



REBUPLIQUE ALGRIENNE DEMOCRATIQUE  
ET POPULAIRE



MINISTERE DE L'ENSEINEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHLA  
FACULTE ES SCIENCES DELA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES

## Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de master académique

Filière : Sciences Biologique

Option : Biotechnologie Végétale

### THEME

Contribution a l'étude de l'activité biologique des  
extraits bruts du pistachier de l'atlas

*(Pistacia atlantica)*

Présenté par : ABROUK Rofaida

soutenu le : 19/06/2018

FERRADI Rahma

### Jury:

Président	D <sup>r</sup> . ABAIDIA Abd alghafour	MCA	Univ Abbes Laghrou Khenchla
Promoteur	Mr. RAHAL khalid	MAA	Univ Abbes Laghrou Khenchla
Examineur	Mr. FELLOUS Samir	MAA	Univ Abbes Laghrou Khenchla

Promotion: 2017/2018

# Remerciement

Merci à dieu qui nous a données le pouvoir, la patience, et la volonté pour terminer ce travail.

Au terme de ce travail, il est agréable d'exprimer notre profonde reconnaissance et gratitude aux personnes qui ont contribué à faciliter la tâche et la mener à bien

Nous tenons à remercier notre encadreur Monsieur **RAHAL khalid**, pour la confiance qu'il nous a accordée tout au long de notre thème. Ce fut un plaisir d'expérimenter et d'apprendre par ses intuitions et ses connaissances scientifique. On lui exprime notre profonde gratitude pour l'aide qu'il nous a fourni pour la réalisation de ce travail.

Nos profonds remerciements vont à **ABAIDIA Abd alghafour** pour avoir accepté d'être président du jury

Nos remerciements encore s'adressent particulièrement à **Mr.FELLOUS Samir** et **Mr RAHAL khalid** pour leur participation comme membre de jury.



## Dédicace

Je dédie ce travail a :

Mes très chers parents

Mes sœurs **RIMA** et **SABRINA**

**Mimi** et **Nina**

Et **sadja**

Mon grand frère **WALID**

Mes chers frères **DIDOU** et **MADJID**

A ma famille

Mon binôme **ROFAIDA**

Mes chers amis de promo..

**Rahma**



## Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents, pour leurs encouragements, leurs sacrifices et leurs soutient.

A mon frère **Ayoub**

A mes sœurs **Asma** et **Oumaima**

Mon binôme **Rahma**

A tous mes copines **Houda Ibtissem Samah Amani**

**Imen Romaisa ..**

A toute ma promotion.

A tout ceux qui ma partage les meilleures moments.

A tous mes professeurs.

**Rofaida**

# Table des matières

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....01

## Partie I : étude bibliographique

### Chapitre I : présentation la plante pistachier de l'atlas (*Pistaciaatlantica*)

I-1 Description.....	02
I-2 Description morphologique .....	03
I-2-1 Les feuilles .....	03
I-2-2 L'inflorescence .....	04
I-2-3 Fleur .....	04
I-2-3-1 La fleur mâle .....	05
I-2-3-2 La fleur femelle .....	05
I-2-4 Fruits.....	05
I-3 Systématique .....	07
I-4 Ecologie et aire de répartition.....	06
I-4-1 Dans le monde.....	08
I-4-2 En Algérie.....	09
I-5 Utilisation.....	09
I-5-1 L'arbre.....	09
I-5-2 La résine.....	10
I-5-3 Les feuilles.....	11
I-5-4 Les graines .....	11

### Chapitre II : Les métabolites secondaires

II-1 Les huiles essentielles.....	13
II-1-1 Composition chimique.....	13
II-1-2 Activités biologiques.....	13
II-2 Propriétés biologiques et pharmacologiques ( <i>Pistacia atlantica</i> Desf).....	14
II-3 Etudes phytochimiques antérieures et principaux métabolites secondaires isolés.....	16
II-4 Les composés phénoliques.....	18
II-4-1 Classification:.....	18
II-4-1-1 Les phénols simples.....	18
II-4-1-2 Les acides phénoliques.....	18
II-4-1-3 Les stilbènes.....	18
II-4-1-4 Les xanthones.....	18
II-4-1-5 Les coumarines.....	18
II-4-1-5-1 Les lignanes et les lignines.....	19
II-4-1-6 Les flavonoïdes.....	19

II-4-1-7 Les tanins.....	19
II-4-2 Les différentes classes de composés phénoliques.....	20
II-5 Les flavonoïdes.....	20
II-5-1 Structure chimique et classification.....	21
II-5-2 Distribution et localisation.....	21
II-5-3 Propriétés biologiques et pharmacologiques des flavonoïdes:.....	21
II-5-3-1 Effets Antiallergiques.....	21
II-5-3-2 Effets Anti-Inflammatoires.....	21
II-5-3-3 Effets Anti-Ulcereux.....	21
II-5-3-4 Effets Anticancereux.....	22
II-5-3-5 Autres Effets Biologiques.....	22
II-6 Activité biologique des tanins.....	22

## **Partie II : étude expérimentale**

### **I- Matériels et méthodes**

1ère Partie : Préparation des extraits.....	25
I. Matériels.....	25
I-1-1 Matériel végétale.....	25
I- 1-2 Produits chimiques.....	25
I-1-3 Appareillage.....	25
I-2 Méthode.....	25
I-2-1 Séchage et broyage de la plante.....	26
I-2-2 Préparation des extraits.....	27
2ème Partie : les Activité biologique.....	28
I. Matériels.....	28
I-1 Appareillage.....	28
I-2 Produits chimiques.....	28
I-3 mesure de l'activité antioxydante (DPPH).....	28
I-3-1 Méthode.....	29
I-4 Dosage des flavonoïdes..... ;.....	29
I-5 analyse statistique .....	31

### **II-Résultats et discussion**

II.1 Activitéantioxydant des extraits de Pistacia atlantica.....	33
II-1-1 Effet du solvant sur l'activité antioxydants des extraits de P. atlantica.....	34
II-1-2 Effet du ratio Solvant/Echantillon sur l'activité antioxydante des extraits de P .atlantica.....	34
II-1-3 Effet de la concentration du solvant sur l'activité antioxydante des extraits de P. atlantica.....	36
II.2 Teneur des flavonoïdes totaux des extraits de pistacia atlantica.....	38
II-2-1 Effet du solvant sur la teneur des flavonoïdes des différents extraits de pistacia atlantica.....	38
II-2-2 Effet du ratio Solvant/Echantillon sur teneur du Flavonoïdes des différents extraits	

de P.atlantica.....	40
II-2-3 Effet de la concentration du Solvant sur la teneur en Flavonoïdes des différents extraits de P.atlantica.....	42
II.3 Optimisation de l'extraction des TFT pour le solvant Acétone .....	44
II-3-1 Analyse statistique .....	44
II-3-2 Analyse des surfaces de réponse.....	46
II.4 Optimisation de l'activité anti radicalaire pour le solvant Méthanol .....	48
II-4-1 Analyse statistique .....	48
II-4-2 Analyse des surfaces de réponse .....	49
Conclusion.....	55
<b>Références bibliographique.....</b>	<b>58</b>
<b>Résumé</b>	

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Classification botanique de <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	07
<b>Tableau 02</b> : Principaux composés des huiles essentielles et leurs activités biologiques.....	14
<b>Tableau 03</b> : Activités biologiques et pharmacologiques des différents organes de <i>P. atlantica</i> .....	16
<b>Tableau 04</b> : les valeurs des variables réelles codées des deux variables pour chaque solvant .....	31
<b>Tableau 05</b> : Les résultats obtenus et prévus pour le TFT.....	45
<b>Tableau 06</b> : Analyse de la variance et défaut d'ajustement .....	45
<b>Tableau 07</b> : Estimations des coefficients.....	46
<b>Tableau 08</b> : Les résultats obtenus et prévus pour l'activité antiradicalaire .....	49
<b>Tableau 09</b> : Analyse de la variance et défaut d'ajustement.....	50
<b>Tableau 10</b> : Estimations des coefficients.....	50



## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : aire naturelle de <i>Pistacia atlantica</i> .....	08
<b>Figure 02</b> : distribution de pistacia atlantica en Algérie.....	09
<b>Figure 03</b> : les feuilles de Pistacia atlantica .....	26
<b>Figure 04</b> : séchage de feuilles à l'étuve à 60°C.....	26
<b>Figure 05</b> : feuilles secs de pistacia atlantica.....	26
<b>Figure 06</b> : l'incubation des extraits dans un bain marie .....	27
<b>Figure 07</b> : les extraits obtenus après centrifugation .....	27
<b>Figure 08</b> : la réaction à piégeage de DPPH .....	29
<b>Figure 09</b> : dosage de flavonoïde.....	30
<b>Figure 10</b> : la lecture par spectrophotomètre.....	30
<b>Figure11</b> : histogramme du pouvoir antioxydant des différents extraits de <i>P.atlantica</i> ...	33
<b>Figure 12</b> : histogramme désigne le pouvoir de l'activité anti radicalaire en fonction des ratios pour le méthanol.....	34
<b>Figure13</b> : histogramme désigne le pouvoir de l'activité anti radicalaire en fonction des ratios pour l'éthanol.....	34
<b>Figure 15</b> : Histogramme désigne le pouvoir de l'activité anti radicalaire en fonction des concentrations pour le méthanol.....	36
<b>Figure 16</b> : Histogramme désigne le pouvoir de l'activité anti radicalaire en fonction des concentrations pour l'éthanol.....	37
<b>Figure 17</b> : Histogramme désigne le pouvoir de l'activité anti radicalaire en fonction des concentrations pour l'acétone.....	38
<b>Figure 18</b> : Histogramme de teneur en Flavonoïdes des différents extraits de <i>P.atlantica</i> ..	39
<b>Figure19</b> : Histogramme de la teneur des flavonoïdes en fonction des ratios pour le méthanol .....	40
<b>Figure 20</b> : Histogramme désigne le teneur du flavonoïde en fonction des ratios pour l'éthanol.....	41
<b>Figure 21</b> : Histogramme désigne le teneur du flavonoïde en fonction des ratios pour l'acétone.....	41
<b>Figure22</b> : Histogramme de teneur du flavonoïde des extraits de <i>P. atlantica</i> en fonction de concentration pour le méthanol.....	42
<b>Figure 23</b> : Histogramme de la teneur en flavonoïde des extraits de <i>P. atlantica</i> L en fonction	

de concentration pour l'éthanol.....	43
<b>Figure 24:</b> Histogramme de teneur du flavonoïde des extraits de <i>P. atlantica</i> L en fonction de concentration pour l'acétone.....	43
<b>Figure 25 :</b> Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.....	45
<b>Figure 26 :</b> Diagramme de surface de réponse d'Effet de la concentration et le ratio sur l'extraction des flavonoïdes.....	47
<b>Figure 27 :</b> Profileur de prévision pour le TFT .....	47
<b>Figure 28 :</b> Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.....	49
<b>Figure 29 :</b> Diagramme de surface de réponse d'Effet de la concentration et le ratio sur l'activité antiradicalaire.....	51
<b>Figure 30 :</b> Profileur de prévision pour l'activité antiradicalaire.....	52

