de l'oxygène (ROS), soit par l'inhibition des facteurs impliqués dans ce processus, ou par chélation des traces métalliques impliquées dans leur production (**Agatia et al., 2012**).

Les tanins ont un grand intérêt dans la nutrition et la médecine en raison de leur capacité antioxydante puissante, et leurs effets protecteurs sur la santé humaine. Les propriétés biologiques, pharmacologiques et médicinales des tanins ont été liées à leur pouvoir antioxydant puissant (**Rosales-Castro et al., 2014**).

Les résultats des teneurs en composés phénoliques de *P. lentiscus* montrent la richesse de différentes parties en ces derniers, les feuilles et les tiges ont marqué les quantités les plus importantes (216.289 ± 20.62 mg GAE / g MS et $121,399 \pm 3,354$ mg / g respectivement). Cette richesse indiquée dans notre étude est confirmée par (**Hamad et al., 2011; Arab et al., 2014; Amessis-Ouchemoukh et al., 2014 ; Beghlal et al., 2016**). En comparaison avec d'autres auteurs, **Gardeli et al. (2008)** ont constaté un bon contenu phénolique dans les feuilles de *P. lentiscus* qui était de 588 mg GAE / g et qui est supérieur à celui de nos résultats. D'autres études rapportées par **Djeridane et al. (2007)** ($23,5$ mg GAE / g MS), **Benhammou et al. (2007)** ($0,90 \pm 0,05$ mg pyrocatechol équivalent / g d'extrait sec) et **Atmani et al. (2009)** ($136,25 \pm 18,9$ mg CE / g MS) ont montré de faibles niveaux en contenu phénolique par rapport à nos résultats.

Pour les autres classes de polyphénols, les plus fortes concentrations en flavonoïdes et en tanins condensés ont été enregistrées dans les feuilles et les tiges de *P. lentiscus*. Comparés aux autres études, le contenu en flavonoïdes dans les feuilles étaient de $12,93 \pm 1,69$ mg / g et $8,21 \pm 0,09$ mg / g, respectivement trouvé par **Atmani et al. (2009)** et **Krimat et al. (2014)**. A propos des tanins condensés, **Atmani et al. (2009)** ont rapporté que les feuilles ont montré une teneur élevée de $909,4 \pm 42,61$ mg équivalents d'acide tannique/ g d'extrait sec.

Concernant *G. decander* qui est la deuxième plante qui fait l'objet de cette étude, la partie des fleurs présente toujours les teneurs les plus élevées en phénols totaux, flavonoïdes, flavonols et tanins condensés. Si on compare nos résultats avec ceux trouvés dans l'investigation de **Bouaziz et al. (2009)** qui est le seul travail réalisé sur l'étude de la composition en polyphénols et l'activité antioxydante de *G. decander*, on peut dire que nos teneurs en composés phénoliques trouvées dans les fleurs de *G. decander*, étaient plus élevées que celles rapportées par **Bouaziz et al. (2009)** dans l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *G. decander* en Tunisie. Dans la même étude de **Bouaziz et al. (2009)**, les teneurs

en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes et en flavonols étaient : 60 ± 7 (mg Pye / 100 g d'extrait), 21 ± 3 (mg RuE / 100 g d'extrait) et 11 ± 1 (mg QUE / 100 g d'extrait), respectivement.

De nombreuses études ont montré que l'activité antioxydante mesurée, dépend essentiellement du système de test utilisé et, ont recommandé de fonder des conclusions sur au moins deux systèmes de tests différents (**Moon et Shinamoto, 2009**).

La plupart des méthodes de détermination de l'activité antioxydante totale se caractérisent par la capacité du composé testé ou du produit, à piéger les radicaux libres et / ou à des ions métalliques complexes, en étudiant le processus d'oxydation. Il est connu que l'activité antioxydante des composés phénoliques est principalement du fait de leur capacité à être des donneurs des atomes d'hydrogène.

Toutes ces données nous ont conduits à faire une étude du pouvoir antioxydant par des méthodes spécifiques, à savoir la capacité antioxydante totale, la réduction de fer, le piégeage du radical libre DPPH, et la décoloration du bêta-carotène en présence de l'acide linoléique.

La capacité antioxydante totale de *P. lentiscus* a été exprimée en acide ascorbique dans notre travail. L'extrait méthanolique des feuilles présente la plus bonne capacité antioxydante ($69,959 \pm 2,609$ mg AAE / g MS). Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Gardeli et al. (2008)** qui ont montré que les feuilles de *P. lentiscus* ont une capacité antioxydante élevée (131 mmol / L).

La réduction de fer FRAP peut être utilisée comme un indicateur significatif de l'activité antioxydante d'un composé potentiel. Ce test a été utilisé avec succès pour l'analyse de routine de l'activité antioxydante des extraits de plantes dans plusieurs travaux. Par conséquent, selon le pouvoir réducteur du composé ou d'un extrait testé, la couleur jaune de la solution d'essai se transforme en diverses nuances de vert ou bleu. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Atmani et al. (2009)** et **Atmani et al. (2011)** qui ont constaté que *P. lentiscus* présente un grand pouvoir réducteur.

Dans la plupart des méthodes qui sont utilisées récemment pour estimer les propriétés antioxydantes des composés ou des extraits, la capacité d'un antioxydant à piéger les radicaux libres est largement étudiée (**Agatia et al., 2012**). Le dosage de DPPH a été largement utilisé comme un paramètre rapide, fiable et reproductible pour rechercher l'activité antioxydante, *in vitro*, des composés purs, ainsi que des extraits de plantes (**Ara et Nur, 2009**). L'activité de

piégeage des radicaux libres est observée à partir de la diminution de l'absorbance de DPPH avec augmentation de la concentration de l'extrait.

Les valeurs CI_{50} dans notre travail sont similaires à celle de l'acide ascorbique ; ce qui indique une très bonne activité. Selon **Gardeli et al. (2008)**, l'extrait méthanolique de la partie aérienne de cette espèce a montré la plus forte activité de piégeage des radicaux libres ($CI_{50} = 0,050$ mg / ml), cette valeur est similaire à celle des extraits des tanins dans notre étude ($CI_{50} = 0,057$ mg / ml). De même, le résultat de **Atmani et al. (2009)** et **Krimat et al. (2014)** ont montré que les feuilles de *P. lentiscus* présentent une forte activité antioxydante à piéger le radical libre DPPH ($CI_{50} = 0,004 \pm 0,000$ mg / ml). Ces données sont plus élevées que celles trouvées dans notre étude ($CI_{50} = 0,166 \pm 0,001$ mg /ml pour l'extrait méthanolique des feuilles).

La quatrième technique précédée pour la mesure de l'activité antioxydante est celle de blanchissement du β -carotène en présence de l'acide linoléique. La β -carotène est importante comme composé physiologique puisqu'elle est le précurseur de rétinol. Ainsi le taux de dégradation ou de décoloration du β -carotène dépend de la capacité antioxydante de nos extraits. Les hydro-péroxydes de l'acide linoléique attaquent la molécule de β -carotène et, par conséquent, subit une décoloration rapide en l'absence d'antioxydants. Cette diminution de la coloration correspond a une diminution de l'absorbance suivie spectrophotométriquement (**Kubola et Siriamornpun, 2008**).

Amessis-Ouchemoukh et al. (2014) ont rapporté que l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus* montre une bonne capacité à réduire le taux de dégradation du β -carotène ($CI_{50} = 0,12 \pm 0,00$ mg / ml). Ce résultat indique une meilleure activité, supérieure à celle trouvée dans notre étude (CI_{50} des feuilles de l'extrait méthanolique = $0,252 \pm 0,002$ mg / ml).

Pour la première fois dans cette étude, quatre différentes techniques ont été utilisées pour mesurer l'activité antioxydante de l'extrait brut méthanolique et des extraits sélectifs des feuilles, fleurs, tiges et racines de *G. decander*.

Selon **Razali et al., 2008**, les plantes avec des niveaux élevés en composés phénoliques, peuvent présenter une bonne capacité antioxydante totale. Cette suggestion est confirmée dans notre étude, car les extraits de la partie des fleurs de *G. decander* qui présentent des teneurs élevées en composés phénoliques révèlent la meilleure capacité antioxydante totale.

Les extraits des fleurs de *G. decander* présentent un pouvoir considérable à réduire le fer. Ceci est confirmé lorsqu'on compare ces valeurs avec celles de l'acide gallique standard. En outre, les données ont montré que le reste des extraits ont un pouvoir réducteur qui diffère entre $0,239 \pm 0,015$ et $3,663 \pm 0,026$ (mg / ml).

Pour la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH, les extraits de la partie des fleurs présentent toujours les meilleures valeurs qui ne diffèrent pas à celle de l'acide ascorbique ($CI_{50} = 0.063 \pm 0.000$ mg / ml pour l'extrait des tanins, et $CI_{50} = 0.126 \pm 0.000$ mg / ml pour celui des saponosides). Ce résultat reste faible en comparaison avec celui de l'étude de **Bouaziz et al. (2009)**, les concentrations CI_{50} trouvées par ces auteurs étaient de $1,36 \pm 0,22$ et $1,43 \pm 0,24$ ($\mu\text{g} / \text{ml}$) pour l'extrait méthanolique et l'extrait acétate d'éthyle de la partie aérienne de *G. decander*, respectivement. Alors que, pour les autres extraits, les concentrations CI_{50} se situent entre ($0,322 \pm 0,001$) et ($4,485 \pm 0,062$) mg / ml. Ces extraits sont donc 3 à 50 fois moins actifs que l'acide ascorbique.

Dans le test du β -carotène, les différents extraits de *G. decander* révèlent une capacité moyenne à inhiber la dégradation du β -carotène. Ces extraits apparaissent clairement plus actifs que l'acide ascorbique ($CI_{50} = 3,220 \pm 0,020$ mg / ml), mais moins actifs que le control positif BHT ($CI_{50} = 0,010 \pm 0,000$ mg / ml).

Pour la première fois dans cette étude, nous avons réalisé une chromatographie sur couche mince pour les fractions d'acétate d'éthyle et les fractions butanoliques de quatre parties de *G. decander*. Des informations tirées de la bibliographie nous ont permis de faire des attributions au regard des chromatogrammes obtenus. Les résultats obtenus et leurs interprétations sont consignées dans **le Tableau 9** (Partie résultat).

Pour chaque tache de couleur spécifique avec un R_f donné, une attribution a été faite avec un type de composé et ce, conformément aux méthodologies rapportées par plusieurs auteurs. D'après **Ladiguyna et al. (1983)** et **Dawson et al. (1991)**, Les flavonoïdes sont fluorescents comme d'autres métabolites secondaires sous UV/366 nm. Les xanthonnes prennent une coloration orange, les taches jaunes correspondent aux flavonols et/ou auronnes. **Markham (1982)** a montré que les anthocyanidines-3-glycosides donnent des taches orange-rouge et mauve; les flavonols se décèlent sous forme de taches jaunes et vertes. **Kouassi Brou et al. (2010)** ont montré dans leur étude que les flavones et les chalcones présentent une coloration pourpre et orange.

Pour les deux plantes étudiées, quelques fractions flavoniques les plus actives ont été choisies pour une analyse CLHP. Pour *P. lentiscus*, l'analyse CLHP a été effectuée sur les deux fractions acétate d'éthyle et n-butanol des feuilles, en se basant sur leur activité antioxydante importante déterminée préalablement. Cette analyse nous a permis la détection et la quantification de l'acide gallique, l'acide ascorbique, l'acide ρ -coumarique, la catéchine, la quercétine, l'acide férulique, l'acide vanillique et la naringénine dans les deux fractions acétate d'éthyle et n-butanol.

Les résultats trouvés dans notre enquête sont en accord avec ceux rapportés par **Rodriguez-Perez et al. (2013)** qui ont identifié différents composés phénoliques dans les feuilles, dont trois étaient l'acide gallique, la catéchine et la quercétine.

Pour L'analyse CLHP de *G. decander*, nous disposions de trois fractions les plus actives : la fraction acétate d'éthyle et la fraction n-butanol des fleurs, et la fraction acétate d'éthyle des racines. Cette analyse a mis en évidence la présence de la quercétine et de la naringénine dans les deux fractions analysées des fleurs, de l'acide ρ -coumarique dans la fraction acétate d'éthyle et la fraction butanolique des fleurs, et de l'acide vanillique dans la fraction acétate d'éthyle des fleurs. Seulement, un composé a été trouvé dans la fraction acétate d'éthyle des racines: la naringénine.

Tous les composés phénoliques identifiés dans notre étude ont été mis en évidence, pour la première fois, dans la fraction acétate d'éthyle et la fraction butanolique des fleurs, et la fraction acétate d'éthyle des racines de *G. decander*. Les fleurs qui présentent la meilleure activité antioxydante, est la partie dans laquelle on a pu identifier les principaux composés phénoliques.

La chromatographie sur colonne est une technique très largement utilisée pour séparer et purifier les différents constituants d'un mélange. Notre choix s'est porté sur la fraction acétate d'éthyle de la partie fleurie de *G. decander* pour la séparation et l'analyse des composés actifs, par chromatographie sur colonne et analyse par CLHP. Ce choix est basé essentiellement sur l'efficacité antioxydante de cette fraction dans cette partie de la plante, comparée aux autres fractions des autres parties. Après fractionnement par chromatographie sur colonne de gel de silice selon un gradient de solvants organiques, dix sous-fractions ont été obtenues.

Après évaluation de l'activité antioxydante de différentes sous- fractions, les trois les plus actives ont été sélectionnées pour une analyse par CLHP : SF1, SF7 et SF8.

Les trois sous-fractions ont été analysées sur chromatographie liquide à haute performance, phase réservée (CLHP-PR) au laboratoire des plantes extrêmophiles au centre de biotechnologie de Borj Cedria (Tunis). Un essai d'identification a été établi en comparant les temps de rétention des pics du chromatogramme avec ceux des témoins.

Pour la première fois dans cette étude, l'acide caffeique, l'acide férulique, l'acide ρ -coumarique, la lutéoline, la lutéoline 7-O glucoside, l'isoquercitrine, l'acide rosmarinique, l'hypéroside, l'oleuropeine, la rutine, la kaempférol, la kaempférol 3-O rutinoside, l'isorhamnétine, l'apigénine, la laricitrine et la polydatine ont été identifiées dans la sous-fraction 1 (SF1) de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de *G. decander*.