## Liste des abréviations :

**Abs** : Absorbance

**AlCl<sub>3</sub>** : Trichlorure d'Aluminium.

**DPPH** : 2,2-diphényl- 1 -picrylhydrazyl

**g** : Gramme

**H**:Heure

**L**: Litre

**Min** : minute

**Mm** : Millimètres

**nm** : Nanomètre

**%** : pourcentage

**°C** : Degré Celsius

**µg** : microgramme

**µL**: Microlitre

# **Introduction générale**

### Introduction générale

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes (Iserin, 2001).

A l'heure actuelle, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments. (Maurice, 1997).

Les espèces du genre *Pistacia* occupent une place appréciable dans la médecine traditionnelle et pharmaceutique depuis l'antiquité. Elles attirent l'attention des chercheurs grâce à ces potentiels antioxydants et ces activités antimicrobienne, anti-inflammatoire, antipyrétique, antidiabétique, antiradicalaire et cytotoxique (Hamdan et Afifi, 2004 ; Topçu et al., 2007; Benhammou et al., 2007, Benhammou et al., 2008). Elles sont employées dans le traitement d'eczéma, les infections de la gorge, la lithiase rénale, l'asthme, l'estomac et comme un stimulant (Kordali et al., 2003).

*Pistacia atlantica* est, de part sa dioïcie, et ses fleurs nues, un genre particulier des Anacardiacees (Gaussen et al, 1982). Le pistachier de l'Atlas est un arbre à la fois protecteur que productif (Monjauze, 1967).

C'est l'une des rares espèces arborescentes encore présente dans les régions semi-arides et arides, voir même sahariennes. Sa limite extrême se trouve en plein cœur du Hoggar où il existe à l'état de relique (Monjauze, 1980).

L'objectif de notre étude est de l'évaluation de l'effet de différents solvants à différentes concentrations et le ratio Solvant /échantillon sur la teneur en flavonoïdes et l'activité antioxydant des feuilles de *Pistacia atlantica* dans la wilaya de kenchela.

## I : Présentation la plante pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica*)

### I-1- Description

C'est un arbre ubiquiste, présentant une silhouette impressionnante à l'âge adulte. Son feuillage, serré, se développe dans des stations au plu faible indice d'évapotranspiration. Cette résistance à la sécheresse pourrait être son caractère principal (Monjauze, 1980).

D'après Chaba *et al.* (1991), le pistachier de l'Atlas est un arbre de climax naturel.

Belhadj en (1999), note que le pistachier de l'Atlas est un grand arbre, qui peut atteindre 25 m (10 m selon Belhadj *et al.* (2008) et de 10 à 12 m selon Maamri(2008)) de haut avec une longévité de plus de 1000 ans. C'est un arbre à feuilles marcescentes, possède entre 3 et 7 paires de folioles, avec ou sans foliole terminales (Kaska, 1994).

Selon Zohary (1952) in Belhadj *et al.* (2008), Zohary (1987) et Quézel et Médail (2003), cette espèce est commune aux régions méditerranéennes et irano-touranienne. Alors que Monjauze (1980) et Ozenda (1983) la qualifie d'endémique de l'Afrique du Nord. L'arbre présente un tronc bien individualisé et à frondaison hémisphérique (Quézel et Santa, 1963 ;Benhassaini *et al.*, 2007).

Des problèmes systématique et écologique sont évoqués dès 1952 par Zohary, pour les différentes variétés de *Pistacia atlantica*, ont été étudiés. Elle consiste à l'étude des caractères macromorphologiques et les éléments de micromorphologie (Alyafi, 1979)

Zohary (1952) a utilisé la morphologie de la feuille, la forme, le nombre, la taille et l'orientation des folioles. Il a également utilisé les caractéristiques du fruit, de la graine et la forme des pétioles. (Belhadj *et al.*, 2008)

Il possède des folioles pointues et pubescentes. Les chatons mâles sont rassemblés en bouquets, alors que les fleurs femelles sont éparpillées. Avec des fruits entre 5 à 7 mm de diamètre. (Kaska, 1994)

Le pistachier de l'Atlas est un bel arbre. Il présente un intérêt particulier avec arganier, qui sont les seuls arbres qui s'accommode de l'étage climatique aride et résistent aux conditions écologiques les plus sévères. Ces feuilles qui produisent de bons sols forestiers. C'est un bon porte-greffe de *Pistacia vera*. Les arbres greffés sont d'une grande vigueur et d'une longévité grande (Monastra *et al.*, 2000). Les principaux facteurs de dégradation de

cette espèce sont l'exploitation forestière, les incendies de forêt et le pâturage. On le trouve associé au *Ziziphus lotus* qui protège ces nouveaux plants contre les animaux et les vents violents. L'utilisation de la culture reste faible malgré son potentiel d'adaptation aux conditions arides du milieu. Les conditions climatiques de la plupart des régions agricoles montagneuses et semi-arides de notre pays sont favorables à son extension (Belhadj, 2003).

## I-2- Description morphologique

Le genre *Pistacia* de la famille des Anacardiaceae, comprend de nombreuses espèces très répandues dans la région Méditerranéenne et Moyen-Orientale (Tutin *et al.*, 1968). Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.), communément appelé El Betoum, Botma en langue arabe ; est une espèce ligneuse et spontanée pouvant atteindre 10 m de haut. L'arbre possède un tronc individualisé et à frondaison hémisphérique (Quézel et Santa, 1963). Ses feuilles composées sont constituées de sept à neuf folioles, les fleurs sont en grappes lâches, les fruits, gros comme un pois, sont des drupes (Ozenda, 1983).

### I-2-1- Les feuilles

Les feuilles sont semi-persistantes, alternées, à rachis finement ailé, irrégulièrement imparipennées, de 5 à 11 folioles entières, oblongues-lancéolées de 2,5 à 5 x 1 à 1,5 cm, obtuses au sommet, sessiles et glabres (Somon, 1987). De nombreux auteurs ont postulé la survenue de variations des feuilles sous différentes conditions écologiques et que les facteurs environnementaux peuvent induire des variations structurelles, provoquant une xeromorphie. Les caractéristiques anatomiques peuvent aussi être efficacement utilisées comme indicateur de la tolérance à la sécheresse (Martins *et al.*, 2003). Dans la sous-espèce *atlantica*, la nervure centrale se trouve couverte de poils ciliées, tandis que les nervures sont rarement ciliées (Belhadj *et al.*, 2007).

La plupart des plantes supérieures, en général, et des plantes poussant dans climats de type méditerranéen en particulier, sont soumises à un stress de chaleur et la sécheresse au cours de l'été, la plupart d'entre elles ont développé des mécanismes physiologiques et morphologiques, qui leur permettent de s'adapter et de survivre. Ces mécanismes comprennent principalement une réduction de la taille, l'enroulement des feuilles, la pubescence des feuilles denses, développement profond des stomates, l'accumulation de mucilage et d'autres métabolites secondaires dans le compartiment mésophile (Bosabalidis et Kofidis, 2002; HoImes et Keiller, 2002).

Elles sont composées, stipulées, à rachis finement ailé et à folioles lancéolées obtuses au sommet (Fennane *et al.*, 2007). Les feuilles sont caduques et chutent en automne, elles sont de couleur vert pâle et sont imparipennées, glabres et sessiles (Yaaqobi *et al.*, 2009).

Ses feuilles sont composées, alternes et pennées, constitue entre 7 et 11 folioles par feuilles (LarouciRouibat, 1987), alors que Belhadj (1999), cita entre 3 et 15 folioles par feuilles .D'après (Maamri, 2008), il est composé de 3 à 5 folioles par feuille. Ses feuilles sont constituées de sept à neuf folioles (Ozenda, 1983).Plus au moins coriaces, ces feuilles mesurent de 2,5 à 6 cm de long et de 0.5 à 1.5 cm de large et n'atteint que rarement 12 cm de long pour la feuille .Ses feuilles sont obscurément rhomboïdales, avec leur grande largeur au tiers inférieur du limbe.

L'axe du pétiole est étroitement ailé. Cette espèce présente une ligne de poils presque microscopique sur la marge des folioles. Mais certains pistachiers d'Algérie ne présentent pas cette pubescence. (Monjauze, 1980)

### **I-2-2- L'inflorescence**

Le pistachier de l'Atlas a une inflorescence en grappe rameuse. La floraison qui apparaît juste avant la feuillaison débute la mi-mars (Yaaqobi *et al.*, 2009).

### **I-2-3- Fleur**

Les fleurs mâles et femelles sont portées par des pieds différents. Mais quelques pieds monoïques ont été observés dont les fleurs mâles et femelles sont portées par des rameaux différents. Aucun hermaphrodisme n'a été observé. Les fleurs sont petites en panicules axillaires et sont apétales. Ce sont des fleurs régulières avec une tendance à la zygomorphie (Yaaqobi *et al.*, 2009).Les fleurs sont en grappes lâches (Ozenda, 1983).Sa pollinisation est anémophile et cause un problème puisque les fleurs mâles sont émettent en premier. (Chaba *et al.*, 1991)

#### **I-2-3-1- La fleur mâle**

Le calice possède quatre sépales. A l'aisselle du calice, il se trouve une bractée glabrescente, allongée, de grande taille par rapport aux fleurs et de couleur jaune pâle. A l'aisselle de chaque bractée, 5 étamines se développent, de couleur rouge pourpre, et avec des filets courts et soudés à la base. Après la libération des grains de pollen au mois de mars, les



fleurs mâles s'épanouissent et les étamines prennent une structure pétaloïde (Yaaqobi *et al.*, 2009).

### **I-2-3-2- La fleur femelle**

Le calice a neuf sépales enchevêtrés entre eux et soudés à la base. Les sépales sont de taille variable selon les provenances. A l'aisselle du calice, il se trouve une bractée semblable à celle de la fleur mâle. Le gynécée présente trois carpelles concrescents avec une seule loge ovarienne fertile et un seul ovule pendant. Le style porte trois stigmates rugueux facilitant la fixation des grains de pollen (Yaaqobi *et al.*, 2009).

### **I-2-4- Fruits**

L'apparition des fruits débute du mois d'Avril, de couleur rougeâtre et en maturité ils deviennent vert foncé (Maamri, 2008), noir ou brunâtre vers la fin d'Aout, septembre et au début d'Octobre. C'est une drupe, monosperme à endocarpe osseux, pourpre à maturité. (Chaba *et al.*, 1991)

Les fruits, gros comme un pois, sont des drupes (Ozenda, 1983). Ils sont légèrement ovales plus au moins allongés, de taille d'un pois. Son épiderme se ride en séchant sur endocarpe induré abritant deux cotylédons exalbuminé, riche en huile comestible. (Monjauze, 1980)

Le fruit est appelé El Khodiri par les populations locales algériennes, appellation due à la prédominance de la couleur verte foncé à maturité (Belhadj, 2001), les fruits sont des drupes ovoïdes de 6 à 8 mm de long, pointues au sommet, monospermes à endocarpe osseux et mésocarpe sec plus au moins plissé. Ils arrivent à maturité en Septembre et on compte en moyenne 10 000 graines dans 1 Kg (Sahli, 1997). Dans les montagnes du Zagros, le pistachier sauvage (*Pistacia atlantica Desf.*) pousse à l'état naturel (Razavi, 2006).

### I-3- Systématique

La classification botanique du pistachier de l'Atlas est synthétisée dans le Tableau 1.

**Tableau 01** : Classification botanique de *Pistacia atlantica* Desf. (Yaaqobi *et al.*, 2009).

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Embranchement</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>Super-division</b>	<i>Spermatophyta</i>
<b>Division</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Rosidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Sapindales</i>
<b>Famille</b>	<i>Anacardiaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Pistacia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Pistacia atlantica</i>

### I-4- Ecologie et aire de répartition

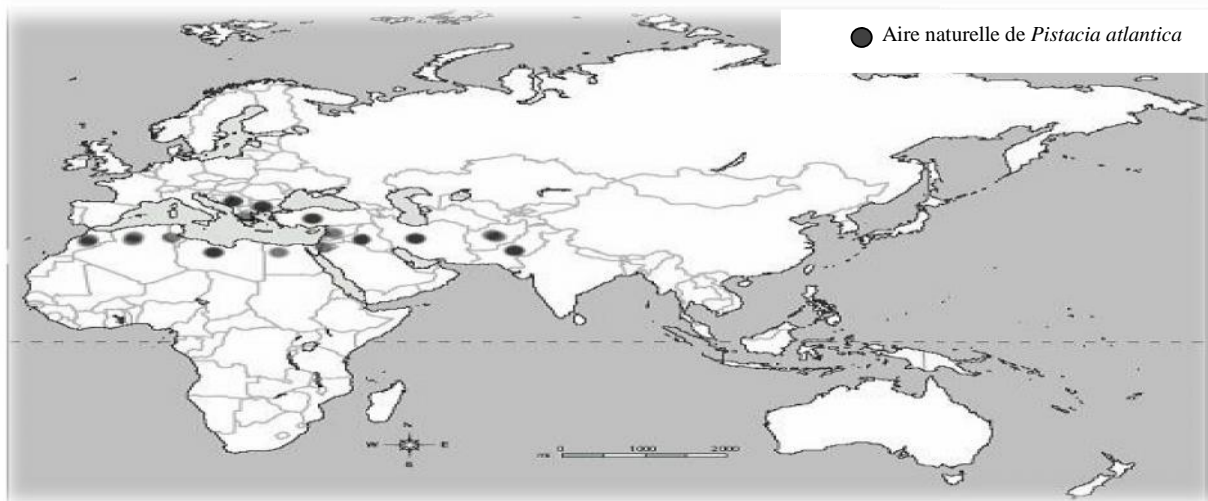
D'après Zohary (1952,1987) et Quézel et Médail (2003), cette espèce est commune de deux régions ; méditerranéenne et irano-touranienne. Cependant, Manjauze (1980) et Ozenda (1983) et Belhadj *et al.* (2008) la qualifient d'endémique de l'Afrique du nord. Elle est tolérante pour plusieurs types du sol incluant les alcalines. Elle se contente d'une faible pluviométrie de l'ordre de 150 mm et parfois moins (Benhssaini et Belkhodja, 2004).

*Pistacia atlantica* Desf. Se régénère et se développe dans les endroits les plus arides où peu d'espèces d'arbres peuvent s'établir et persister. Sa croissance est très lente. En Algérie, on le trouve en association avec *Ziziphus lotus* qui protège les jeunes pousses contre les animaux et les vents violents (Belhadj *et al.* 2008).

Il occupe une aire très vaste englobant le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, la Libye, la Syrie, la Jordanie, Palestine, l'Iran et l'Afghanistan (Kaska *et al.*, 1996 ; Khaldi et Khouja, 1996 ; Sheibani, 1996).

**I-4-1- Dans le monde**

Le pistachier de l'Atlas est une essence ubiquiste, il se rencontre de la latitude 45°N jusqu'au tropique du Cancer, des îles Canaries jusqu'au Pakistan (longitudes 20 à 40° E). Il se retrouve au Maroc, en Tunisie, en Libye, en Egypte, en Palestine, en Jordanie, en Syrie, en Turquie, en Grèce et en Algérie (Maire, 1926; Alyafi, 1979; Monjauze, 1965, 1980; Hadj Brahim *et al*, 1998).



**Figure01** : Aire naturelle de *Pistacia atlantica* (Al-saghir, 2006)

### I-4-2- En Algérie

Le bétoum se présente à l'état de groupements isolés. Il se retrouve surtout sur l'Atlas Saharien, dans le secteur du Sahara Septentrional et dans l'Ahaggar (les lits d'oueds, les ravines et les zones d'épandages) (Monjauze, 1965; Abdelkrim, 1985).

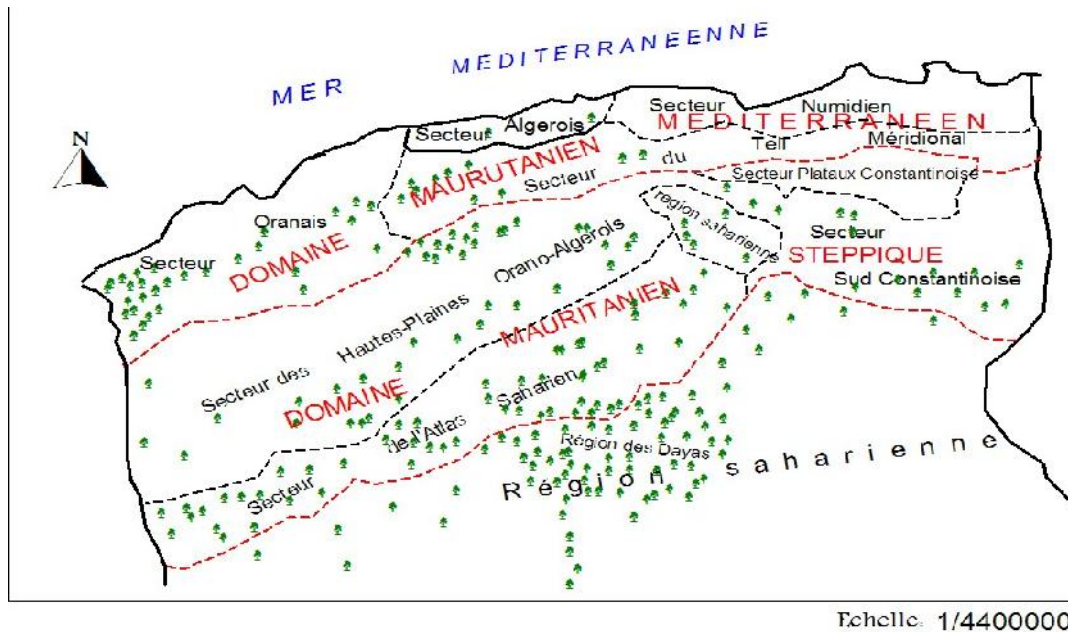


Figure 02 : distribution de *pistacia atlantica* en Algérie (Monjauze, 1968)

### I-5- Utilisation

Le genre *Pistacia* est connu par ses propriétés médicinales depuis l'antiquité. En effet, les plantes de ce genre ont été utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de l'eczéma, des infections de la gorge, des calculs rénaux, de l'asthme, des douleurs d'estomac, comme anti-inflammatoire, antivirale... (Kordali *et al.*, 2003), il a également d'autres utilisations spécifiques à chaque partie.

#### I-5-1- L'arbre

Le *Pistacia atlantica* est un arbre à la fois protecteur et productif (Monjauze, 1967). Il fournit un bois lourd peu résilient, de bonne conservation. C'est un bois d'artisanat et, bien entendu, un bois excellent pour le chauffage et la carbonisation (Monjauze, 1980). Il peut être utilisé dans les reboisements pour la protection de la steppe pastorale, en raison de sa rusticité et sa résistance à la sécheresse. Dans ce cadre, en Algérie 100 ha environ sont plantés chaque année en *Pistacia atlantica* dans les actions du barrage vert (Chaba *et al.*, 1991).