Dans les deux autres sous-fractions qui ont subi l'analyse CLHP-PR, nous avons confirmé la présence des molécules suivantes pour la première fois : L'acide ρ -coumarique, l'acide synapique, l'oleuropeine, la kaempférol 3 O rutinoside, l'apigénine et la polydatine dans la SF7, et uniquement l'acide synapique, l'apigénine et la polydatine dans la SF8.

Nos résultats ont montré ainsi la présence de plusieurs composés ayant des propriétés antioxydantes connues, et nous avons noté cinq acides hydroxycinnamiques (cafféique, ferulique, synapique, rosmarinique et ρ -coumarique). Il a été démontré dans de nombreuses études que les acides hydroxycinnamiques sont des composés phénoliques les plus puissants en présentant un effet antioxydant, anti-cancéreux (**Rocha et al., 2012**) et anti-inflammatoire (**Fresco et al., 2006**). En outre, douze flavonoïdes ont été identifiés. Il est bien connu que les flavonoïdes offrent une large gamme de propriétés pharmacologiques et biochimiques telles que les activités anti-inflammatoires et antioxydantes, et sont potentiellement utiles dans la prévention de l'athérosclérose, du cancer, du diabète et des maladies neurodégénératives (**Kang et al., 2010; Zainol et al., 2003**).

Le kaempferol 3-O-rutinoside et l'oleuropeine ont été détectés dans SF1 et SF7. La littérature a rapporté que le kaempferol 3-O-rutinoside peut être impliqué dans l'activité anti-inflammatoire de certaines plantes, en soutenant leur utilisation traditionnelle pour traiter diverses maladies inflammatoires et douloureuses (**Wang et al., 2014**).

Hassen et al. (2015) a confirmé que l'oleuropeine a des activités pharmacologiques principales telles que les effets anticancéreux, cardioprotecteurs, neuroprotecteurs, gastroprotecteurs, hépato-protecteurs, anti-diabétique, anti-obésité, antioxydants et anti-inflammatoires. L'apigénine et la polydatine ont été détectées dans SF1, SF7 et SF8. Des études antérieures ont montré que l'apigénine possède une activité antioxydante, anti-

inflammatoire et anticancéreuse (**Liu et al., 2015**). On a signalé que la polydatine, également connue sous le nom de piceide (resvératrol-3-O- β -mono-D-glucoside, POLY), présente divers effets bénéfiques tels que les propriétés anti-cancéreuses, antioxydantes, anti-inflammatoires et immunomodulatrices (**Shakibaei et al., 2009**).

Ces résultats peuvent suggérer que l'activité antioxydante des fractions flavoniques étudiées des deux plantes, est en relation avec la composition en polyphénols. Ceci est confirmé par les différentes analyses chromatographiques effectuées sur les fractions flavoniques choisies en raison de leur pouvoir antioxydant. Ces résultats peuvent ainsi être utiles pour montrer l'intérêt de continuer la recherche des molécules actives dans les extraits de ces plantes.

Conclusion et Perspectives

Etant donné la toxicité et/ou les effets secondaires indésirables des molécules de synthèse ainsi que le coût élevé de plusieurs produits pharmaceutiques, les plantes restent la source prédominante de médicaments pour la majorité de la population mondiale, en particulier dans les pays en voie de développement. L'usage de ces plantes est lié certainement, aux vertus thérapeutiques attribuées aux molécules bioactives synthétisées par la plante, non seulement comme des agents chimiques contre les maladies, mais aussi comme des agents médicaux tels que les antioxydants. Pour cela, la phytochimie et la phytothérapie font l'objet de plusieurs études aujourd'hui.

L'objectif principal assigné par cette étude a été dans le même contexte : l'étude de la phytochimie, l'évaluation du pouvoir antioxydant, et la recherche de quelques molécules actives par analyses chromatographiques de deux plantes médicinales : *Pistacia lentiscus* et *Gymnocarpos decander*.

L'analyse phytochimique des deux plantes a mis en évidence les principaux métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins, les anthocyanes et les saponosides.

Les résultats quantitatives des phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés ont montré que les parties les plus riches en ces composés sont les feuilles de *P. lentiscus* et les fleurs de *G. decander* avec des teneurs respectives de 216.289 ± 20.62 mg AGE/g MS, 19.162 ± 0.436 mg CE/g MS et 121.515 ± 9.171 mg CE/g MS pour les feuilles de *P. lentiscus*, et 156.097 ± 2.312 mg AGE/g MS, 14.878 ± 0.275 mg CE/g MS et 39.388 ± 1.599 mg CE/g MS pour les fleurs de *G. decander*.

Il ressort de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts et sélectifs de différentes parties des deux plantes, que la partie des feuilles de *P. lentiscus*, et la partie fleurie de *G. decander* ont généralement présenté la meilleure capacité antioxydante et le pouvoir le plus considérable à réduire le fer, à piéger le radical libre DPPH \cdot et à décolorer le β -carotène en présence de l'acide linoléique. L'extrait des tanins des racines de *P. lentiscus* ($CI_{50} = 0,061 \pm 0,001$ mg / ml) et celui des fleurs de *G. decander* ($CI_{50} = 0,083 \pm 0,004$) ont présenté le meilleur pouvoir à réduire le fer. Ces deux extraits marquent aussi l'activité la plus considérable à piéger le radical libre DPPH \cdot , avec des valeurs respectives CI_{50} de $0,061 \pm 0,000$ mg / ml, et $0,063 \pm 0,001$ mg / ml. Pour le test de blanchissement du B-carotène, l'activité la plus élevée a été enregistrée dans la fraction acétate d'éthyle des racines de *P.*

lentiscus ($0,052 \pm 0,006$ mg / ml) et l'extrait des saponosides des feuilles de *G. decander* ($CI_{50} = 0,082 \pm 0,013$).

La partie qui concerne une description de l'espèce *G. decander* dans la synthèse bibliographique, a montré que l'on ne disposait que de peu d'informations de nature chimique et/ou biologique sur cette espèce. Pour pallier ce manque d'informations, plusieurs analyses chromatographiques ont été réalisées sur quelques fractions actives, pour la première fois dans cette étude, afin d'identifier quelques composés phénoliques probablement responsables de l'activité antioxydante.

Les résultats de la CCM réalisée sur les fractions acétate d'éthyle et les fractions n-butanol pour les quatre parties de *G. decander*, ont révélé la présence de plusieurs taches qui peuvent correspondre à plusieurs classes de flavonoïdes.

Une analyse CLHP a été réalisée sur quelques fractions flavoniques les plus actives des deux plantes étudiées. Pour *P. lentiscus*, cette analyse a été effectuée sur les deux fractions acétate d'éthyle et n-butanol des feuilles. Cette analyse nous a permis la détection de l'acide gallique, l'acide p-coumarique, la catéchine, la quercétine, l'acide férulique, l'acide vanillique et la naringénine dans les deux fractions acétate d'éthyle et n-butanol.

Pour l'analyse CLHP de *G. decander*, trois fractions les plus actives ont été choisies : la fraction acétate d'éthyle et la fraction n-butanol des fleurs, et la fraction acétate d'éthyle des racines. Cette analyse a mis en évidence la présence de la quercétine et de la naringénine dans les deux fractions analysées des fleurs, de l'acide p-coumarique dans la fraction acétate d'éthyle et la fraction butanolique des fleurs, et de l'acide vanillique dans la fraction acétate d'éthyle des fleurs. Seulement, la naringénine a été trouvée dans la fraction acétate d'éthyle des racines.

Les résultats de l'analyse CLHP-PR des trois sous-fractions obtenues par chromatographie sur colonne de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de *G. decander*, nous ont amené, pour la première fois dans cette étude, à la mise en évidence de seize (16) composés phénoliques dans la SF1 (l'acide caffeique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique, la luteoline, la luteoline 7-O glucoside, l'isoquercitrine, l'acide rosmarinique, l'hypéroside, l'oleuropeine, la rutine, la kaempférol, la kaempférol 3-O rutinoside, l'isorhamnétine, l'apigénine, la laricitrine et la polydatine), six (6) composés dans la SF7 (L'acide p-coumarique, l'acide synapique, l'oleuropeine, la kaempférol 3 O rutinoside, l'apigénine et la

polydatine), et trois (3) composés phénoliques dans la SF8 (l'acide synapique, l'apigénine et la polydatine).

Les résultats de notre travail concernant *P. lentiscus*, peuvent être confirmés par plusieurs études qui ont été faites récemment. Toute la partie des analyses chromatographiques qui concerne *G. decander* est une des originalités de cette étude. Ce travail peut confirmer scientifiquement la pertinence des remèdes traditionnels, en donnant une importance à l'usage thérapeutique des plantes médicinales, mais, il ne reste qu'une première approche sur la contribution au domaine de la recherche des antioxydants naturels. Pour cela, quelques perspectives peuvent être envisagées :

- Poursuivre et améliorer cette étude par l'isolement des molécules contenues dans les sous-fractions actives de ces plantes pour les tester, in vivo, afin de trouver une application thérapeutique.
- Tester d'autres activités biologiques telles que l'activité anticancéreuse et anti-inflammatoire.

Références bibliographiques



Abdelwahed , A.I., Bouhlel, I., Skandrani, I., et al. Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1,2,3,4,6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus*. Confirmation by microarray expression profiling. *Chemico-Biological Interactions*, 2007, vol. 165, pp. 1-13.

Abouri, M., Mousadik, A., Msanda, F., Boubaker, H., Saadi, B., Cherifi, K. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in the Tata Province, Morocco. *International Journal of Medicinal Plant Research*, 2012, vol. 01, pp. 099- 123.

Adlercreutz, H., Mazur, W. Phyto-oestrogens and Western diseases. *Annales Medicales*, 1997, vol. 29, pp. 95-120.

Agatia, G., Azzarellob, E., Pollastrib, S., Tattinic, M. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Science*, 2012, vol. 196, pp. 67- 76.

Ak, B.E., Parlakcı, H. *Pistacia lentiscus* in the mediterranean region in turkey. *Acta Horti*, 2009, vol. 818, pp. 77-82.

Al-Halabi, R., Bou Chedid, M., Abou Merhi, R., El-Hajj, H., Zahr, H., Schneider-Stock, R., Bazarbachi, A. et Gali-Muhtasib, H. "Gallotannin inhibits NFκB signaling and growth of human colon cancer xenografts. *Cancer Biology and Therapy*, 2011, vol. 12, pp. 59-68.

Anton, R. Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinales, science et thérapeutique. 3^{ème} édition, Technique documentation, Paris, 1999, pp. 22- 30.

Applebaum, S.W., Marco, S., Birk, Y. Saponins as possible factors of resistance of legume seeds to the attack of insects. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1969, vol. 17, pp. 618–622.

Ara, N., Nur, H. In vitro antioxidant activity of methanolic leaves and flowers extracts of *Lippia alba*. *Research Journal of Medical Sciences*, 2009, vol. 4, pp. 107-110.

Arab, K., Bouchenak, O., Yahiaoui, K. Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 2014, vol. 6, pp. 79-93.

Arif, T., Bhosale, J.D., Kumar, N., Mandal, T. K., Bendre, R. S., Lavekar, S., Dabur, R. Natural products-antifungal agents derived from plants. *Journal of Asian Natural Product Research*, 2009, vol. 11, pp. 626 - 638.

Assimipoulou, A.N., Papageorgiou, V.P. GC-MS analysis of penta- and tetracyclic triterpenes from resins of *Pistacia* species. Part I. *Pistacia lentiscus* var. *Chia*. *Biomedical Chromatography*, 2005, vol. 19, pp. 285-311.

Atkinson, E., Hazleton, E. O. A Qualitative Tannin Test. *Biochemical Journal*, 1922, vol. 16, pp. 516-527.

Atmani, D., Chafer, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N. Antioxidant Capacity and Phenol Content of Selected Algerian Medicinal Plants. *Food Chemistry*, 2009, vol. 112, pp. 303-309

Atmani, D., Chaher, N., K, Ayouni., Berboucha, M. Antioxidant capacity of *Pistacia lentiscus* and *Fraxinus angustifolia* extracts and their fractions. *Planta Med*, 2011, vol. 77, pp. 1407-1407.

B

Balan, K.V., Demetzos, C., Prince, J., Dimas, K., Cladaras, M., Han, Z., Wyche, J. H., Pantazis, P. Induction of apoptosis in human colon cancer HCT116 cells treated with an extract of the plant product chios mastic gum. *In Vivo*, 2005, vol. 19, pp. 93-102.

Balan, K.V., Prince, J., Han, Z., Dimas, K., Cladaras, M., Wyche, G.H., Sitaras, N. M., Baratto, M. C., Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Romani, A., Visioli, F., Basosi, R., Pogni, R. Antioxidant activity of galloyl quinic derivatives isolated from *Pistacia lentiscus* leaves. *Free Radical Research*, 2007, vol. 37(4), pp. 405-412.

Bammou, M., Daoudi A, Slimani, I., Najem, M, Bouiamrine, E., Ibijbijen, J., Nassiri, L. Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences*, 2015, vol. 86, pp.7966- 7975.

Baudoux, D. L'aromathérapie: Se soigner par les Huiles Essentielles, édition Amyris, 2003, pp. 145-146.

Baytop, T. Therapy with plants in Turkey, past and present, 2^{ème} edition , Nobel Tip Kitapevi, Istanbul (in Turkish), 1999.

Beatty, E.R., J.D. O'Reilly, T.G. England, et al. Effect of dietary quercetin on oxidative DNA damage in healthy human subjects. *British Journal of Nutrition*, 2000, vol. 84, pp. 919-925.

Beghleh, D., El Bairi, K., Marmouzi, I., Haddar, L., Boukilli, M. Phytochemical, organoleptic and ferric reducing properties of essential oil and ethanolic extract from *Pistacia lentiscus* (L). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2016, vol. 6, pp. 305-310.

Bekkara, F., Jay, M., Viricel, M.R. Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of two *Vicia faba* differing in their seedtannin content, and study of their seed and root phenolic exudation. *Plant and Soil*, 1998, vol. 203, pp. 27-36.

Belanger, M., Dewailly, E., Berthiaume, L., Noel, M., Bergeron, J., Mirault, M. Dietary contaminants and oxidative stress in inuit of nunavik. *Metabolism*, 2006, vol. 55, pp. 989-995.

Benhammou, N., Atik Bekkara, F., Kadifkova, P. Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf. *Advances in Food Sciences*, 2007, vol. 29, pp. 155-161.

Benhammou, N., Atik Bekkara, F., Kadifkova Panovska, T. Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *Comptes Rendus Chimie*, 2009, vol. 12, pp. 1259- 1266.

Benyoussef, E. H., Charchari, S., Nacer-Bey, N., Yahiaoui, N., Chakou, A., and Bellatreche, M. The essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 2005, vol. 17, pp. 642-644.

Benzie, I.F.F., Strain J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochemistry*, 1996, vol. 239, pp. 70-76

Bhourri, W., Derbel, S., Skandrani, I et al. Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicology in Vitro*, 2010, vol. 24, pp. 509-515.

Bonnefont, R., Beaudeau, L., Delattre, J. Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier Edition. DOC Editions Médicales Internationales. Paris, 2003, pp. 147 - 167.

Bors, W., Heller, W., Michel, C., Saran, M. Flavonoids as antioxidants: determination of radical Scavenging efficiencies. *Methods in Enzymology*, 1990, vol. 186, pp. 343-355.

Bouaziz, M., Dhouib, A., Loukil, S., Boukhris, M., Sayadi, S. Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts of some wild plants collected from the south of Tunisia. *African Journal of Biotechnology*, 2009, vol. 8, pp. 7017-7027.

Boyle, S.P., Dobson, V.L., Duthie S.J., et al. Absorption and DNA protective effects of flavonoid glycosides from an onion meal. *European Journal of Nutrition*, 2000, vol. 39, pp. 213-223.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 1995, vol. 28, pp. 25-30.

Brickell, C. Encyclopédie universelle des 15000 plantes et fleurs de jardin. Edition française: Larousse-Bordas, 2004, pp.798-799.

Bruneton, J. Pharmacognosie, Phytochimie - Plantes médicinales- Techniques et documentations, 3ème Edition, Lavoisier, 1999, 1120 pages.

C

Caderni, G., Remy, S., Cheynier, V., Morozzi, G. et Dolara, P. Effect of complex polyphenols on colon carcinogenesis. *European Journal of Nutrition*, 1999, vol. 38, pp. 126-32.

Cao, G., Russell, R.M., Lischner, N et al. Serum antioxidant capacity is increased by consumption of strawberries, spinach, red wine or vitamin C in elderly women. *Journal of Nutrition*, 1998, vol. 128, pp. 2383-2390.

Carr, A., Zhu, B., Frei, B. Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). *Circulation Research*, 2000, vol. 7, pp. 349-354.

Cartea, M.E., Francisco, M., Lema, M., Soengas, P., Velasco, P. Resistance of cabbage (*Brassica oleracea capitata* Group) crops to *Mamestra brassicae*. *Journal of Economic Entomology*, 2010, vol. 103, pp. 1866-1874.

Castola, V., Bighelli, A., Casanova, J. Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2000, vol. 28, pp. 79-88.

Chen, K., Suh, J., Carr, A., Morrow, J., Zeind, J., Frei, B. Vitamin C suppresses oxidative lipid damage in vivo, even in the presence of iron overload. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 2000, vol. 279, pp. 1406-1412.

Clifford, M.N. Anthocyanins - nature, occurrence and dietary burden. *Journal of Science and Food Agriculture*, 2000A, vol. 80, pp. 1063-1072.

Clifford, M.N. Chlorogenic acids and other cinnamates : nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. Malden, MA, ETATS-UNIS. *Wiley*, 2000B, pp. 348.

Clifford, M.N., Scalbert, A. Ellagitannins - nature, occurrence and dietary burden. *Journal of Science and Food Agriculture*, 2000, vol. 80, pp. 1118-1125.

Collin, S. et Crouzet, J. Polyphénols et procédés. Tec & Doc éditions, 2011. France.

Cooke, M., Evans, M., Dizdaroglu, M., Lunec, J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB Journal*, 2003, vol. 17, pp. 1195-1214.

Cooke, D., Schwarz, M., Boocock, D., Winterhalter, P., Steward, W. P., Gescher, A. J., Marczylo, T.H. Effect of cyanidin-3-glucoside and an anthocyanin mixture from bilberry on adenoma development in the ApcMin mouse model of intestinal carcinogenesis relationship with tissue anthocyanin levels. *International Journal of Cancer*, 2006, vol. 119, pp. 2213-2220.

Correia, O.A., Catarino, F.M. Seasonal changes in soil-to-leaf resistance in *Cistus sp.* and *Pistacia lentiscus*. *Acta Oecologica*, 1994, vol. 15, pp. 289-300.

Cowan, M.M. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical and Microbiological Research*, 1999, vol. 12, pp. 564- 582.

Crozier, A., Jaganath I.B., Clifford, M.N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Rep*, 2009, vol. 26, pp. 1001-1043.

Curtin, F., Donovan, M., Cotter, T. Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *Journal of Immunological Methods*, 2002, vol. 265, pp. 49 - 72.

D

Dangles, O., Dufour, C., Manach, C., Rémésy, C. Binding of flavonoids to plasma proteins. *Methods in Enzymology*, 2003, vol. 335, pp. 319-333.

D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R et al. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annals 1st Super Sanita*, 2007, vol. 43, pp. 348-361.

Davies, M. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 2003, vol. 305, pp. 761-770.

Dawson, R., Elliott, D., Elliott, W., Jones, K. Dictionnaire de biochimiste. Moscou : Mir, 1991. In : N'gaman Kohué, C. C., Békro, Y.-A., Mamyrbékova-Békro, J. A., Bénéié, A.,

Références bibliographiques

- Gooré, B. S. Sur la Composition en Métabolites Secondaires et l'activité Anti-Oxydante D'extraits Bruts de *Gmelina Arborea* Roxb. (Verbanaceae) de Côte d'Ivoire, Afrique de l'Ouest : Analyse par Chromatographie en Couche Mince. *European Journal of Scientific Research*, 2009, vol. 36, pp. 161-171
- Debray, M., Jacquemin, H., Razafindrambo, R. Travaux et documents de l'Orstom. (Paris, N°8). 1971.
- 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*, 2004, vol. 40, pp. 24-27.
- Dibong, S.D., Mpondo Mpondo, E., Ngoye, A., Priso, R.J. Modalities of exploitation of medicinal plants in Douala region. *American Journal of Food and Nutrition*, 2011, vol. 1, pp. 67-73.
- Dimas, K. S., Hatziantoniou, J. H., Wyche., Pantazis. A mastic gum extract induces suppression of growth of human colorectal tumor xenografts in immunodeficient mice. *In Vivo*, 2009, vol. 23, pp. 63- 68.
- Din, N., Mpondo Mpondo, E., Dibong, S.D., Kwin N.F., Ngoye, A. Inventory and identification of plants used in the treatment of diabetes in Douala town 2092 (Cameroon). *European Journal of Medicinal Plants*, 2011, vol. 1, pp. 60-73.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgards, J.F., Stocker, P. Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, 2007, vol. 224, pp. 801-809.
- Dob, T., Dahmane, D., Chelghoum, C. Chemical Composition of the Essential Oils of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 2006, vol. 18, pp. 335-338.
- Doughari, J.H., Human, I.S., Bennade, S., Ndakidemi, P.A. Phytochemicals as chemotherapeutic agents and antioxidants: Possible solution to the control of antibiotic resistant verocytotoxin producing bacteria. *Journal of Medicinal Plant Research*, 2009, vol. 3, pp. 839- 848
- Douissa, F. B., Hayder, N., Chekir-Ghedira, L., et al. New study of the essential oil from leaves of *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) from Tunisia, *Flavour and Fragrance Journal*, 2005, vol. 20, pp. 410- 414.
- Dramane, S., Witabouna, K. M., Kagoyire, K. Evaluation of Antimicrobial and Free Radical Scavenging Activities of Some Bioactif Taxons from Côte D'ivoire. *European Journal of Scientific Research*, 2010, vol. 9, pp. 307-317.
- Duenas, M., Hernandez, T., Estrella, I., and Fernandez, D. Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). *Food chemistry*, 2009, vol. 117, pp. 599-607.
- Dupont, F., Guignard, J.L. Abrèges botanique systématique moléculaire. 14^{ème} édition révisée, Masson, 2007.

Duru, M. E., Cakir, A., Kordali, S., Zengin, H., Harmandar, M., Izumi, S., Hirata, T. Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species. *Fitoterapia*, 2003, vol. 74, pp. 170-176.

E

Earnsworth, N.R., Berderka, J.P., Moses, M. Screening of Medicinal plants. *Journal of Pharmaceutical Science*, 1974, vol. 63, pp. 457-459.

Eberhard, T., Robert, A., Annelise, L. Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc. Lavoisier. Paris France, 2005.

El Yahyaoui, O., Ait ouaaziz, N., Sammama¹, A., Kerrouri, S., Bouabid, B., Lrhorfi¹, L.A., Zidane, L., Bengueddour, R. Etude ethnobotanique: Plantes médicinales commercialisées à la province de Laâyoune; identification et utilisation. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 2015, vol .12, pp. 533-541.

Eng, E.T., Ye, J., Williams, D., Phung, S., Moore, R.E., Young, M.K., Gruntmanis, U., Braunstein, G., Chen, S. Suppression of estrogen biosynthesis by procyanidin dimers in red wine and grape seeds. *Cancer Research*, 2003, vol. 63, pp. 8516-22.

F

Favier, A. Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 2003, pp. 108-115.

Ferrer, P., Asensi, M., Segarra, R., Ortega, A., Benlloch, M., Obrador, E., Varea, M. T., Asensio, G., Jorda, L., Estrela, J. M. Association between pterostilbene and quercetin inhibits metastatic activity of B16 melanoma. *Neoplasia*, 2005, vol. 7, pp. 37-47.

Francis, S.T., K. Head, P.G. Morris, et al. The effect of flavanol-rich cocoa on the response to a cognitive task in healthy young people. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 2006, vol. 47, pp. 215-220.

Fresco, P., Borges, F., Diniz, C., Marques, M.P. New insights on the anticancer properties of dietary polyphenols. *Medicinal Research Reviews*, 2006, vol. 26, pp. 747-766.

G

Garcia-Lafuente, A., Guillamon, E ., Villares, A et al. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammatory Research*, 2009, vol. 58, pp. 537-552.

Gardeli, C., Papageorgiou, V., Mallouchos, A., Kibouris, T., Michael Komaitis. Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts, *Food Chemistry*, 2008, vol.107, pp. 1120- 1130.

Gardès-Albert, M., Jore, D. Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène. Radicaux libres et stress oxydant. Paris, Lavoisier, 2005, pp. 1-23.

Garnero, J. les huiles essentielles, leurs obtention, leurs composition, leur analyse et leur normalisation. Editions techniques-encyclopédie de la médecine naturelle. (Paris, France). *Phytothérapie, Aromathérapie*, 2000, pp. 2-20.

Gausсен, H., Leroy, J.F., Ozenda, P. Précis de Botanique. Les Végétaux Supérieurs, Ed. Masson, Paris, 1982, p. 579.

Gazengel, J.M., Orecchioni A.M. Le préparateur en pharmacie. 2ème édition. Ed. lavoisier, Paris, 2013.

Gedir, J.V., Sporns, P., Hudson, R.J. Extraction of condensed tannins from cervid feed and feces and quantification using a radial diffusion assay. *Journal of Chemistry and Ecology*, 2005, vol. 31, pp. 2761-2773.

Gervaise, Y. Analyse des antioxydants naturels dans les matières premières et les produits. Polyphénols. Paris, 2004, p. 33.

Ghiselli, A.F, Natella, A., Guidi, H et al. Beer increases plasma antioxidant capacity in humans. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 2000, vol. 11, pp. 76-80.

Ghiselli, A., Serafini, M., Maiani, G et al. A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Radical Biology and Medicine*, 1995, vol. 18, pp. 29-36.

Giftson Senapathy, J., Jayanthi, S., Viswanathan, P., Umadevi, P. et Nalini, N. Effect of gallic acid on xenobiotic metabolizing enzymes in 1,2-dimethyl hydrazine induced colon carcinogenesis in Wistar rats-a chemopreventive approach. *Food Chemistry and Toxicology*, 2011, vol. 49, pp. 887-92.

Giftson, J.S., Jayanthi, S., Nalini, N. Chemopreventive efficacy of gallic acid, an antioxidant and anticarcinogenic polyphenol, against 1,2-dimethyl hydrazine induced rat colon carcinogenesis. *Investigational New Drugs*, 2010, vol. 28, pp. 251-259.

Girotti - Chanu, C. Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine , flavone extraite de miirotea de bilis .thèse de Doctorat. Institut national des sciences appliquées de Lyon, 2006, pp. 136.

Gonzalez-Gallego, J., Garcia-Mediavilla, M.V., Sanchez-Campos, S et al. Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *British Journal of Nutrition*, 2010, vol. 104, pp. 15-27.

Gorin, S., Gottraux, G. Cancer et statut vitaminique: quelles relations ? *American Journal of Clinical Nutrition*, 2006, vol. 77, pp. 133 - 138.

Greк, C.L., Tew, K.D. Redox metabolism and malignancy. *Current Opinion in Pharmacology*, 2010, vol. 10, pp. 362-368.

Grosjean, N. L'Aromathérapie, Paris, édition Eyrolles, 2007, pp. 163.

Guignard, J. Biochimie végétale. Ed. Lavoisier, Paris, 1996, pp. 175-192.

Gurib-Fakim, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 2006, vol. 27, pp. 1-93.

H

Hadi, S.M., Ullah, M.F., Azmi, A.S. et al. Resveratrol mobilizes endogenous copper in human peripheral lymphocytes leading to oxidative DNA breakage: a putative mechanism for chemoprevention of cancer. *Pharmaceutical Research*, 2010, vol. 27, pp. 979-988.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J., Charlier, C., Chapelle, J. Oxidative stress. *Revue Medicale de Liège*, 2007, vol. 62, pp. 628-638.

Hamad, H., Ibrahim, H., Gonaid, M., Mojahidul, I. Comparative phytochemical and antimicrobial investigation of some plant growing in Al Jabal Al Akhdar. *Journal of natural product and plant resource*, 2011, vol. 3, pp. 90- 95.

Haslam, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Journal of Natural Products*, 1996, vol. 59, pp. 205- 215.