En plus de l'utilisation écologique du *Pistacia atlantica* dans les programmes de reboisement et la préservation des terres, il a l'avantage aussi d'être un bon porte-greffe et un bon pollinisateur pour le *Pistaciavera* (Crossa-Raynaud, 1984; Isfendiyaroglu *et al.* 2001; Ozeker *et al.*, 2006 ; Maria *et al.*, 2010). Il faut plus de 200 ans pour les arbres de *Pistacia atlantica* pour atteindre 1 m de diamètre, cependant des arbres allant jusqu'à 2 m de diamètre ont été retrouvés (Zangeneh, 2003; Arefi *et al.*, 2006).

*Pistacia atlantica* est généralement considéré comme un porte-greffe de vigueur modérée (Ferguson *et al.*, 2005; Spann *et al.*, 2007).

### I-5-2 La résine

L'écorce produit une résine-mastic (Oléorésine), qui exsude naturellement de façon abondante par temps chaud (Dogan *et al.*, 2003). Les populations locales faisaient autre fois quelques usages et dont la pharmacie s'est longtemps servi pour la fabrication d'onguents (Monjauze, 1980). Cette résine dont l'odeur rappelle celle de la térébenthine est largement utilisée en industrie agro-alimentaire pour préparer les masticatoires, dans l'industrie photographique et en médecine dentaire. Elle est également utilisée comme colle (Yousfi *et al.*, 2003).

Cette résine est riche en huiles essentielles (32,6%) (Barrero *et al.*, 2005), présentant un pouvoir antibactérien très intéressant surtout vis-à-vis de *Escherichiacoli*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus pyogenes* (Ghallem et Beni, 2009). La résine du Pistachier sauvage, appelé Saqzen en Iran, est utilisé pour une variété d'utilisations industrielles et traditionnelles, y compris pour la nourriture et la médecine (Poureza *et al.*, 2008). La résine produite par les espèces du genre *Pistacia* contient des substances d'huiles volatiles (Duru *et al.* 2003; Kias *et al.*, 1998), qui sont reconnues comme des métabolites secondaires dans certaines plantes méditerranéennes impliquées dans l'adaptation à la sécheresse et des températures élevées. De ce point de vue la fraction d'huile volatile peut être un précieux marqueur chimique pour la caractérisation intraspécifique des populations de *Pistacia atlantica* comme décrit pour *Pistacia lentiscus* L. (Castola *et al.*, 2000). L'oléorésine de *Pistacia atlantica* ssp. *mutica*, pousse de plus en plus dans les différentes régions de l'Iran, source de gomme mastic qui renforce les gencives, désodorise l'haleine, combat la toux et les maladies d'estomac (Beilakhder, 1997), et a été traditionnellement utilisé dans le traitement de l'ulcère gastro-duodéal.

### I-5-3 Les feuilles

Les feuilles du Pistachier de L'atlas donnent un extrait phénolique qui présente une activité antifongique considérable et qui trouve ses utilisations dans le domaine pharmacologique (Benhamou *et al.*, 2008). Les parties aériennes de la plante ont été également utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de l'eczéma, la paralysie, la diarrhée, les infections de la gorge, des calculs rénaux, des douleurs ictère, l'asthme et traitement pour l'estomac, ainsi qu'un astringent et un stimulant pectorale. Les propriétés antioxydantes et anti acetylcholinestérase des extraits au méthanol et d'acétate d'éthyle des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. Montrent que la plante dispose d'une puissante activité antioxydante contre les différents systèmes oxydants.

Les extraits sont de puissants piègeurs de radicaux libres, et leurs capacités antioxydantes ont été liées à leurs compositions chimiques. En ce qui concerne la phytochimie de *Pistacia atlantica*, des huiles essentielles ont été extraites à partir des échantillons récoltés en Grèce et au Maroc (Barrero *et al.*, 2005 ; Tzakou *et al.*, 2007). Récemment une étude a été publiée décrivant les huiles essentielles et les propriétés biologiques de *Pistacia atlantica* récoltée en Algérie (Gourine *et al.*, 2009). Toutefois, il n'existe aucune étude détaillée sur la relation entre la phytochimie de *Pistacia atlantica* et les conditions écologiques de croissance.

### I-5-4 Les graines

Le fruit du pistachier est une source importante de nourriture, même si les fruits sont plus petits et non pas une valeur commerciale comme que celles produites dans les vergers principalement à partir de la culture de *Pistaciavera L.* (Poureza *et al.*, 2008). Les graines sont séchées, écrasées ou moulues et ramassées avec de l'eau sucrée et consommées en boulettes ou bien séchées et croquées telles quelles comme des cacahuètes. (Belhadj, 2001). Des études épidémiologiques ont démontré un risque réduit de maladies cardiovasculaires avec de fréquentes consommations de graines (Hu *et al.* 1999 ; Kris-Etherton *et al.*, 2008). Les études cliniques sur les graines ont montré des effets d'abaissement du cholestérol total et du LDL-cholestérol (Kris-Etherton *et al.*, 2008 ; Griel *et al.*, 2006). Les graines de *Pistacia atlantica* sont utilisées aussi pour extraire l'huile utilisée en industries cosmétiques (Fida, 2008; Nemarundwe *et al.*, 2008).

# **Chapitre II: Les métabolites secondaires**

## II Les métabolites secondaires

### II-1- Les huiles essentielles

L'huile essentielle est un extrait végétal provenant des plantes dites: aromatiques qui contiennent donc dans leurs feuilles, fruits, graines, écorces, ou racines, un grand nombre de molécules aromatiques, qui constituent le ou les principes essentielles des plantes. Les huiles essentielles sont des substances de consistance huileuse, plus au moins fluides, voire résinoïde très odorantes, volatiles, souvent colorées : du jaune pâle au rouge foncé voir brun, en passant par le vert émeraude ou encore le bleu. Elles sont plus légères que l'eau (densité de l'ordre de : 0,750 à 0,990).

Ces essences sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, mais insolubles dans l'eau (Bardeau, 2009).

Ce sont des métabolites secondaires, la plante utilise l'huile pour favoriser la pollinisation, comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques et conservant l'humidité des plantes dans les climats désertiques (Mohammedi, 2006).

#### II-1-1- Composition chimique

Les principaux constituants des huiles essentielles sont des terpènes (aliphatiques, acycliques, aromatiques...), des substances grasses, (intimement associées aux fonctions biologiques des organismes vivants) et plusieurs corps oxygénés aux propriétés chimiques diverses (alcools, aldéhydes, cétones, phénols, esters, acides organiques, coumarines, etc.). La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant plusieurs conditions: l'environnement, le génotype, origine géographique, la période de récolte, le séchage, l'état sanitaire, la flore adventice..... (Bardeau, 2009 et Mohammedi, 2006).

#### II-1-2- Activités biologiques

L'action des huiles essentielles est le résultat de l'effet combiné de leurs composés actifs et inactifs, leur efficacité est largement augmentée lorsqu'elles sont diluées (Bardeau, 2009 et Mohammedi, 2006).

Quelques activités biologiques des huiles essentielles sont mentionnées dans le Tableau 2.



**Tableau 02** : Principaux composés des huiles essentielles et leurs activités biologiques. (WILLEM, 2004).

Nom de l'élément Biochimique	Activités biologiques
Les acides	Anti-inflammatoires très puissants, agissent en calmants le système nerveux.
Les aldéhydes	Anti- inflammatoires, Calmants du système nerveux, anti-infectieux, peuvent irriter les muqueuses et la peau.
Les cétones	Anti-inflammatoires, anti-infectieux, stimulent le système immunitaire à faibles doses, cicatrisantes, calmantes, à forte dose peuvent être neurotoxiques. Les huiles essentielles riches en cétones ne doivent pas être employées seules.
Les coumarines	Anti-coagulantes.
Les éthers	Effets antalgiques, rééquilibrants nerveux (antidépresseur psychique). Inversion des effets si les doses sont trop élevées.
Les esters	Rééquilibrants nerveux.
Les monoterpènes	Stimulants du système immunitaire, ont des propriétés antiseptiques, antalgiques. Peuvent occasionner des brûlures importantes sur la peau donc leur action doit être limitée dans le temps.
Les phénols	Anti-infectieux, action contre les microbes, les champignons, les virus et les bactéries, irritants pour la peau et muqueuses (peuvent entraîner des brûlures). Peuvent (en grande quantité) endommager le foie en détruisant les cellules hépatiques.
Les sesquiterpènes	Anti-inflammatoires, anti-allergiques, emploi important en cosmétologie car ont une bonne tolérance avec la peau et ont des propriétés thérapeutiques

## II-2- Propriétés biologiques et pharmacologiques (*Pistacia atlantica* Desf)

L'extrait aqueux des parties aériennes de *P. atlantica* a montré une activité hypoglycémiant par modulation de la sécrétion de l'insuline sur des cellules MIN6, et par l'inhibition de l'absorption du glucose extrapancréatique (Kasabri *et al.*, 2011).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles de la résine de *P. atlantica*, a été testée in vitro sur des isolats cliniques de sept souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Xanthomonas maltophilia*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*) et de trois souches fongiques (*Candida albicans*, *Candida albicans* ATCC20027 et *Candida albicans* ATCC20032). La détermination du pouvoir antibactérien et antifongique a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose. Tous les extraits ont montré une forte activité antimicrobienne vis-à-vis des souches fongiques et

bactériennes. Les huiles essentielles ont révélé un grand pouvoir antibactérien vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* avec des concentrations minimales inhibitrices inférieures à 10 mg/mL. *Candida albicans* a présenté une forte résistance aux huiles essentielles testées (Benabderrahmane *et al.*, 2009).

L'extrait aqueux de *P. atlantica* a montré une activité inhibitrice de l'  $\alpha$ -amylase significative in vitro (Hamdan et Afifi, 2004).

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des différentes parties du fruit de *P. atlantica* a été mesurée en utilisant différents dosages: FRAP, l'oxyde nitrique, et le piégeage des radicaux DPPH. Les résultats ont montré que l'extrait de coque possède la plus forte activité antioxydante (Hatamnia *et al.*, 2014).

L'extrait de gomme a été évalué pour l'activité inhibitrice d'un agent parasite *Leishmania major* responsable de la leishmaniose cutanée. L'administration quotidienne de gomme obtenue de *P. atlantica* pendant 28 jours, diminue la taille de la lésion de la peau chez des souris infectées par *L. major* par rapport à celles non infectées. Le traitement des souris avec la gomme obtenue de *P. atlantica* diminue le nombre de souris positives aux parasites (Taran *et al.*, 2010).

Les activités biologiques et pharmacologiques des différents organes de *P. atlantica* sont répertoriées dans le tableau 3

**Tableau 03:** Activités biologiques et pharmacologiques des différents organes de *P. atlantica*.

Parties de la plante	Types d'extraits	Activités biologiques et pharmacologiques	Références
-	MeOH 80 %	Activité antioxydante	Souri <i>et al.</i> , 2004
Feuilles	H <sub>2</sub> O, MeOH EtOH	Activité antibactérienne et antifongique	Rhouma <i>et al.</i> , 2009
Feuilles	Huiles essentielles	Activité antioxydante	Gourine <i>et al.</i> , 2010a,b
Feuilles	EtOH	Activité antioxydante, antibactérienne et antifongique	Benhammou <i>et al.</i> , 2008
Feuilles	H <sub>2</sub> O	Effet antihyperglycémique	Kasabri <i>et al.</i> , 2011
Feuilles	AcOEt, MeOH	Activité antioxydante	Peksel <i>et al.</i> , 2010
Feuilles branches	AcOEt	Activité antiplasmodiale	Adams <i>et al.</i> , 2009
Gomme	Huiles essentielles	Activité antibactérienne	Ghalem et Mohamed, 2009
Graines	H <sub>2</sub> O, MeCOMe MeOH	Activité antibactérienne	Hammami <i>et al.</i> , 2009
Parties aériennes	MeOH 20 %	Activité antioxydante	Yousfi <i>et al.</i> , 2009

### II-3- Etudes phytochimiques antérieures et principaux métabolites secondaires isolés

La composition en métabolites primaires du fruit comestible de *P. atlantica* a été bien étudiée (Yousfi *et al.*, 2002; Benhassaini *et al.*, 2007; Sharayei *et al.*, 2011). Les extraits: éther éthylique et chloroforme-méthanolique du fruit contiennent des acides gras et des stéroïdes (Benhassaini *et al.*, 2007).

La composition chimique de trois huiles essentielles obtenues par hydrodistillation de la résine, des feuilles et des fruits de *P. atlantica* a été étudiée par GC et GC-MS. Les hydrocarbures monoterpéniques constituent le principal groupe chimique dans l'huile de résine, avec -pinène (42,9 %) et -pinène (13,2 %) comme composés majoritaires. L'huile de fruits contient des quantités élevées de monoterpènes oxygénés, avec l'acétate de bornyle

(21,5 %) comme composé principal, tandis que les monoterpènes et sesquiterpènes oxygénés ont été trouvés en prédominance dans l'huile essentielle des feuilles dont le terpinène-4-ol (21,7 %) et l'elemol (20,0 %) sont les composés les plus abondants (Barrero *et al.*, 2005).

L'extrait hydroéthanolique de la plante contient des flavonoïdes (Kawashty *et al.*, 2000). L'extrait hydrométhanolique des fruits contient de la lutéoline. L'acide chlorogénique, la lutéoline, la lutéoline 7-glucoside, le kaempférol, la naringine et la naringine 7-glycoside ont été également identifiés dans l'extrait hydrométhanolique des fruits (Yousfi *et al.*, 2009). L'extrait méthanolique des fruits contient: l'acide ascorbique, l'acide gallique, la rutine; l'acide caféique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide vanillique, l'acide p-coumarique, l'acide syringique, l'acide férulique, et l'acide sinapique (Hatamnia *et al.*, 2014). L'extrait aqueux des fruits contient: l'epicatéchine (4,05 %), l'acide chlorogénique (5,86 %), l'acide caféique (0,51 %), la flavanomareine (0,28 %), l'éthyle vanilline (0,49 %), et l'apigénine 7-glucoside (0,55 %) (Shaddel *et al.*, 2014). A partir de l'extrait hydrométhanolique des feuilles et des galles, le méthyle ester de l'acide gallique et l'acide gallique ont été isolés (Yousfi *et al.*, 2009). Les feuilles contiennent 22,2 % de tanins (Yousfi *et al.*, 2009).

#### II-4- Les composés phénoliques

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité biologique (Ali *et al.*, 2001 ; Li *et al.*, 2007).

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances; ils ont en commun un cycle aromatique portant au moins un groupement hydroxyle (Chopra *et al.*, 1986). Selon le nombre d'unités phénoliques présents, on les classe en composés phénoliques simples et polyphénols. Par abus, on les appelle indifféremment composés phénoliques ou polyphénols et comprennent essentiellement les phénols simples, les acides phénoliques, les stilbènes, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les lignanes, les lignines et les xanthones. (Stalikas, 2007). Les polyphénols sont présents dans tous les organes de la plante. Ils résultent de deux voies synthétiques principales: la voie shikimate et acétate (Lugasi *et al.*, 2003).

### II-4-1- Classification

#### II-4-1-1- Les phénols simples

Ce sont des composés renfermant une ou plusieurs unités phénoliques sans d'autre fonction particulière impliquant le(s) noyau(x) benzénique(s) comme le 3- hydroxytyrosol, le tyrosol, le 4-vinylphénol (Bruneton, 1999).

#### II-4-1-2- Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont les dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique, ils sont présents dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales (Psotová *et al.*, 2003). Nous pouvons citer par exemple : l'acide caféique, l'acide protocatechique, l'acide vanillique, l'acide ferulique, l'acide sinapique et l'acide gallique (Hale, 2003).

#### II-4-1-3- Les stilbènes

Ce sont des composés ayant comme structure de base le 1,2-diphényléthylène (C6-C2-C6) dont quelques représentants sont: le pinosylvine et l'hydrangéol (Bruneton, 1999).

#### II-4-1-4- Les xanthones

Ils constituent une famille de composés phénoliques généralement isolés dans les plantes supérieures et dans les microorganismes, répondant à une structure de base C6-C1-C6 (Sakagami *et al.*, 2005).

#### II-4-1-5- Les coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild.) d'où elles furent isolées en 1982 (Bruneton, 1999)

Ce sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo -2-pyrone (Ford *et al.*, 2001) (Sakagami *et al.*, 2005).

#### II-4-1-5-1- Les lignanes et les lignines

Les monolignols (dérivés de l'acide cinnamique) servent de précurseurs pour les composés de type phénylpropanoïde tels que les lignanes et les lignines (Bruneton, 1999).

Les lignanes répondent à une représentation structurale de type (C6C3)<sub>2</sub> ; l'unité C6C3

est considérée comme un propylbenzène. Les plantes les élaborent par dimérisation oxydante de deux unités d'alcool coniférique. Quand cette dimérisation implique une liaison oxydante par les C8 des chaînes latérales de deux unités d'alcool coniférique liées, formant la liaison C8–C8', les métabolites résultants portent le nom de lignane. Le terme neolignane est employé pour définir tous les autres types de liaisons (Bruneton, 1999).

Les lignines constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal et seraient formés par polymérisation oxydative de trois monolignols qui sont les alcools p-coumarique, coniférique et sinapique

#### II-4-1-6- Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments ubiquistes des végétaux. Ils existent le plus souvent sous forme d'hétérosides : les flavonoïdes. Ils sont très largement répandus dans le règne végétal (les fruits, les légumes, les graines ou encore les racines des plantes). Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 (Bruneton, 1999 ; Reynaud et Lussignol, 2005).

Il existe six classes des flavonoïdes, qui diffèrent par leur structure chimique : flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (Medi - Šari et al., 2004).

#### II-4-1-7- Les tanins

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé (Bravo, 1998). On distingue chez les végétaux supérieurs deux groupes: les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Ghestem *et al.*, 2001).

Les tanins hydrolysables (esters de glucose) comprennent l'acide gallique pour le groupe des gallotanins et l'acide ellagique pour le groupe des ellagitanins. Ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique; ils s'hydrolysent aussi sous l'action enzymatique (Ghestem *et al.*, 2001).

Les tanins condensés sont des polyphénols de masse moléculaire élevée. Ils résultent de la polymérisation oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3-ol et/ou de flavan-3,4-diol (Bruneton, 1999).

### II-4-2- Les différentes classes de composés phénoliques

Les composés phénoliques sont une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire qui dérivent du phénol  $C_6H_5OH$  qui est un monohydroxybenzène. Les composés phénoliques sont fort répandus dans le règne végétal ; on les rencontre dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. La couleur et l'arôme, ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et des transformations des phénols. Les composés phénoliques représentent de 2 à 3 % de la matière organique des plantes et dans certains cas jusqu'à 10 % et même d'avantage. Tous les phénols, à de très rares exceptions (exemple : la lignine) sont des métabolites énergétiques des échanges cellulaires et interviennent activement dans différents processus : photosynthèse, respiration, croissance, résistance aux maladies infectieuses (Rakipov, 1987). Dans la nature, ces composés sont généralement dans un état lié sous forme d'esters ou plus généralement d'hétérosides. Ils existent également sous forme de polymères naturels (tanins).

Le groupe le plus vaste et plus répandu des phénols est celui des flavonoïdes (Oka *et al.*, 1972 ; Kooter *et al.*, 2002). Le terme "flavonoïde", est utilisé pour la première fois par Geissman et Hinreiner (Harborn, 1975).

### II-5- Les flavonoïdes

#### II-5-1- Structure chimique et classification

Structuralement les flavonoïdes ont un squelette de base commun constitué de 15 atomes de carbone assemblés en trois cycles nommés A, C et B. Selon la structure du cycle intermédiaire (cycle C), les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les flavan-3-ols et les flavan-3,4-diols (Graham, 1998).

#### II-5-2- Distribution et localisation

Les flavonoïdes sont largement abondants dans les légumes feuilles (salade, choux, épinards, etc.), ainsi que dans les téguments externes des fruits. Présents dans tous les organes aériens, ils ont une teneur maximale dans les organes jeunes (feuilles et boutons floraux) (Paris *et al.*, 1991). Sur le plan tissulaire, les flavonoïdes sont rencontrés plus précisément dans les vacuoles des cellules ainsi que dans les chloroplastes (Bruneton, 1987).