Hassen, I., Casabianca, H., Hosni, K. Biological activities of the natural antioxidant oleuropein: exceeding the expectation – a mini-review. *Journal of Functional Foods*, 2015, vol. 18, pp. 926-940.

Hayder, N., Ammar, R.B., Abdelwahed, A et al. Antibacterial and antimutagenic activity of extracts and essential oil from (Tunisian) *Pistacia lentiscus*. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 2005, vol. 87, pp. 567-573.

Heber, D. Multitargeted therapy of cancer by ellagitannins. *Cancer Letters*, 2008, vol. 269, pp. 262-8.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2004, vol. 1, pp. 3 - 6.

Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H., Venema, D.P. Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1992, vol. 40, pp. 1591-1598.

Holgreem, A. Redox regulation of genes and cell function. In: Critical review of oxidative stress and aging. Vol II. RG Cutler and H Rodriguez Eds. *World Scientific*, 2003, pp. 102 - 111.

I

Imtiyaz, S., Tariq, M., Ali, S.J., Chaudhary, S.S., Baig M.G. *Pistacia lentiscus* Linn: Gum with immense medicinal potential. *Spatula DD*, 2013, vol. 3, pp. 69-73.

Iserin, P. Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations, soins. 2nd edition, Dorling Kindersiey Limited, Londres, 2001.

J

Javidnia, K., Miri, R., Jamalian, A., Sarkarzadeh, H., Nasiri, A. Composition of the essential oil of *Gymnocarpos decander* Forsk from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 2008, vol. 20, pp. 477-478.

Jones, W. P., Chin, Y. W., Kinghorn, A. D. The role of pharmacognosy in modern medicine and pharmacy. *Current drug targets*, 2006, vol. 7, pp. 247- 264.

Julkunen-Titto, R. Phenolic constituents in the leaves of northern Willows methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1985, vol. 33, pp. 213-217.

K

Kang, J., Li, Z.M., Wu, T., Jensen, G.S., Schauss, A.G., Wu, X.L. Antioxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea Mart.*). *Food Chemistry*, 2010, vol. 122, pp. 610-617.

Kang, S.Y., Seeram, N.P., Nair, M.G., Bourquin, L.D. Tart cherry anthocyanins inhibit tumor development in Apc (Min) mice and reduce proliferation of human colon cancer cells. *Cancer Letters*, 2003, vol. 194, pp. 13-9.

Kawashty, S.A., Mosharrafa, S.A.M., El-Gibali, M., Saleh, N.A.M. The flavonoids of four *Pistacia* species in Egypt. *Biochemical Systematic and Ecology*, 2000, vol. 28, pp. 915-917.

Khalil, A. Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin E against atherosclerosis. *Canadian Journal of Physiologie and Pharmacologie*, 2002, vol. 80, pp. 662-669.

Khan, R.A., Khan, M.R, Sahreen, S., Ahmed, M. Evaluation of phenolic contents and antioxidant activity of various solvent extracts of *Sonchus asper* (L.) Hill. *Chemistry Central Journal*, 2012, vol. 6, pp. 3-12.

Khanbabaee, K., Van Reeb, K. Tannins: Classification and Definition. *Natural Products Reports*, 2001, vol. 18, pp. 641-649.

Kivçak, B., Akay, S. Quantitative determination of α -tocopherol in *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. chia, and *Pistacia terebinthus* by TLC-densitometry and colorimetry. *Fitoterapia*, 2005, vol. 76, pp. 62-66.

Kouassi Brou, G., Dogbo, O.D., N'Zué, B., Zohouri, P.G., Mamyrbékova-Békro, A., Békro, Y.A. Effet du glyphosate sur la biosynthèse des constituants phénoliques de *Manihot esculenta* Crantz. *Revue de génie industriel*, 2012, vol. 8, pp. 32-43

Koutsoudaki, C., Krsek, M., Rodger, A. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* var. chia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, vol. 53, pp. 7681-7685.

Krimat, S., Dob, T., Lamari, L., Boumeridja, S., Chelghoum, C., Metidji, H. Antioxidant and antimicrobial activities of selected medicinal plants from Algeria. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2014, vol. 2, pp. 478-483.

Kruidenier, L., Verspaget H.W. Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease - radicals or ridiculous? *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2002, vol. 16, pp. 1997-2015.

Kubola, J., Siriamornpun, S. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf stem and fruit fraction extracts in vitro, *Food Chemistry*, 2008, vol. 110, pp. 881-890.

Kumaran, S.P., Kutty, B.C., Chatterji, A., Subrayan, P.P., Mishra, K.P. Radioprotection against DNA damage by an extract of Indian green mussel, *Perna viridis* (L). *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 2007, vol. 26, pp. 263-272.

L

Ladd, P.G., Crosti, R., Pignatti, S. Vegetative and seedling regeneration after fire in planted Sardinian pinewood compared with that in other areas of Mediterranean-type climate. *Journal of Biogeography*, 2005, vol. 32, pp. 85-98.

Ladyguina, E. Y., Safronitch, L. N., Otriachenkova, V. E., Balandina, I. A., Grinkevitch, N. I. Analyse chimique des plantes médicinales. Edition Moskva, Vischaya Chkola, 1983.

Lampe, J.W. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1999, vol. 70, pp. 475-490.

Longo, L., Scardino, A., Vasapollo, G. Identification and quantification of anthocanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L. *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrina* L. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2007, vol. 8, pp. 360-364.

Lansky, E.P., Harrison, G., Froom, P., Jiang, W. G. Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel. *Investigated New Drugs*, 2005, vol. 23, pp. 121-2.

Larousse médicale. 3ème Ed Larousse, Boulogne, 2001.

Lau, F.C., Bielinski, D.F. and Joseph, J.A. Inhibitory effects of blueberry extract on the production of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-activated BV2 microglia. *Journal of Neuroscience Research*, 2007, vol. 85, pp. 1010-1017.

Leenen, R., Roodenburg, A.J., Tijburg, L.B., et al. A single dose of tea with or without milk increases plasma antioxidant activity in humans. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2000, vol. 54, pp. 87-92.

Levesque, E. Oligo-elements et stress oxydant. *Revue de presse Source : Favier lab Bioch Grenoble*, 2006, pp. 10 - 15.

Li, C., Oldham, C.D., May, S.W.N. N-Dimethyl-1,4-phenylenediamine as an alternative reductant for peptidylglycine. Alpha-amidating mono-oxygenase catalysis. *Biochemical Journal*, 1994, vol. 300, pp. 31-36.

Liu, L., Sun, Y., Laura, T., Liang, X., Ye, H., Zeng, X. Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of Kudingcha made from *Ilex Kudingcha* C.J. Tseng. *Food chemistry*, 2009, vol. 112, pp. 35-40.

Liu, R., Zhang, H., Yuan, M., Zhou, J., Tu, Q., Liu, J., Wang, J. Synthesis and Biological Evaluation of Apigenin Derivatives as Antibacterial and Antiproliferative Agents. *Molecules*, 2013, vol. 18, pp. 11496-11511.

Lizarraga, D., Vinardell, M. P., Noe, V., van Delft, J. H., Alcarraz-Vizan, G., van Breda, S. G., Staal, Y., Gunther, U. L., Reed, M. A., Ciudad, C. J., Torres, J. L., Cascante, M. A lyophilized red grape pomace containing proanthocyanidin-rich dietary fiber induces genetic and metabolic alterations in colon mucosa of female C57BL/6J mice. *Journal of Nutrition*, 2011, vol. 141, pp. 1597-604.

Loizou, S., Paraschos, S., Mitakou, S., Chrousos, G.P., Lekakis, I., Moutsatsou, P. Chios mastic gum extract and isolated phytosterol tirucallolexhibit anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells. *Experimental Biology and Medicine*, 2009, vol. 234, pp. 553-561.

Loutrari, H., Magkouta, S., Pyriochou, A et al. Mastic oil from *Pistacia lentiscus* var. *chia* inhibits growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis. *Nutrition and Cancer*, 2006, vol. 55, pp. 86-93.

M

Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse : Lausanne ; Presses polytechniques et universitaires Romandes, 2005, pp. 4-5.

Macheix, J.J., Fleuriet, A., Sarni-Manchado, P. Composés phénoliques dans la plante-Structure, biosynthèse, répartition et rôles. Les polyphénols en agroalimentaire. Paris, Lavoisier, 2006, pp. 1-28.

Magkouta, S., Stathopoulos, G.T., Psallidas, I et al. Protective effects of mastic oil from *Pistacia lentiscus* var. *chia* against experimental growth of lewis lung carcinoma, *Nutrition and Cancer*, 2009, vol. 61, pp. 640-648.

Mamoucha, S., Tsafantakis, N., Ioannidis, T., Chatzipanagiotou, S., Nikolaou, C., Skaltsounis, N., Fokialakis Christodoulakis, N. Phytochemical Investigation, Leaf Structure and Antimicrobial Screening of *Pistacia lentiscus* against Multi-Drug Resistant Bacteria. *International Journal of Environmental and Ecological Engineering*, 2016, Vol. 3.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, F., et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, vol. 79, pp. 727-747.

Markham, K.R. Techniques of flavonoid identification: Biological techniques series. ed., Treherne J. E. et Rubery P. H. Academic Press, 1982.

Marnett, L. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, 2000, vol. 21, pp. 361-370.

Mascarello, C., Fascella, G., Zizzo, G.V, Mantovani, E., Ruffoni, B. In vivo and in vitro Propagation of *Pistacia lentiscus* L. *Acta Horti*, 2007, vol. 764, pp. 354-361

Mazza, G., and Miniati, E. Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains. *Boca Raton CRC press*, 1993, pp. 362.

Mecherara-Idjeri, S., Hassani, A., Castola, V and Casanova, J. Composition and chemical variability of the essential oil from *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Algeria Part 1: Leaf oil. *Journal of Essential Oil Research*, 2008, vol. 20, pp. 32-38.

- Medart, J. Manuel pratique de nutrition. L'alimentation préventive et curative. Edition de Boeck Université, 2005, pp 43- 82.
- Menaa, F., Menna, A., Tréton, J. Polyphenols against skin aging in polyphenols in human health and disease. *pharmaceutica analytica acta*, 2014, vol. 1, pp. 819-830.
- Mennen, L.I., Sapinho, D., de Bree, A., et al. Consumption of foods rich in flavonoids is related to a decreased cardiovascular risk in apparently healthy French women. *Journal of Nutrition*, 2004, vol. 134, pp. 923-926.
- Mezni, L.F., Maaroufi, A., Msellem, M., Boussaid, M., Khouja, M.L., Khaldi, A. Fatty acid composition, antioxidant and antibacterial activities of *Pistacia Lentiscus* L. fruit oils. *Journal of Medicinal plants Research*, 2012, vol. 6, pp. 5266-5271.
- Michel, J., Jourdes, M., Silva, M. A., Giordanengo, T., Mourey, N., Teissedre, P.L. Impact of concentration of ellagitannins in oak wood on their levels and organoleptic influence in red wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2011, vol. 59, pp. 5677-5683.
- Monteil, C., Mulder, P., Thuillez, C. Stress oxydant et insuffisance cardiaque : une cible thérapeutique utopique. *Revue de la Médecine thérapeutique et Cardiologie*, 2004, vol. 2, pp. 78-85.
- Moon, J.K., Shinamoto, T. Antioxidant assays for plant and food components, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2009, vol. 57, pp. 1655-1666.
- More, D., White, J. Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde, Flammarion, 2005, pp. 797.
- Moumen, R., Nouvelot, A., Duval, D., Lechevalier, B., Viader, F. Plasma superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurological Sciences*, 1997, vol. 151, pp. 35-39.
- Moure, A., Franco, D., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M. J., Lema, J. M. Evaluation of extracts from *Gevuina avellana* hulls as antioxidants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2000, vol. 48, pp. 3890-3897.
- Mpondo, E., Dibong, S.D. Traditional knowledge on medicinal plants use by ethnic communities in Douala, Cameroon. *European Journal of Medicinal Plants*, 2012, vol. 2, pp. 159-176.
- Mukamal, K.J., Maclure, M., Muller, J.E et al. Tea consumption and mortality after acute myocardial infarction. *Circulation*, 2002, vol. 105, pp. 2476-2481.

N

- Nagavani, V., Rao, T.R. Evaluation of antioxidant potential and qualitative analysis of major polyphenols by RP-HPLC in *Nymphaea nouchali* Burm flowers. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2010, vol. 4, pp. 98-104.
- Nakagawa, K., Ninomiya, M., Okubo, T et al. Tea catechin supplementation increases antioxidant capacity and prevents phospholipid hydroperoxidation in plasma of humans. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1999, vol. 47, pp. 3967-3973.

Neill, S., Dessikan, R., Hancock, J. Hydrogen peroxide signalling. *Current Opinion in Plant Biology*, 2002, vol. 5, pp. 388-365.

O

Onay, C.E., Jeffree, K. Somatic embryogenesis in woody plants (Forestry Sciences). *Kluwer Academic Publisher*, 2000, vol. 6, pp. 361-390.

Organisation Mondiale de la Santé. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. Catalogue à la source: Bibliothèque de l'OMS, 2014.

Osamuyimen, O. I., Isoken, H. I., Vincent, N. C., Olohirere, E. U., Sunday, O. O., Emmanuel, E. O., Anthony, I. O., Etinosa, O. I. Polyphenolic contents and antioxidant potential of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *International Journal of Molecular Science*, 2011, vol. 12, pp. 2958-2971.

Osbourn, A.E et Lanzotti, V. Plant-derived Natural Products; Synthesis, Function, and Application. London New York : Springer ; 2009.

Owuor, E., Kong, A. Antioxidants and oxidants regulated signal transduction pathways. *Biochemistry and Pharmacology*, 2002, vol. 64, pp. 765 - 770.

Oyaizu, M. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese journal of Nutrition*, 1986, vol. 44, pp. 307-315.

Oxelman, B., Ahlgren, B., Thulin, M. Circumscription and phylogenetic relationships of *Gymnocarpos* (Caryophyllaceae–Paronychioideae). *Edinburgh Journal of Botany*, 2002, vol. 59, pp. 221-237.

Ozenda, P. Flore et végétation du Sahara. 3^{ème} édition, CNRS Editions, Paris, 2004.