### II-5-3- Propriétés biologiques et pharmacologiques des flavonoïdes

#### II-5-3-1- Effets Antiallergiques

Ces effets sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca<sup>2+</sup>-dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles (Di Carlo *et al.*, 1999).

#### II-5-3-2- Effets Anti-Inflammatoires

Sous l'action de la cyclo-oxygénase et la lipo-oxygénase, l'acide arachidonique se métabolise respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires. Landolfi et son groupe ont montré que certains flavonoïdes tels la quercétine et la myricétine, l'apigénine et la chrysin que sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes en inhibant ces enzymes (Landolfi *et al.*, 1984).

#### II-5-3-3- Effets Anti-Ulcereux

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres, et également l'inhibition de la production de leucotriènes (Di Carlo *et al.*, 1999).

D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés antiulcéreuses de la quercétine, naringénine, rutine et kaempférol, et la production du PAF (Platelet Activating Factor) qui est un agent ulcérogène potentiel (Izzo, 1996). En effet, il s'est avéré que la réduction des dommages gastro-intestinaux est due probablement à l'inhibition du PAF par ces flavonoïdes.

#### II-5-3-4- Effets Anticancereux

Présente pratiquement dans tous les types de thé et en particulier dans le thé vert, la catéchine a montré une activité anti-tumorale (Bracke *et al.*, 1991). Une telle activité est attribuée à la capacité de ce flavonoïde d'inactiver le t-PA (tissue-type plasminogen activator) en greffant à celui-ci la laminine, une molécule de la matrice extracellulaire qui joue un rôle important durant la mort cellulaire. La quercétine inhibe la croissance cellulaire en empêchant



certaines phases du cycle cellulaire et en bloquant les sites récepteurs des hormones (Larocca *et al.*, 1994).

La croissance cellulaire peut être inhibée également par d'autres mécanismes, à savoir : la stabilisation du collagène, l'altération de l'expression des gènes, et la réduction des radicaux libres (Di Carlo *et al.*, 1999). En effet, la catéchine augmente la résistance du collagène (Scutt *et al.*, 1987) et inhibe l'activité de la collagénase (Makimura *et al.*, 1993).

#### **II-5-3-5- Autres Effets Biologiques**

Les flavonoïdes peuvent aussi empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase (Chaudhry *et al.*, 1983). Ong et Khoo ont reporté que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques (Ong *et al.*, 1997 ; Ong *et al.*, 2000).

Certains flavonoïdes peuvent entraver l'athérosclérose et par conséquent réduisent le risque des maladies cardiovasculaires (Hertog *et al.*, 1993).

Les effets anti- viraux des flavonoïdes ont été également démontrés (Chu *et al.*, 1992).

#### **II-6- Activité biologique des tanins**

La plupart des propriétés biologiques des tanins sont liées au pouvoir qu'ils ont de former des complexes avec des macromolécules en particulier avec les protéines. Cette propriété semble être essentielle dans leurs activités à l'encontre des virus. Ainsi, leur association avec les protéines de surface des virus ou des cellules hôtes serait à l'origine de la diminution de la charge virale. De telles activités ont été trouvées à l'encontre de l'herpès (Takechi *et al.*, 1985) et en particulier contre le HIV ou SIDA (Vlietinck *et al.*, 1997). L'acide chébulagique extrait de *terminalia chebula*, par exemple, utilise ce mode d'action contre le HIV. Egalement, il apparaît que les tanins agissent en inhibant des enzymes essentielles à la réplication du virus, comme l'acide ellagique inhibiteur de la 'VHI transcriptase reverse' ou l'acide chébulagique et la corilagine, extraits de deux espèces de *phyllantus*, inhibiteurs d'ADN polymérase du virus Epstein-Barr (Chen Lui *et al.*, 1999).

De façon plus générale, les tanins sont des inhibiteurs enzymatiques de l'élastase, de l'histidine décarboxylase et de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (Bruneton, 1993).

L'acide ellagique est l'un des composés actifs. Plusieurs drogues à tanins existent mais

leurs applications restent restreintes. Elles sont utilisées par voie interne pour leur effet anti-diarrhéique et par voie externe pour imperméabiliser les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les couches sous-jacentes. Elles ont également un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels. En limitant la perte en fluides et en empêchant les agressions extérieures, les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessure superficielle ou de brûlure. Quelle que soit la voie d'administration, l'effet antiseptique (antibactérien et antifongique) clairement démontré de ces molécules est intéressant (diarrhées infectieuses, dermatose,...) (Bruneton ,1993 ; Veroffa, *et al.*, 2001).

D'autres tanins sont aussi connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. En effet, l'acide chébulagique ou la corilagine extraits de *terminalia citrina* (plante utilisée dans la médecine traditionnelle Thaïlandaise) présentent de nombreuses activités à l'encontre de souches pathogènes de l'homme, comme *Staphylococcus aureus*, *Esherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsielle pneumoniae*, *Candida albicans* ou encore *Enterococcus SPP* (Mazza *et al.*, 1993).

Enfin, les potentialités des tannins dans l'inhibition de la peroxydation des lipides ont mis en évidence leurs propriétés de piègeurs de radicaux libres et d'inhibiteurs de la formation de l'ion super oxyde (inhibiteurs de la xanthine oxydase).

# **Matériels et méthodes**

### I Matériels et méthodes

L'ensemble de ce travail a été effectué au laboratoire de biologie (El-hamma) faculté de science de la nature et de la vie, Université de Abbes laghrour –khenchela-

#### 1ère Partie : Préparation des extraits

##### I-1- Matériels

###### I-1-1-Matériel végétale

Feuille de la plante (*Pistacia atlantica*)

###### I-1-2- Produits chimiques

- Méthanol
- Ethanol
- Acétone
- L'eau distillée

###### I-1-3- Appareillage

- Etuve
- Bain- marie
- Centrifugeuse

##### I-2- Méthode

Cette étude est réalisée sur la partie aérienne (feuilles) du *Pistacia atlantica*. Qui ont été récoltés durant le mois d'avril 2018 wilaya de khenchela. Les feuilles de *Pistacia atlantica* ont été séchés à l'étuve à 60°C pendant 24 heures, puis broyées à l'aide d'un mixeur jusqu'à leur réduction en poudre fine.

I-2-1- Séchage et broyage de la plante



**Figure03** : les feuilles de *Pistacia atlantica*



**Figure04** : séchage de feuilles à l'étuve à 60°C



**Figure05** : feuilles secs de *pistacia alantica*

### I-2-2- Préparation des extraits

Nous avons utilisé trois solvants : Méthanol, Ethanol, Acétone, pour un chaque solvant nous disposons 10 tubes à essais qui couvre l'ensemble des combinaisons des facteurs étudiés (ratio et concentration). La quantité de solvant doit être appropriée à la quantité de matière végétale de façon à respecter les ratios utilisés (1/20, 1/15 et 1/10).

Le matériel végétal broyé est macérée dans 10 ml de chaque solvant avec les quantités de (0,5g/1g et 0,66g) dans un bain marie pendant 2 heure à température 60°C. Ensuite, ils ont été centrifugés pendant 20 min à 9000 trs/min et filtrés. Les filtrats obtenus sont conservés dans le congélateur à -22°C jusqu'à leurs analyse.



**Figure 06** : l'incubation des extraits dans un bain marie



**Figure07** : les extraits obtenus après centrifugation

## 2ème Partie : L'activité Antioxydant

### I. Matériels

#### I-1- Appareillage

- Spectrophotométrie

#### I-2- Produits chimiques

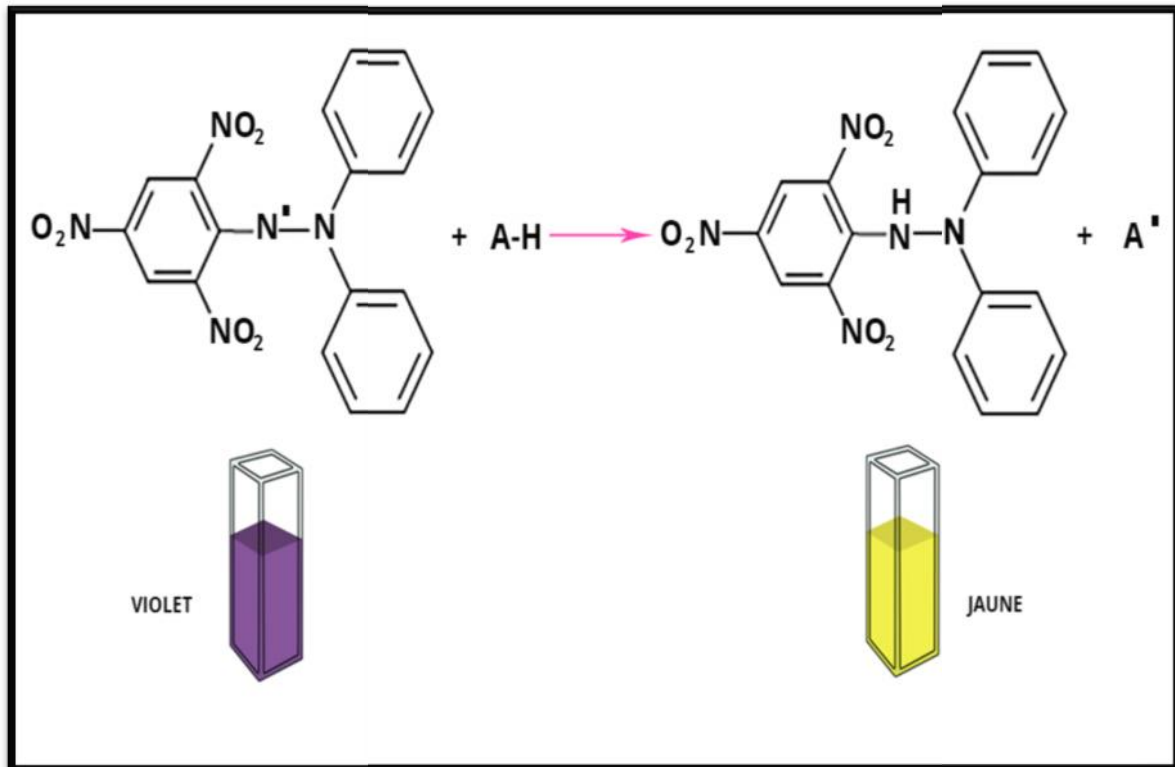
- DPPH
- Nitrate de sodium ( $\text{NaNO}_3$  à 5%)
- Trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$  à 10%)
- Hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$  à 1M)