P

Pandey, K.B et Rizvi, S.I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2009, vol. 2, pp. 270 - 278.

Pantazis, P. Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var. *Chia*. *Phytomedicine*, 2007, vol. 14, pp. 163-172.

Paraschos, S., Mitakou, S., Skaltsounis, A.L. Chios gum mastic: A review of its biological activities. *Current Medicinal Chemistry*. 2012, vol. 19, pp. 2292-2302.

Paris, R., Moyse, H. Précis de matière médicale (Tome 3). Paris: Masson et Cie, 1969.

Paris, M., Hurabielle, M. Abrégé de Matière Médicale (Pharmacognosie). Tome 1. Masson, Paris 1981, pp 1-3, 5-10.

Peters, U., Poole, C and Arab, L. Does tea affect cardiovascular disease? A meta-analysis. *American Journal of Epidemiology*, 2001, vol. 154, pp. 495- 503.

Petersen, F., et Amstutz, R, éditeurs. Natural Compounds as Drugs, 2008, vol. 1; Progress in Drug Research. Vol. 65. Suisse : Birkhäuser.

Petrusson, L., and Thulin. M. Taxonomy and biogeography of *Gymnocarpos* (*Caryophyllaceae*). *Edinburgh Journal of Botany*, 1996, vol. 53, pp. 1-26.

Pincemail, J. Comment évaluer votre état de stress oxydant? *Journal de Santé*, 2004, pp. 2-4.

Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 1999, vol. 269, pp. 337- 341.

Q

Quezel, P., Santa, S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. C.N.R.S. Paris, 1963.

R

Ramalho, V.C et Jorge, N. Antioxidants used in oils, fats and fatty foods. *Quimica Nova*, 2006, vol. 29, pp. 755-760.

Reichheld, J., Meyer, E., Khafif, M., Bonnard, G., Meyer, Y. AtNTRB is the major mitochondrial thioredoxin reductase in Arabidopsisthaliana. *FEBS Letters*, 2005, vol. 579, pp. 337-342.

Rendeiro, C., Spencer, J.P., Vauzour, D., et al. The impact of flavonoids on spatial memory in rodents: from behaviour to underlying hippocampal mechanisms. *Genes Nutrition*, 2009.

Rezaie, A., Parker, R and Abdollahi, M. Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause? *Digestive Diseases and Sciences*, 2007, vol. 52, pp. 2015-2021.

Rice-Evans, C., and Miller, N.J Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods Enzymology*, 1994, vol. 234, pp. 279-293

Rissanen, T., Voutilinen, S., Nyssonem, K., Salonen, R, Kaplan, G., Salonen, T. Serum lycopene concentrations and carotid atherosclerosis: the Cupio Ischaemic Heart Disease Risk factor Study. *American Journal of clinical Nutrition*, 2003, vol. 77, pp. 133- 138.

Rizk, A.M. Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterapia*, 1982, Vol. 52, pp 35-42.

Robertson, R. Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet B cells in diabetes. *Journal of Biological chemistry*, 2004, vol. 279, pp. 42361- 43254.

Rocha, L. D., Costa Monteiro, M., Teodoro, A. J. Anticancer Properties of Hydroxycinnamic Acids: A Review. *Cancer and Clinical Oncology*, 2012, vol. 1, pp. 109-121.

Rodriguez-Perez, C., Quirantes-Piné, R., Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Segura Carretero, A., Fernández-Gutierrez, A. A metabolite-profiling approach allows the

identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013, vol. 77, pp. 167-174.

Rosales-Castro, M., Ruben, F., Laredo G, Young-Soo, B., J, Kim, Morre, J. Characterization and Antioxidant Properties of the Condensed Tannins from Alaska Cedar Inner Bark. *Records of Natural Products journal*, 2014, vol. 8, pp. 217-227.

Russo, R., Autore, G., Severino, L. Pharmaco-toxicological aspects of herbal drugs used in domestic animals. *Natural Products Communication*, 2009, vol. 4, pp. 1777-1784.

S

Sakagami, H.K., Kishino, M., Kobayashi A., et al. Selective antibacterial and apoptosis-modulating activities of mastic, *In Vivo*, 2009, vol. 23, pp. 215–224.

Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-Calixto, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of Sciences Food and Agriculture*, 1998, vol. 76, pp. 270-276.

Santangelo, C., Vari, R., Scazzocchio, B et al. Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Annal Ist Super Sanita*, 2007, vol. 43, pp. 394-405.

Sarni-Manchado, P., Cheynier, V. *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 2006, pp. 398.

Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., et al. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Revue in Food Science and Nutrition*, 2005, vol. 45, pp. 287-306.

Shakibaei, M., Harikumar, K.B., Aggarwal., B.B. Resveratrol addiction: to die or not to die. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2009, vol. 53, pp. 115-128.

Sharma, B.C. In vitro antibacterial activity of certain folk medicinal plants from Darjeeling Himalayas used to treat microbial infections. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2013, vol. 4, pp. 1-4.

Schauenberg, P., Paris, F. Guides des plantes médicinales analyse, description et utilisation de 400 plantes. Edition de lachaux et niestlé, Paris, 2006, pp. 33-34.

Serafini, M., Ghiselli, A., and Ferro-Luzzi, A. In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. *Europeen Journal of Clinical Nutrition*, 1996, vol. 50, pp. 28-32.

Singleton, V.L., Rossi, J.A.Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1965, vol. 16, pp. 144-158.

Souchard, J., Arnal, J., Rochette, L. Les radicaux libres et le stress oxydatif radicalaire. *Techniques en biologie*, 2002, vol. 23, pp. 245 - 257.

Spencer, J.P. The impact of fruit flavonoids on memory and cognition. *British Journal of Nutrition*, 2010, vol. 104, pp. 40-47.

Stevenson, D.E. and Hurst, R.D. Polyphenolic phytochemicals-just antioxidants or much more? *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2007, vol. 64, pp. 2900-2916.

Subhasree, B., Baskar, R., Laxmi Keerthana, R., Lijina, R., and Rajasekaran, P. Evaluation of antioxidant potential in selected green leafy vegetables. *Food chemistry*, 2009, vol. 115, pp. 1213-1220.

Subramanian, S., Stacey, G. and Yu, O. Distinct, crucial roles of flavonoids during legume nodulation. *Trends of Plant Science*, 2007, vol. 12, pp. 282-285.

T

Tarhouni, M., Ben Salem, F., Ouled Belgacem, A., Neffati, M. Acceptability of plant species along grazing gradients around watering points in Tunisian arid zone. *Flora*, 2010, vol. 205, pp. 454-461.

Takagi, A., Sai, K., Umemura, T., et al. Inhibitory effects of vitamin E and ellagic acid on 8-hydroxydeoxyguanosine formation in liver nuclear DNA of rats treated with 2-nitropropane. *Cancer Letters*, 1995, vol. 9, pp. 139-144.

Tanner, G.J., Moate, P.J., Davis, L.H., Laby, R.H., Yuguang, L., Larkin, P.J. Proanthocyanidins (condensed tannins) destabilise plant protein foams in a dose-dependent manner. *Australian journal of Agricultural Research*, 1995, vol. 46, pp. 1101-1109.

Thérond, P., and Blache, D. Cibles lipidiques des radicaux libres dérivés de l'oxygène et de l'azote - Effets biologiques des produits d'oxydation du cholestérol et des phospholipides. Radicaux libres et stress oxydant. Paris, Lavoisier, 2005, pp. 113-146.

Thomasset, S., Teller, N., Cai, H., Marko, D., Berry, D. P., Steward, W. P. et Gescher, A. J. Do anthocyanins and anthocyanidins, cancer chemopreventive pigments in the diet, merit development as potential drugs? *Cancer Chemother Pharmacol*, 2009, vol. 64, pp. 201-211.

Thompson, L.U., Robb, P. Serraino, M., et al. Mammalian lignan production from various foods. *Nutrition and Cancer*, 1991, vol. 16, pp. 43-52.

Tomas-Barberan, F.A., and Clifford, M.N. Dietary hydroxybenzoic acid derivatives: nature, occurrence and dietary burden. *Journal of Science Food and Agriculture*, 2000, vol. 80, pp. 1024-1032.

Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarikurkcu, C., Ozturk, M., Ulubelen, A. A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 2007, vol. 103, pp. 816-822.

Trease, E., Evans, W.C. Pharmacognosy, 13th edition, Balliere Tindall, London, 1987: pp. 61- 62.

Triantafyllou, A., Chaviaras, N., Sergentanis T.N., Protopapa, E., Tsaknis, J. Chios mastic gum modulates serum biochemical parameters in a human population. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, vol. 111, pp. 43-49.

U

Urquiaga I. N. E.S. et Leighton F. E. D. E. Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biological Research*, 2000, vol. 33, pp. 55-64.

V

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J. et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemical Biological Interaction*, 2006, vol. 160, pp. 1-40.

Vaya, J., and Mahmood, S. Flavonoid content in leaf extracts of the fig *Ficus carica* L., carob, *Ceratonia siliqua* L., and pistachio *Pistacia lentiscus* L. *Biofactors*, 2006, vol. 28, pp. 169-175.

Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L. et al. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1998, vol. 46, pp. 4113-4117.

Ventura, R., Lombes, A. Mitochondrie et pathologies. Médecine-Sciences Flammarion Edition, 2002, Chapitre 26, pp. 290.

Vermerris, W. Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8 (HB), 2006.

W

Wang, Y., Chen, P., Tang, C., Wang, Y., Li, Y., Zhang, H. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of extract and two isolated flavonoids of *Carthamus tinctorius* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, vol. 151, pp. 944-950.

Watson, R.R., V.R., Preedy, Zibadi. S. Polyphenols in human health and disease. *Academic Press is an imprint of Elsevier*, 2014, vol.1, pp.201.

Wei, T., Sun, H., Zhao, X., Hou, J., Hou, A., Zhao, Q., et al. Scavenging of reactive oxygen species and prevention of oxidative neuronal cell damage by a novel gallotannin, *pistafolia* A. *Life Sciences*, 2002, vol. 70, pp. 1889-1899.

Winston, G.W., Regoli, F., Dugas, A. J., Fong, J. H., Blanchard, K. A. A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. *Free Radical Biology and Medicine*, 1998, vol. 24, pp. 480-490.

Wolters, M., Hermann, S, Golf, S., Katz, N., Hahn, A. Selenium and antioxidant vitamin status of elderly German women. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2005, vol. 24, pp. 5-12.

Y

Young, J.F., Nielsen, S.E., Haraldsdottir, J et al. Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1999, vol. 69, pp. 87-94.

Z

Zainol, M.K., Abd-Hamid, A., Yusof, S., Muse, R. Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica* (L.) urban. *Food Chemistry*, 2003, vol. 81, pp. 575-581.

Zargham, H., Zargham, R. Tannin extracted from Sumac inhibits vascular smooth muscle cell migration. *Mcgill Journal of Medecine*, 2008, vol. 11, pp. 119-123.

Zhang, S.Y., Zheng, C.G., Yan, X.Y., Tian, W.X. Low concentration of condensed tannins from catechu significantly inhibits fatty acid synthase and growth of MCF-7 cells. *Biochemical and Biophysical Communications*, 2008, vol. 371, pp. 654-658.

Zhao, X., Sun, H., Hou, A., Zhao, Q., Wei, T., Xin, W. Antioxidant properties of two gallotannins isolated from the leaves of *Pistacia*. *Biochemical and Biophysical Acta*, 2005, vol. 725, pp. 103-110.

Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 1999, vol. 64, pp. 555-559.

Zitouni, A., Belyagoubi Benhammou, N., Ghembaza, N., Toul, F and 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*, 2016, vol. 8, pp. 627-633.

Annexes

Annexe 1. Réactifs de caractérisation

1. Amidon

Le réactif spécifique pour la mise en évidence d'amidon a été préparé en suivant ces étapes :

- Dissoudre 1.2 g d'iode (I_2) dans 50 ml d'eau distillée contenant 2.5 g d'iodure de potassium (KI);
- Chauffer pendant 5 minutes;
- Diluer jusqu'à 500 ml.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-violacée.

2. Alcaloïdes

2.1. Réactif de Mayer

La préparation de ce réactif s'effectue comme suit:

- Dissoudre 1.358 g de $HgCl_2$ dans 60 ml d'eau distillée ;
- Dissoudre 5 g de KI dans 10 ml d'eau distillée ;
- Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100 ml d'eau distillée.

L'apparition d'un précipité blanc révèle la présence des alcaloïdes.

2.2. Réactif de Wagner

Ce réactif a été préparé comme suit:

- Dissoudre 2 g de KI et 1.27 de I_2 dans 75 ml d'eau;
- Ajuster le volume total à 100 ml d'eau.

Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité brun.

Annexe 2. Valeurs des teneurs en phénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés et flavonols.

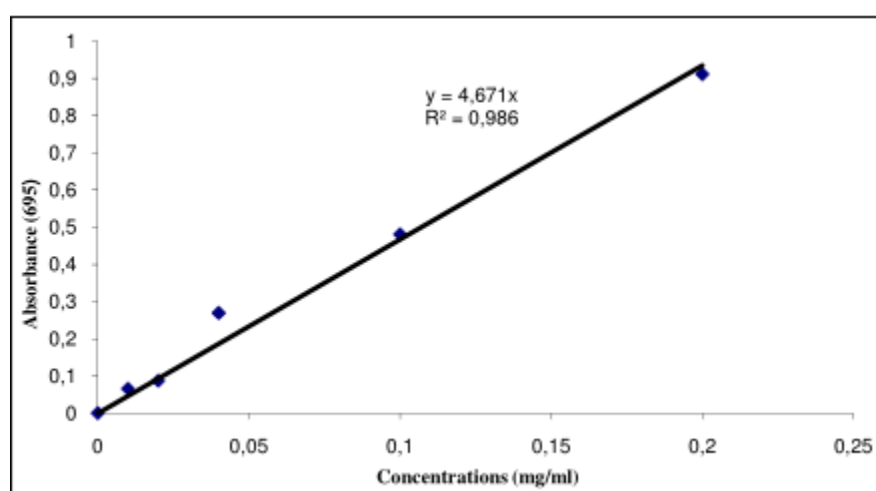
Tableau 1. Teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés dans les différentes parties de *P. lentiscus*

Parties étudiées	Phénols totaux (mg AGE/g MS)	Tanins condensés (mg CE/g MS)	Flavonoïdes (mg CE/g MS)
Feuilles	216.289 ± 20.62	121.515 ± 9.171	19.162 ± 0.436
Tiges	121.399 ± 3.354	80.215 ± 3.113	16.788 ± 0.733
Fruits	103.342 ± 2.317	7.893 ± 0.481	4.696 ± 0.329
Racines	30.188 ± 1.291	7.166 ± 0.818	4.287 ± 0.106

Tableau 2. Teneurs en phénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés et flavonols dans les différentes parties de *G. decander*.

Parties étudiées	Phénols totaux (mg AGE/g MS)	Flavonoïdes (mg CE/g MS)	Tanins condensés (mg CE/g MS)	Flavonols (mg QE/g DM)
Feuilles	9.734 ± 0.181	2.499 ± 0.032	7.602 ± 0.179	1.463 ± 0.085
Tiges	7.504 ± 0.347	1.919 ± 0.008	5.961 ± 0.372	0.614 ± 0.053
Fleurs	156.097 ± 2.312	14.878 ± 0.275	39.388 ± 1.599	6.506 ± 1.021
Racines	6.868 ± 0.338	1.692 ± 0.041	4.712 ± 0.686	0.373 ± 0.015

Annexe 3 :



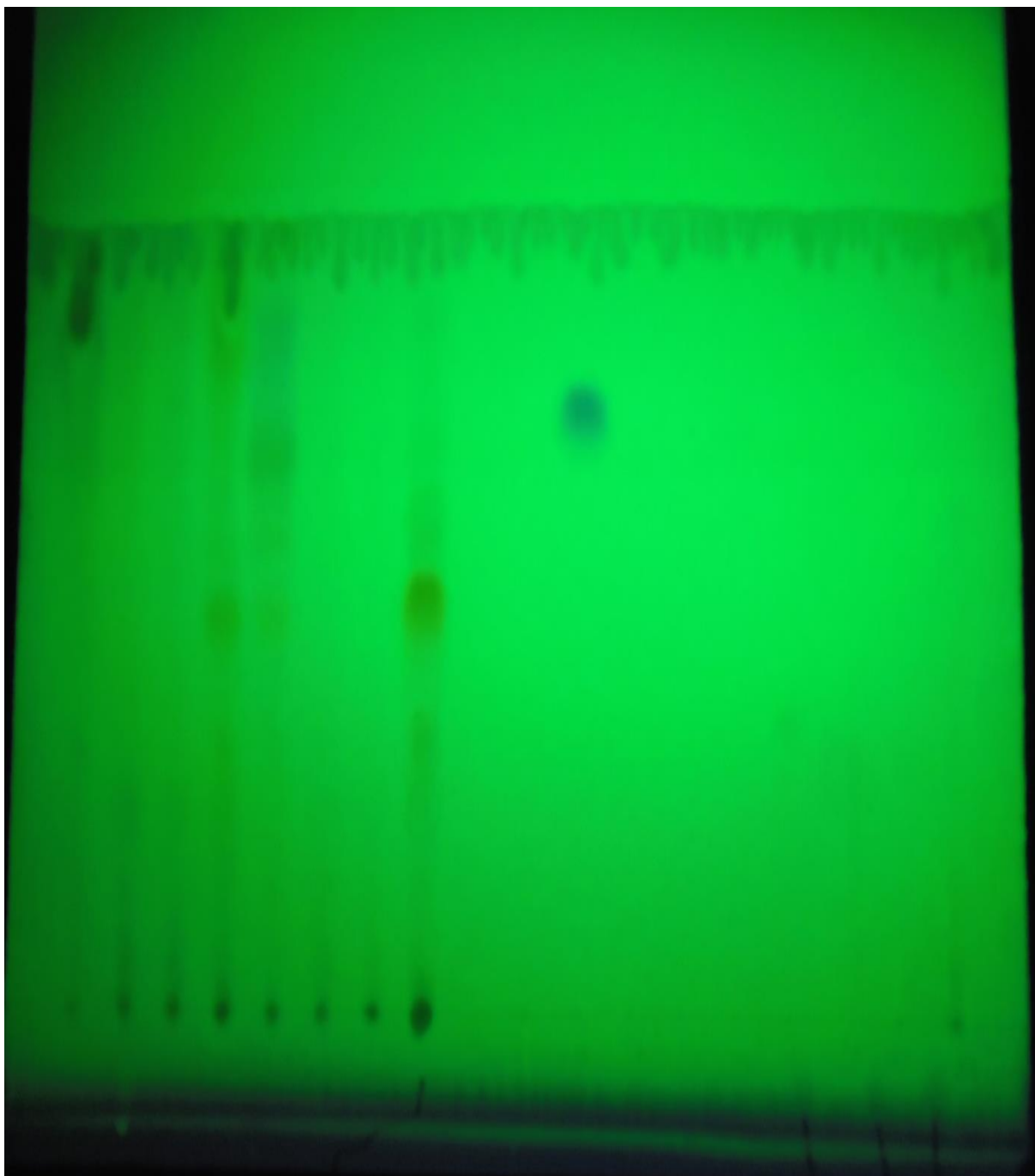
Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour l'expression de la CAT.

Annexe 4. Valeurs des densités optiques du test FRAP pour les extraits de *P. lentiscus*.

Extraits	Concentrations	Moyennes des densités optiques (DO)			
		Feuilles	Tiges	Fruits	Racines
Extrait brut	0.05	0.1300	0.1531	0.0663	0.1395
	0.1	0.3237	0.2983	0.1091	0.2222
	0.2	0.6736	0.5817	0.1932	0.4252
	0.3	0.7082	0.7330	0.2815	0.6424
	0.4	0.9285	0.9454	0.3281	0.8086
Fraction acétate d'éthyle	0.05	0.1204	0.0282	0.1844	0.1491
	0.1	0.2529	0.1052	0.3828	0.2628
	0.2	0.5365	0.2384	0.783	0.4737
	0.3	0.8070	0.3555	1.0557	0.6903
	0.4	1.0890	0.4736	1.3495	0.8870
Fraction N-butanol	0.05	0.1755	0.1849	0.0102	0.2659
	0.1	0.3269	0.2501	0.0582	0.4883
	0.2	0.5985	0.5097	0.1022	0.9137
	0.3	0.9368	0.7504	0.2023	1.4018
	0.4	1.1495	0.9980	0.716	1.7699
Tanins	0.05	0.3819	0.2012	0.0666	0.4243
	0.1	0.5770	0.3535	0.3907	0.7808
	0.2	1.0606	0.6498	0.8978	1.1558
	0.3	1.5385	0.9654	1.1868	2.0884
	0.4	1.8562	1.2673	1.7057	2.1562
Anthocyanes	0.05	0.3639	0.3286	0.2175	0.1672
	0.1	0.5392	0.4314	0.4249	0.284
	0.2	0.9097	0.7228	0.7987	0.5071
	0.3	1.2729	0.9661	1.1450	0.7735
	0.4	1.6601	1.1964	1.63	0.9925

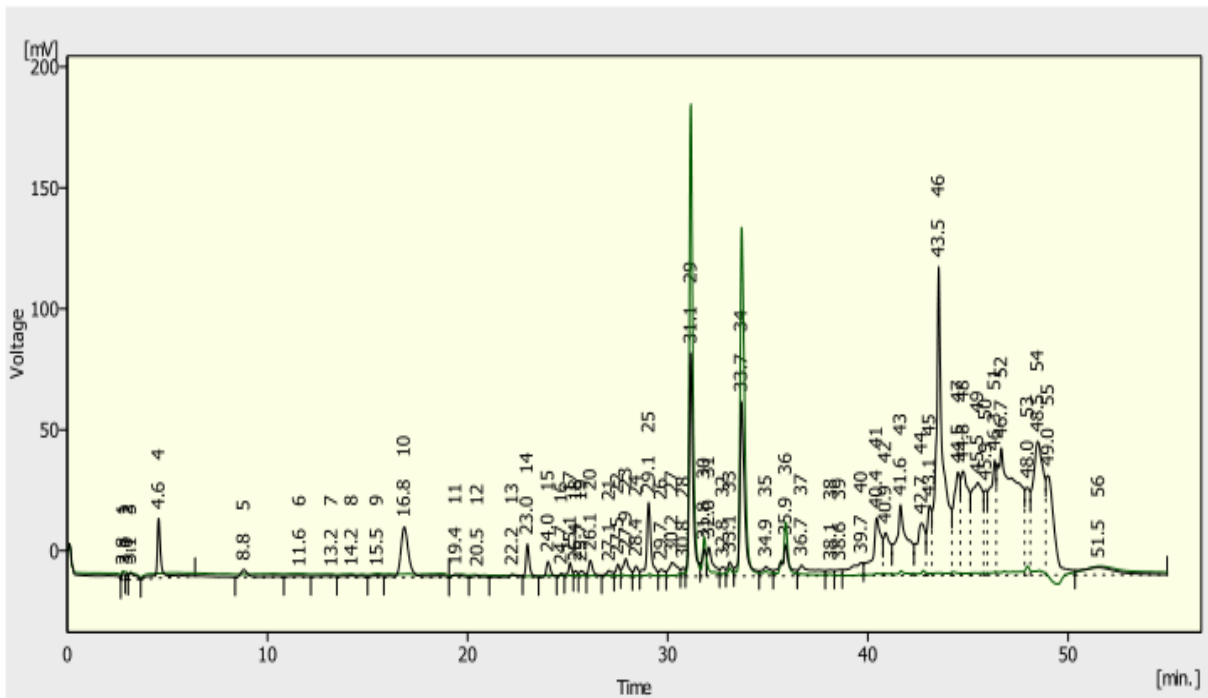
Annexe 5. Valeurs des densités optiques du test FRAP pour les extraits de *G. decander*.

Extraits	Concentrations	Moyennes des densités optiques (DO)			
		Feuilles	Tiges	Fleurs	Racines
Extrait brut	0.05	0.2084	0.3556	0.337	0.1265
	0.1	0.2901	0.3635	0.4838	0.1600
	0.2	0.3404	0.4165	0.8840	0.1932
	0.3	0.3957	0.541	1.1223	0.2331
	0.4	0.4355	0.6442	1.5738	0.2660
Fraction acétate d'éthyle	0.05	0.1063	0.2672	0.1399	0.1626
	0.1	0.2211	0.4952	0.2399	0.3432
	0.2	0.3284	0.7139	0.4179	0.4951
	0.3	0.4164	0.9084	0.6428	0.6208
	0.4	0.5115	1.1093	0.8391	0.8392
Fraction N-butanol	0.05	0.1340	0.1637	0.2423	0.4506
	0.1	0.2679	0.3688	0.3615	0.8216
	0.2	0.3858	0.5915	0.6573	1.2636
	0.3	0.4752	0.7969	0.9743	1.3756
	0.4	0.5618	0.9611	1.2787	1.6505
Tanins	0.05	0.1039	0.1979	0.0773	0.1802
	0.1	0.2711	0.287	0.1829	0.2516
	0.2	0.3499	0.3549	0.3029	0.3646
	0.3	0.4537	0.439	0.6110	0.4087
	0.4	0.5145	0.5009	1.1643	0.4918
Saponosides	0.05	0.0815	0.0708	0.1725	0.1624
	0.1	0.1621	0.1431	0.3197	0.2885
	0.2	0.2433	0.2170	0.5952	0.4724
	0.3	0.3378	0.3256	0.8414	0.6052
	0.4	0.4629	0.4399	1.1909	0.7426

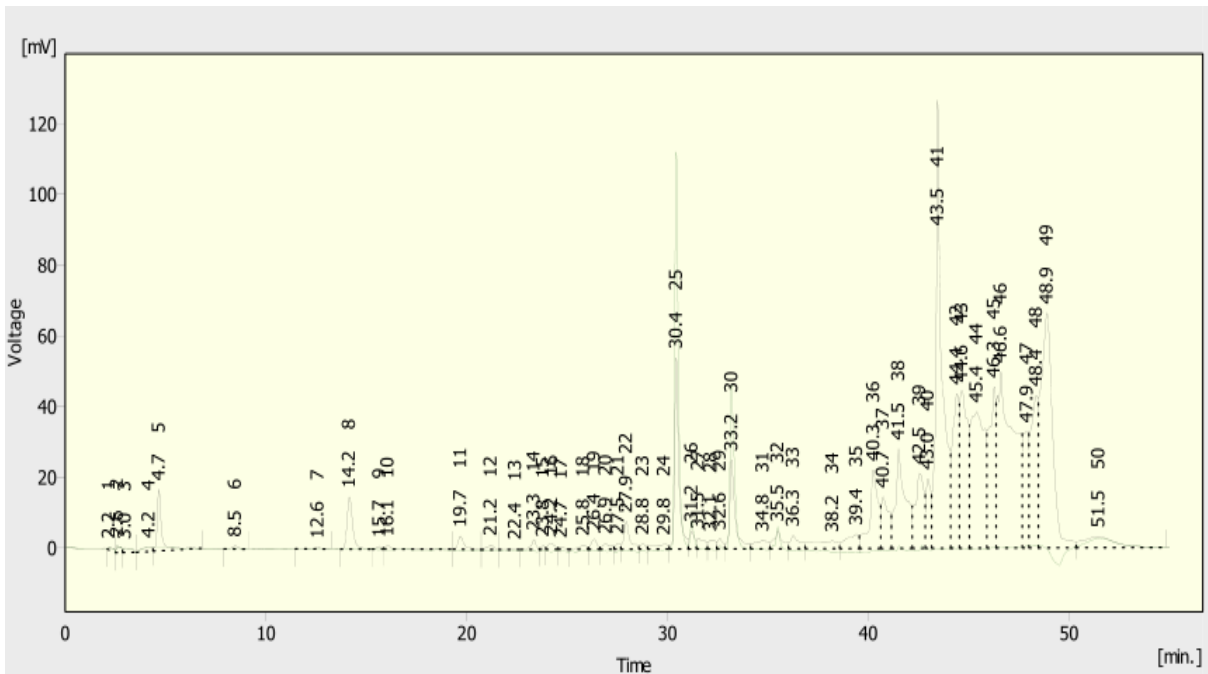


1 : fraction AE feuille, 2 : AE tiges, 3 : AE racines, 4 : AE fleurs, 5: n-butanol feuilles, 6 : n-butanol tiges, 7 : n-butanol racines, 8 : n-butanol fleurs.