#### I-3- mesure de l'activité antioxydante (DPPH)

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

##### Principe

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (Non radical) en acceptant un atome d'hydrogène (William et *al*, 1995). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation:  $\text{DPPH}^{*+} + (\text{AH}) \rightarrow \text{DPPH-H} + (\text{A}^{\bullet})$  Où: (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) Pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune pâle)



**Figure 08** : la réaction à piégeage de DPPH

### I-3-1- Méthode

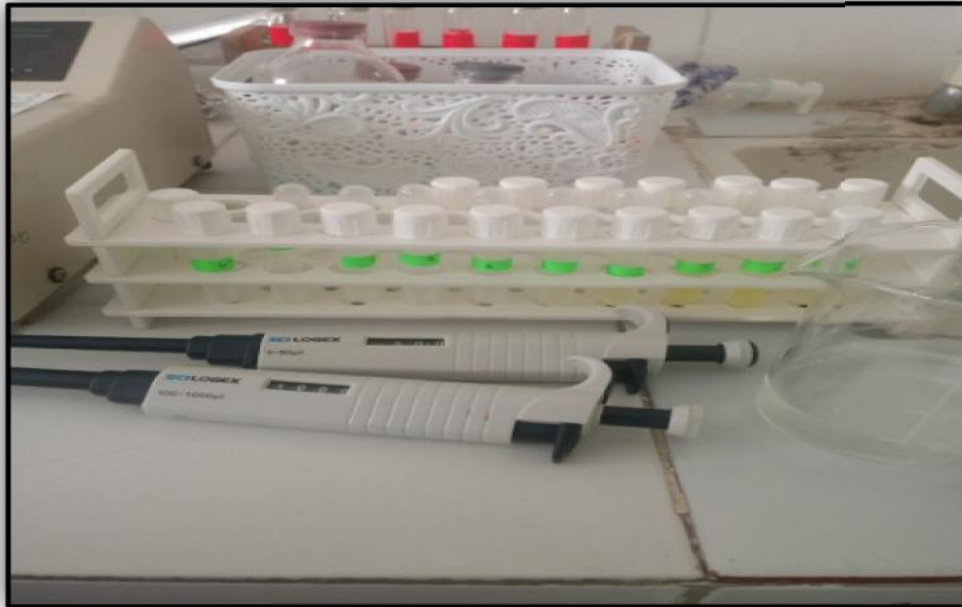
Pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *pistacia atlantica* nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) proposée par (Öztürk et al, 2011). Un volume de 100 µl extrait (dilué 1/2) est ajoutée à 900 µl de DPPH, un contrôle négatif (blanc) est préparé en mélangeant 100 µl de méthanol avec 900 µl de DPPH puis La lecture de l'absorbance s'est faite contre le blanc préparé pour chaque concentration à 517nm après 30 min d'incubation, le même principe avec les autres solvants (éthanol, Acétone).

### I-4- Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode de trichlorure d'aluminium; (AlCl<sub>3</sub>) (Vanhaelen et al., 1980) à 100 µl de chaque extrait (dilué 1/2) est ajouté 50 µl de nitrate de sodium (5%) plus 900 µl d'eau distillée. Après 5 minutes d'incubation 100 µl de la solution d'AlCl<sub>3</sub> (10%) dans le méthanol est ajouté. Après une deuxième incubation pour 6 min, 500 µl de NaOH (1 M) plus 1000 µl d'eau distillée sont ajoutés, l'absorbance a été lue



à 510 nm. La concentration des flavonoïdes dans les extraits a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec la quercétine par gramme de matière sèche ( $\mu\text{g EQ/g Ms}$ ).



**Figure 09** : dosage de flavonoïde



**Figure 10** : la lecture par spectrophotomètre

### I-5 Analyse statistique :

Afin d'évaluer les meilleures conditions pour l'extraction des polyphénols de l'espèce *Pistacia atlantica*, trois facteurs ont été étudiés : le solvant (méthanol, éthanol, acétone), le

ratio (1 :10, 1 :20) et la concentration du solvant (0% ;100%). Ces facteurs sont représentés en deux niveaux codés par -1 et +1 pour le minimum et le maximum et le 0 pour le centre.

**Tableau 04 :** les valeurs des variables réelles et codées des deux variables pour chaque solvant. La construction de la matrice des expériences nous a donné 10 essais.

Variable	code	-1	0	+1
Concentration %	X <sub>1</sub>	0	50	100
Solide/liquide	X <sub>2</sub>	1 :20	1 :15	1 :10

Afin de prédire le point optimal, nous avons utilisé un plan de surface de réponse **Box Bencken**, une fonction polynomiale de second ordre a été élaborée. Elle permet d'étudier la relation entre les variables indépendantes et les réponses (teneur en flavonoïdes et l'activité antioxydante). La forme générale de l'équation polynomiale du second ordre est la suivante :

$$Y_i = 0 + i X_i + ii X_i^2 + ij X_i X_j \text{ Avec :}$$

Y<sub>i</sub> : la réponse.

0: la constante du modèle.

X<sub>i</sub>, X<sub>j</sub>: les variables indépendantes.

i:le coefficient linéaire.

ij: le coefficient d'interaction.

ii: le coefficient quadratique.

L'analyse statistique du modèle est exécutée en analysant la variance (ANOVA). Cette analyse inclue le test du Fischer (signification du modèle globale), sa probabilité associée p(F), le coefficient de corrélation R et le coefficient de détermination R<sup>2</sup> qui mesure la qualité d'ajustement du modèle de régression. Pour chaque variable, les modèles quadratiques sont représentés et les courbes de la surface de réponse (3D). Cette analyse est réalisée par le **logiciel JMP 7 Discovery**.

# Résultats et discussion

## II.1 Activité antioxydant des extraits de *Pistacia atlantica*.

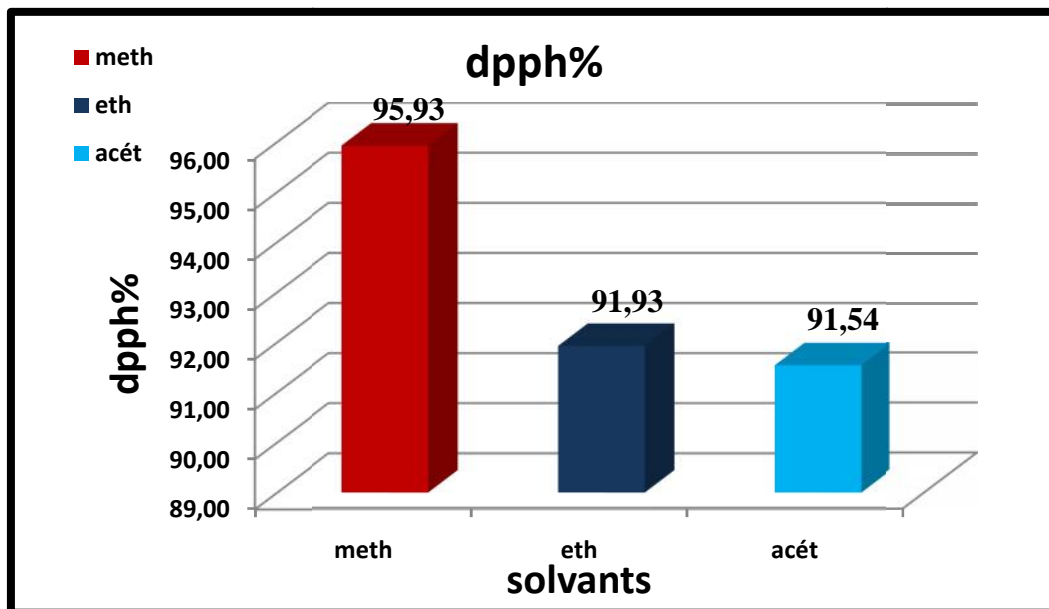
### II-1-1- Effet du solvant sur l'activité antioxydants des extraits de *P. atlantica*

L'analyse par DPPH est l'une des méthodes pour mesurer l'activité antioxydante basée sur un changement de couleur de la solution du violet au jaune (Belma *et al*, 2016). L'activité antioxydante est déterminée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité antioxydant} = [\text{Abs}_{\text{Blanc}} - \text{Abs}_{\text{Echantillon}} / \text{Abs}_{\text{Blanc}}] \times 100$$

$A_{\text{Blanc}}$  : est l'absorbance de la solution de DPPH en l'absence de l'extrait.

$A_{\text{échantillon}}$  : est l'absorbance de la solution de DPPH en présence de l'extrait



**Figure11** : Histogramme du pouvoir antioxydant des différents extraits de *P. atlantica*.

Le graphique représente la variation du pourcentage de l'activité anti radicalaire du DPPH des extraits de *P. atlantica*. en fonction des différents solvants. Les résultats obtenus révèlent que les différents l'extrait des feuilles de *P. atlantica*. Présentaient une activité anti radicalaire dépassant les 90%. L'activité anti radicalaire la plus importante a été enregistrée par l'extrait méthanolique avec 95,93%.alors que les extraits acétoniques et éthanoliques. Présentaient une activité anti radicalaire similaires, avec une activité dépassant 91%.