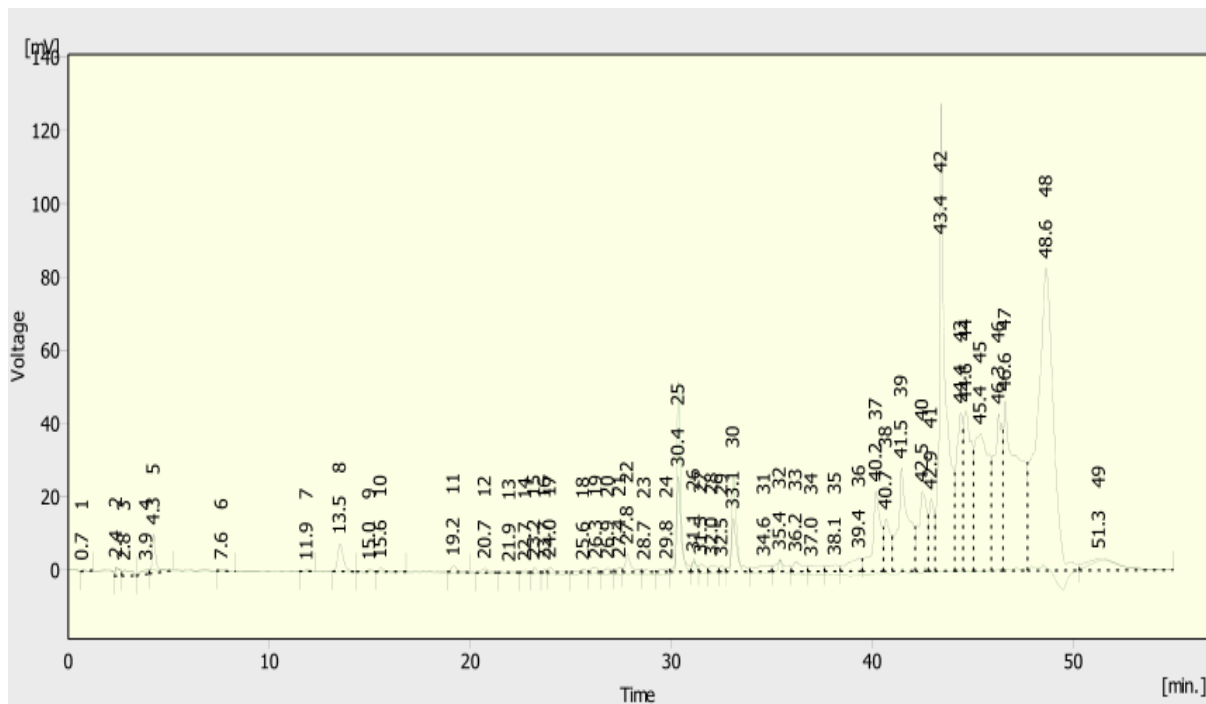
Annexe 6. Chromatogramme de la CCM des fractions flavoniques de différentes parties de *G. decander* sous UV/254 nm.



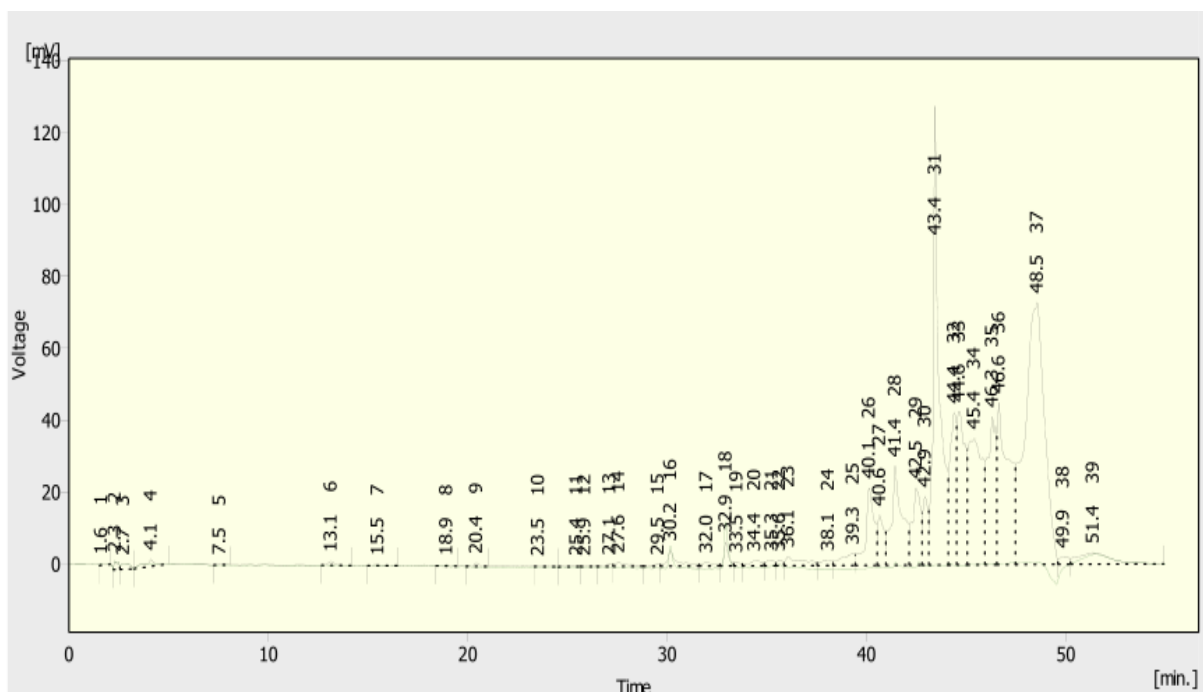
Annexe 7. Chromatogramme de la fraction acétate d'éthyle des feuilles de *P. lentiscus* obtenu par CLHP.



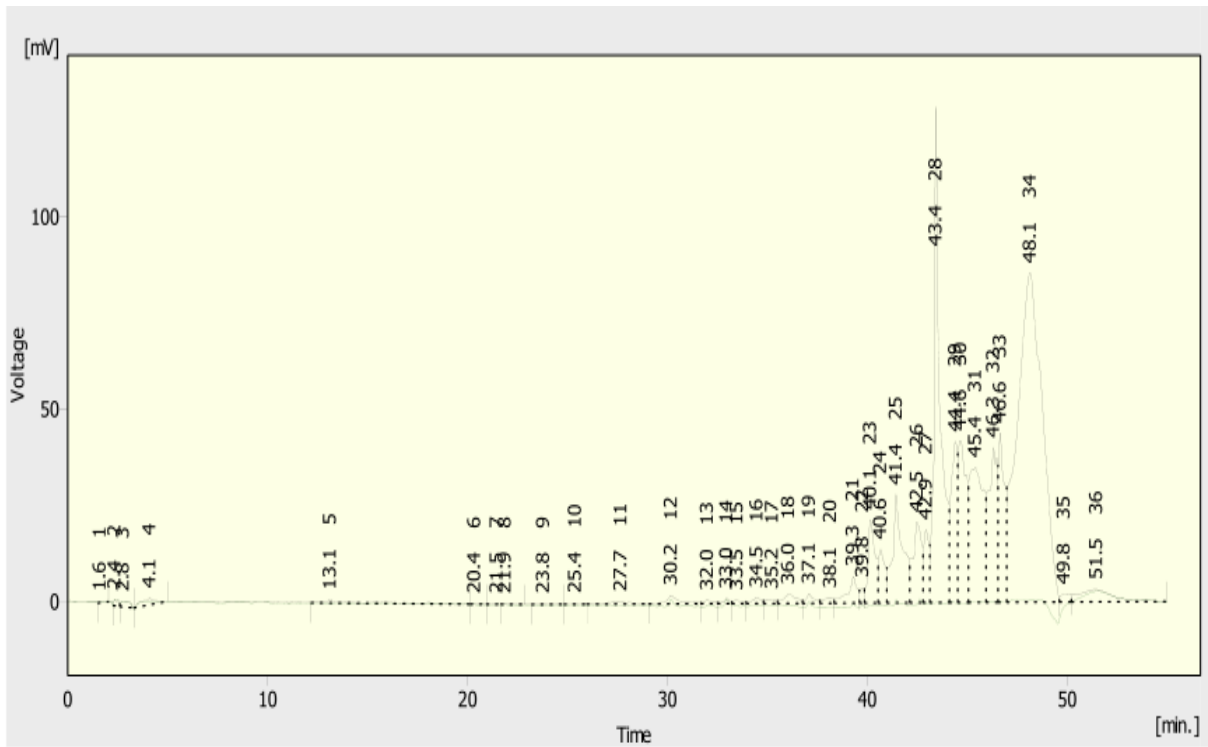
Annexe 8. Chromatogramme de la fraction N- butanol des feuilles de *P. lentiscus* obtenu par CLHP.



Annexe 9. Chromatogramme de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de *G. decander* obtenu par CLHP.



Annexe 10. Chromatogramme de la fraction N- butanol des fleurs de *G. decander* obtenu par CLHP.



Annexe 11. Chromatogramme de la fraction acétate d'éthyle des racines de *G. decander* obtenu par CLHP.

Annexe 12. Tableau des données de l'analyse quantitative par CLHP de la fraction acétate d'éthyle des feuilles de *P. lentiscus*.

	Reten. Time [min]	Area [mV.s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]
1	2.783	24.249	2.534	0.1	0.2	0.18
2	2.967	18.636	2.460	0.1	0.2	0.15
3	3.150	58.494	2.626	0.2	0.3	0.47
4	4.567	344.206	24.600	1.3	2.4	0.17
5	8.817	91.697	3.047	0.4	0.3	0.35
6	11.600	27.954	0.448	0.1	0.0	1.23
7	13.200	28.590	0.490	0.1	0.0	1.17
8	14.217	40.853	0.635	0.2	0.1	1.32
9	15.467	23.575	0.631	0.1	0.1	0.72
10	16.833	609.702	20.804	2.3	2.0	0.40
11	19.400	36.002	1.153	0.1	0.1	0.55
12	20.483	16.753	0.632	0.1	0.1	0.33
13	22.233	29.103	0.968	0.1	0.1	0.37
14	22.983	162.363	13.625	0.6	1.3	0.18
15	24.017	92.354	6.357	0.4	0.6	0.23
16	24.683	19.292	1.407	0.1	0.1	0.27
17	25.117	72.722	5.801	0.3	0.6	0.18
18	25.400	30.424	2.472	0.1	0.2	0.25
19	25.683	43.225	2.377	0.2	0.2	0.35
20	26.133	110.824	6.810	0.4	0.7	0.22
21	27.067	57.449	2.525	0.2	0.2	0.40
22	27.500	67.358	5.114	0.3	0.5	0.25
23	27.900	153.977	7.445	0.6	0.7	0.35
24	28.417	68.440	4.315	0.3	0.4	0.33
25	29.050	479.224	30.567	1.8	3.0	0.20
26	29.667	58.786	2.924	0.2	0.3	0.40
27	30.217	173.739	5.751	0.7	0.6	0.62
28	30.783	49.838	3.602	0.2	0.3	0.25
29	31.150	1221.862	92.283	4.7	8.9	0.20
30	31.817	159.826	11.281	0.6	1.1	0.27
31	32.050	251.421	12.066	1.0	1.2	0.28
32	32.750	64.891	3.847	0.2	0.4	0.32
33	33.100	104.537	5.899	0.4	0.6	0.40
34	33.683	1233.524	72.195	4.7	7.0	0.25
35	34.900	120.282	3.929	0.5	0.4	0.70
36	35.883	341.290	12.997	1.3	1.3	0.23

	Reten. Time [min]	Area [mV.s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]
37	36.683	226.786	4.367	0.9	0.4	1.40
38	38.133	63.173	2.458	0.2	0.2	0.45
39	38.600	58.134	2.549	0.2	0.2	0.40
40	39.667	239.829	5.355	0.9	0.5	0.82
41	40.433	682.558	23.901	2.6	2.3	0.43
42	40.883	414.398	17.738	1.6	1.7	0.45
43	41.633	1116.475	29.208	4.3	2.8	0.63
44	42.683	623.851	21.474	2.4	2.1	0.60
45	43.083	442.673	28.942	1.7	2.8	0.30
46	43.533	3012.279	127.597	11.5	12.3	0.23
47	44.500	906.619	42.651	3.5	4.1	0.42
48	44.750	1169.060	42.955	4.5	4.1	0.50
49	45.483	1450.611	38.335	5.6	3.7	0.67
50	45.883	383.816	35.227	1.5	3.4	0.18
51	46.333	1067.373	47.615	4.1	4.6	0.45
52	46.667	3492.365	52.615	13.4	5.1	1.42
53	47.983	606.837	36.134	2.3	3.5	0.28
54	48.483	2093.791	55.183	8.0	5.3	0.77
55	49.000	1192.844	41.107	4.6	4.0	0.42
56	51.517	367.017	3.107	1.4	0.3	2.07
	Total	26097.951	1035.134	100.0	100.0	

Publications et Communications

Publications

Zitouni Amel, Belyagoubi Benhammou Nabila, Ghembaza Nacéra, Toul Fethi and Atik Bekkara Fawzia (2016). 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. Vol. 8(4): 627-633.

Fethi Toul, Nabila Belyagoubi-Benhammou, **Amel Zitouni**, Nacéra Ghembaza and Fawzia Atik-Bekkara. (2015). *In-Vitro* Antioxidant Effects of Tannin Extracts of *Pistacia Atlantica*.

International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. Vol. 7 (1): 121-126.

Fethi Toul, Nabila Belyagoubi-Benhammou, **Amel Zitouni**, Fawzia Atik-Bekkara.(2016). Antioxidant Activity and Phenolic Profile of Different Organs of *Pistacia Atlantica* Desf. Subsp. *Atlantica* from Algeria.

Natural Products Research. Vol. 31(6):718-723

Communications

Communications Internationales

Zitouni Amel, Belyagoubi Benhammou Nabila, Ghembaza Nacéra, Toul Fethi and Atik Bekkara Fawzia.

Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits méthanoliques de différentes parties de *Gymnocarpos decander*

The First Congress of Nutrition and Food Science, November, 2015, Tlemcen, Algeria.

Zitouni Amel , Toul Fethi, Ghembaza Nacéra , Belyagoubi Benhammou Nabila and Atik Bekkara Fawzia.

Etude phytochimique et activité antioxydante de deux fractions des flavonoïdes de *Pistacia lentiscus*.

3ème Congrès International sur les Molécules Bioactives, Aliments Fonctionnels et Maladies Associées au Stress Oxydant, Mars 2014, Hammamet, Tunisie.

Zitouni Amel , Toul Fethi, Ghembaza Nacéra , Belyagoubi Benhammou Nabila and Atik Bekkara Fawzia.

Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits méthanoliques de différentes parties de *Pistacia lentiscus*.

First Seminar in Engineering, Health and Analysis, May 2013, Algiers, Algeria.

Zitouni Amel , Toul Fethi, Ghembaza Nacéra , Belyagoubi Benhammou Nabila and Atik Bekkara Fawzia.

Screening phytochimique et activité antioxydante des flavonoïdes de *Gymnocarpos decander*.

1^{er} Congrès International de la SAN, Décembre 2012, Oran, Algérie.

Belyagoubi Benhammou N , **Zitouni A** , Belyagoubi L , El Zerey belaskri A , Benhassaini H , Atik-Bekkara F , Rosa A , Piras A , Falconieri D.

Fatty Acid Composition and Antioxidant Activity of *Pistacia Lentiscus* L. Fruit Fatty Oil From Algeria.

6th International Congress of Aromatic and Medicinal Plants. May 2016, Coimbra, Portugal.

Toul Fethi, **Zitouni Amel** , Ghembaza Nacéra , Benhammou Nabila and Atik Bekkara Fawzia. Profil polyphénolique et activité antioxydante d'*Arisarum vulgare*.

25^{ème} Forum International des Sciences Biologiques (ATSB), Mars 2014, Tunisie.

Toul Fethi, **Zitouni Amel** , Ghembaza Nacéra , Benhammou Nabila and Atik Bekkara Fawzia. Comparative study on the antioxidant activity of methanolic extracts from different parts of *Pistacia atlantica*.

5^{ème} Symposium International sur Les Plantes Aromatiques et Médicinales, Novembre 2013, Marrakech, Maroc.

Ghembaza Nacéra , **Zitouni Amel**, Toul Fethi, Benhammou Nabila and Atik Bekkara Fawzia.
Polyphenols content and in vitro antioxidant activity of *Anabasis articulata*.

4th International Workshop of Industrial Biotechnology. April 2013, Tlemcen, Algeria.

Toul Fethi, Ghembaza Nacéra, **Zitouni Amel** , Benhammou Nabila and Atik Bekkara Fawzia.
Profil polyphénolique et activité antioxydante des flavonoïdes de *Pistacia atlantica*.
Journées Internationales de Biotechnologie, Décembre 2012, Mahdia, Tunisie.

Communications Nationales

Zitouni Amel , Belyagoubi- Benhammou Nabila , Ghembaza Nassira , Toul Fethi , Atik-Bekkara Fawzia, Chaabane Sari Daoudi . Activité antioxydante de l'extrait méthanolique et de l'huile fixe des fruits de *Pistacia lentiscus*.

La 1^{ère} Journée Scientifique des Sciences de l'Agriculture, Environnement et Santé. Mai 2014, Tlemcen.

Zitouni Amel , Ghembaza Nassira , Toul Fethi , Belyagoubi- Benhammou Nabila, Atik-Bekkara Fawzia. Activité antioxydante des tanins et des saponosides de *Gymnocarpos decander*.

Forum sur le Développement des Sciences de la Vie et de l'Univers, Mai 2013. Tlemcen.

Présentation orale

Zitouni Amel , Belyagoubi- Benhammou Nabila , Ghembaza Nassira , Toul Fethi , Atik-Bekkara Fawzia. Etude phytochimique et comparative des propriétés antioxydantes des tanins extraits des feuilles, des tiges, des fruits et des racines de *Pistacia lentiscus* L.

La 1^{ère} Journée Nationale de la Société Algérienne de Nutrition. Octobre 2014, Oran.

Résumé

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouveaux antioxydants naturels. L'objectif principal de ce travail est l'étude de la phytochimie, l'évaluation du pouvoir antioxydant, et la recherche de quelques molécules actives de deux plantes médicinales : *Pistacia lentiscus* L (Anacardiaceae), et *Gymnocarpos decander* forsk (Caryophyllaceae).

Les résultats du criblage phytochimique ont mis en évidence les principaux métabolites secondaires (flavonoïdes, tanins, saponosides et anthocyanes) dans ces deux plantes. Les extraits bruts et les extraits des tanins enregistrent les plus grands rendements. La quantification des composés phénoliques a montré la richesse des feuilles de *P. lentiscus* en phénols totaux (216. 289 ± 20. 62 mg GAE / g MS), flavonoïdes et tanins. Pour *G. decander*, les fleurs présentent les meilleures teneurs en phénols totaux (156,097 ± 2.312 mg GAE / g MS), flavonoïdes, tanins et flavonols.

Quatre différentes techniques, in vitro, ont été procédées pour l'évaluation de l'activité antioxydante. La partie des feuilles de *P. lentiscus*, et la partie fleurie de *G. decander* ont présenté généralement la meilleure capacité antioxydante. L'extrait des tanins des racines de *P. lentiscus* (CI₅₀ = 0,061 ± 0,001 mg / ml) et celui des fleurs de *G. decander* (CI₅₀ = 0,083 ± 0,004) ont présenté le pouvoir réducteur le plus considérable. Ces deux extraits marquent aussi l'activité la plus considérable à piéger le radical libre DPPH' avec des valeurs respectives : CI₅₀ de 0,061 ± 0,000 mg / ml et 0,063 ± 0,001 mg / ml. Pour le test de blanchissement du B-carotène, l'activité la plus élevée a été enregistrée dans la fraction acétate d'éthyle des racines de *P. lentiscus* (0,052 ± 0,006 mg / ml) et l'extrait des saponosides des feuilles de *G. decander* (CI₅₀ = 0,082 ± 0,013).

Une analyse CLHP a été réalisée sur quelques fractions flavoniques actives des deux plantes étudiées. Cette analyse nous a permis la détection et la quantification de l'acide gallique, l'acide p-coumarique, la catéchine, la quercétine, l'acide férulique, l'acide vanillique et la naringénine dans les deux fractions acétate d'éthyle et n-butanol des feuilles de *P. lentiscus*. Pour *G. decander*, cette analyse a montré la présence de la quercétine et de la naringénine dans les deux fractions analysées des fleurs, de l'acide p-coumarique dans la fraction acétate d'éthyle et la fraction butanolique des fleurs, et de l'acide vanillique dans la fraction acétate d'éthyle des fleurs. La naringénine est le seul composé trouvé dans la fraction acétate d'éthyle des racines de *G. decander*.

Les résultats de l'analyse CLHP-PR des trois (3) sous-fractions obtenues par chromatographie sur colonne de la fraction acétate d'éthyle des fleurs de *G. decander*, ont révélé pour la première fois dans cette étude, la présence de seize (16) composés phénoliques dans la SF1 (l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique, la lutéoline, la lutéoline 7-O glucoside, l'isoquercitrine, l'acide rosmarinique, l'hypéroside, l'oleuropéine, la rutine, la kaempférol, la kaempférol 3-O rutinoside, l'isorhamnétine, l'apigénine, la laricitrine et la polydatine), six (6) composés dans la SF7 (l'acide p-coumarique, l'acide synapique, l'oleuropéine, la kaempférol 3 O rutinoside, l'apigénine et la polydatine), et trois (3) composés phénoliques dans la SF8 (l'acide synapique, l'apigénine et la polydatine).

Mots clés : *Pistacia lentiscus*; *Gymnocarpos decander*; Composés phénoliques ; Activité antioxydante ; Chromatographie sur colonne ; CLHP.

Abstract

This study is a part of the search for new natural antioxidants. The main objective of this work is the study of phytochemistry, the evaluation of antioxidant activity, and identification of some active molecules of two medicinal plants: *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae), and *Gymnocarpos decander* (Caryophyllaceae).

The results of the phytochemical screening showed the presence of some secondary metabolites (flavonoids, tannins, saponins and anthocyanins) in these plants. Crude extracts and tannins extracts record the best yields. The quantification of the phenolic compounds showed the richness of leaves of *P. lentiscus* in total phenolic compounds (216. 289 ± 20. 62 mg GAE / g DM), flavonoids and tannins. For *G. decander*, flowers reveal the highest total phenolic content (156.097 ± 2.312 mg GAE / g MS), flavonoids, tannins and flavonols.

Four different techniques, in vitro, were proceeding for evaluating of antioxidant activity. The leaves of *P. lentiscus*, and the flowers of *G. decander* presented usually the best antioxidant capacity. The tannins extract from the roots of *P. lentiscus* (IC₅₀ = 0.061 ± 0.001 mg / ml) and the flowers tannins extract of *G. decander* (IC₅₀ = 0.083 ± 0.004) had the best activity to reduce iron. Both extracts also marks the most significant activity to scavenge free radical DPPH' with respective values: IC₅₀ of 0.061 ± 0.000 mg / ml and 0.063 ± 0.001 mg / ml. For the bleaching test of B-carotene, the highest activity was registered in the ethyl acetate fraction of roots of *P. lentiscus* (0.052 ± 0.006 mg / ml) and the leaves saponins extract of *G. decander* (IC₅₀ = 0.082 ± 0.013).

HPLC analysis was performed on some active flavonoid fractions of the two plants tested. This analysis allowed the detection of gallic acid, p-coumaric acid, catechin, quercetin, ferulic acid, vanillic acid and naringenin in the ethyl acetate and n-butanol fractions of the leaves of *P. lentiscus*. For *G. decander*, this analysis showed the presence of quercetin and naringenin in both fractions analyzed of flowers, the p-coumaric acid in the butanol fractions of the flowers, and vanillic acid in the ethyl acetate fraction of flowers. naringenin is the only compound found in the ethyl acetate fraction of the roots of *G. decander*.

The results of HPLC-RP analyses of three sub fractions obtained by column chromatography of the flowers ethyl acetate fraction of *G. decander* revealed, for the first time in this study, the presence of sixteen (16) phenolic compounds in SF1 (caffeic acid, ferulic acid, p-coumaric acid, luteolin, luteolin 7-O-glucoside, isoquercitrin, rosmarinic acid, hyperoside, oleuropein, rutin, kaempferol, kaempferol 3 O rutinoside, isorhamnatin, apigenin, laricitrin, and polydatin), six (6) compounds in the SF7 (p-coumaric acid, synapic acid, oleuropein, kaempferol 3 O rutinoside, apigenin and polydatin), and three (3) phenolic compounds in the SF8 (synapic acid, apigenin and polydatin).

Keywords: *Pistacia lentiscus*; *Gymnocarpos decander*; Phenolic compounds; Antioxidant activity; Column chromatography; HPLC.

المخلص

تدخل هذه الدراسة في إطار البحث عن مضادات أكسدة جديدة من مصادر طبيعية، الهدف الرئيسي هو دراسة الكيمياء النباتية، تقييم الفعالية المضادة للأكسدة والبحث عن الجزيئات النشطة المسؤولة عن ذلك في اثنتين من النباتات الطبية:

البطم العدسي (*Pistacia lentiscus*) و (*Gymnocarpos decander*)

أظهرت نتائج الفحص الكيميائي وجود المركبات الثانوية الأساسية في كلتا النباتين (الفلافونويدات، العفص، الصابونين والانشيبانين). سجلت أعلى المردودات في مستخلصات الفحص والمستخلصات الميثانولية. أعلى قيم المركبات الفينولية سجلت على مستوى أوراق *P.lentiscus* و أزهار *G.decander* (216.28 ± 20.62 ملغ حمض الغاليك/غرام من المادة الجافة) و (156.97 ± 2.312 ملغ حمض الغاليك/غرام مادة جافة)

أظهرت مستخلصات أوراق *P.lentiscus* وأزهار *G.decander* القدرة المعترية المضادة للأكسدة. مستخلص فحص جنور *P. lentiscus* ومستخلص الزهور *G.decander* أظهر أكبر النتائج في طريقة الحد من الحديد (التركيز المثبط CI₅₀ = 0.061 ± 0.001 ملغ/مل) و (CI₅₀ = 0.083 ± 0.004 ملغ/مل) على الترتيب. فيما يخص تثبيط الجذر الحر DPPH، أظهر نفس المستخلصين أحسن النتائج (0.061 ± 0.001 ملغ/مل) و (0.063 ± 0.001 ملغ/مل) على الترتيب. بالنسبة لتقنية تبييض βcarotene، سجلت أحسن النتائج على مستوى جزء الأسيتات إيثيل لجذور *P.lentiscus* ومستخلص الصابونين لأوراق *G.decander*.

أجرينا تحليل HPLC على بعض مستخلصات الفلافونويد النشطة. سمح هذا التحليل بالكشف النوعي والكمي لحمض الغاليك، حمض p-coumaric، كاتشين، كارستين، حمض الفيروليك و Naringénine في كل مستخلصات الأمينات إيثيل ون بيوتانول لأوراق *P.lentiscus*.

بالنسبة لأزهار *G.decander*، تم اكتشاف الكارستين و Naringénine في كلتا المستخلصين، و بالنسبة للجذور فالمركب الوحيد المكتشف هو Naringénine. نتائج RP-HPLC ثلاث فروع لمستخلصات الأمينات إيثيل لأزهار *G.nderdeca* المدحصل عليها بتقنية التحليل الكروماتوغرافي (Chromatographie sur colonne) كشفت عن وجود l'acide caféique، l'acide férulique، l'acide p-coumarique، lutéoline 7-O glucoside، l'isoquercitrine، l'acide rosmarinique، l'hypéroside، l'oleuropéine، la rutine، la kaempférol، la kaempférol 3-O rutinoside، l'isorhamnétine، l'apigénine، la laricitrine، la polydatine، l'acide synapique، l'apigénine و SF1 في l'acide p-coumarique، l'acide synapique، l'oleuropéine، la kaempférol 3 O rutinoside، l'apigénine و SF7 و فقط ثلاث مركبات (l'acidesynapique، l'apigénine، la polydatine) في SF8.

الكلمات المفتاحية: *Pistacia lentiscus*, *Gymnocarpos decander*, المركبات النشطة، الفعالية المضادة للأكسدة، CLHP، Chromatographie sur colonne