II-1-2- Effet du ratio Solvant/Echantillon sur l'activité antioxydante des extraits de *P. atlantica*

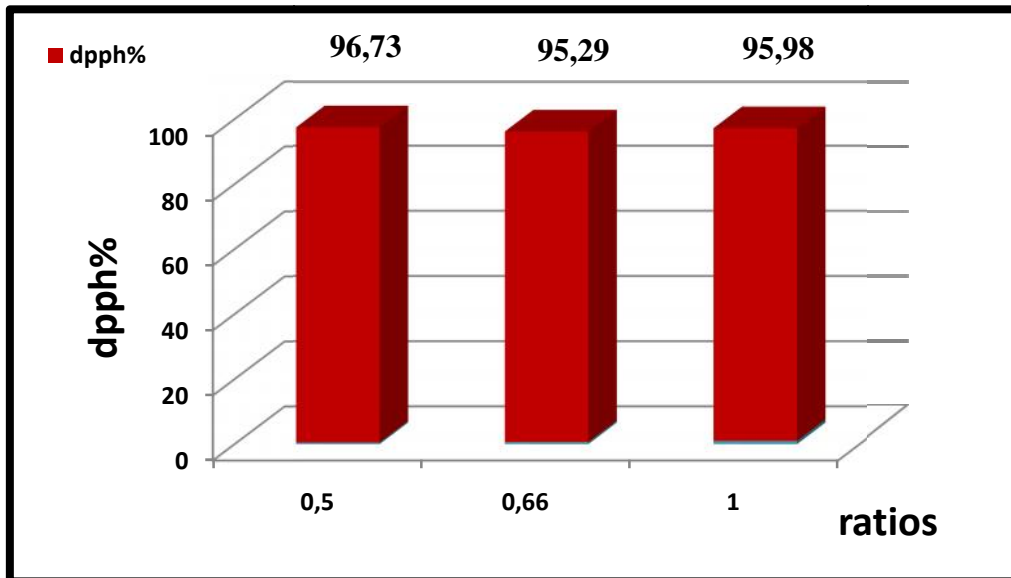


Figure 12 : Histogramme désigne le pouvoir de l'activité anti radicalaire en fonction des ratios pour le méthanol

Le graphique représente la variation du pourcentage de l'activité anti radicalaire du DPPH des extraits de *P. atlantica*. en fonction des différents ratios. Les résultats obtenus révèlent que les différents l'extrait des feuilles de *P. atlantica*. Présentaient une activité anti radicalaire similaires, avec une activité dépassant 95%.

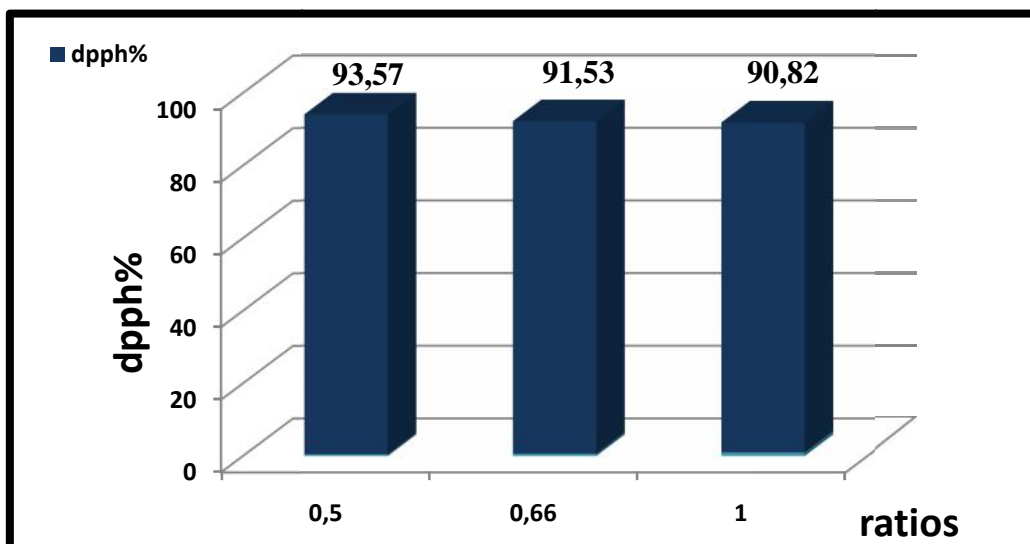
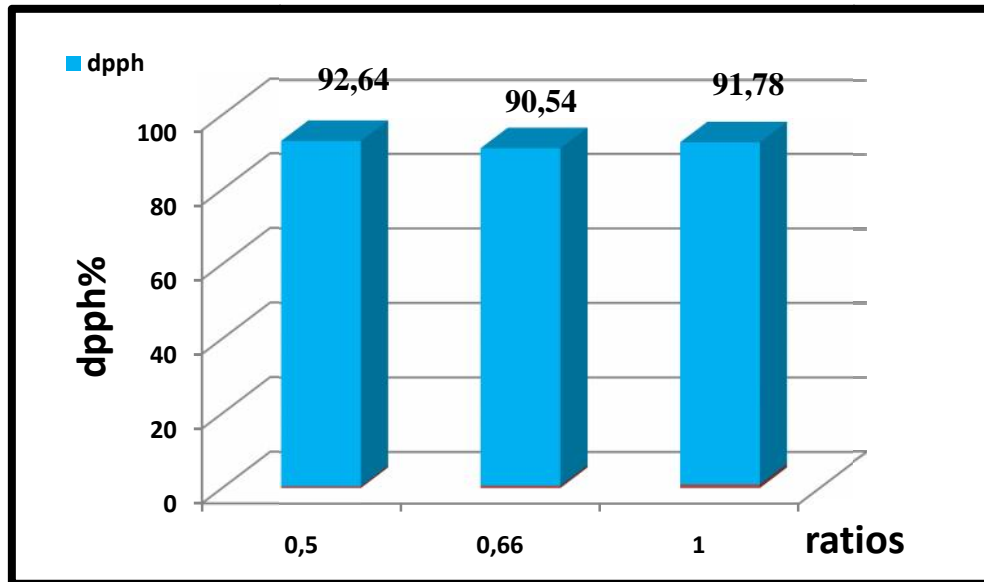


Figure13 : Histogramme désigne le pouvoir de l'activité anti radicalaire en fonction des ratios pour l'éthanol

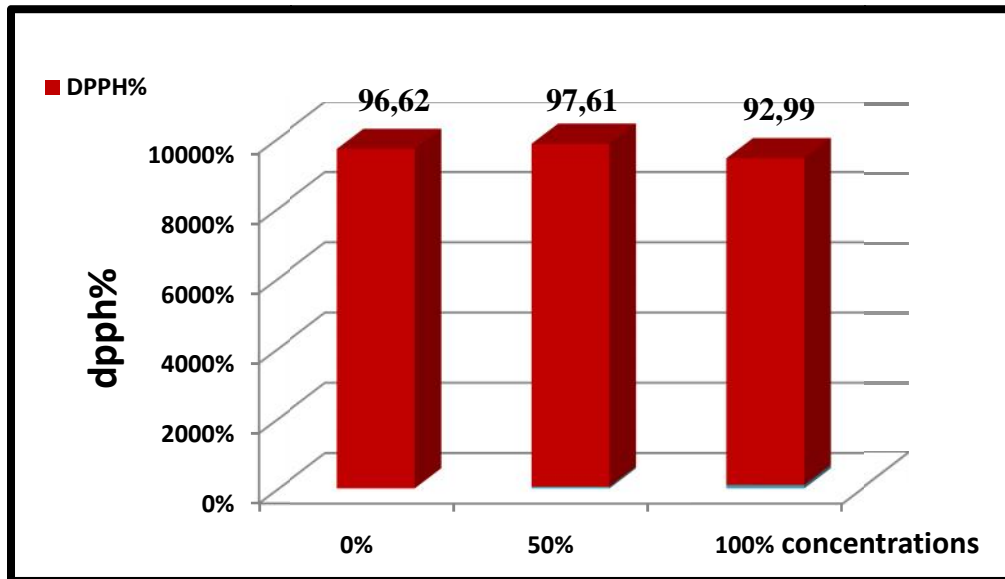
Le graphique représente la variation du pourcentage de l'activité anti radicalaire du DPPH des extraits de *P. atlantica*. en fonction des différents ratios. Les résultats obtenus révèlent que les différents l'extrait des feuilles de *P. atlantica*. Présentaient une activité anti radicalaire similaires, avec une activité dépassant 90%.



**Figure14** : Histogramme désigne le pouvoir de l'activité anti radicalaire en fonction des ratios pour l'acétone

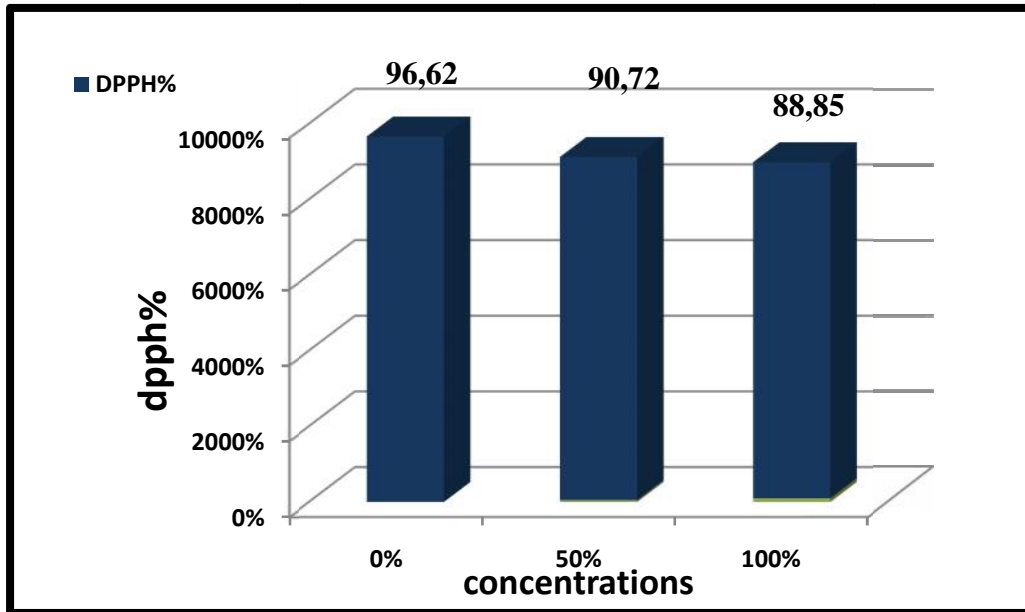
Le graphique représente la variation du pourcentage de l'activité anti radicalaire du DPPH des extraits de *P. atlantica*. en fonction des différents ratios. Les résultats obtenus révèlent que les différents l'extrait des feuilles de *P. atlantica*. Présentaient une activité anti radicalaire similaires, avec une activité dépassant 91%.

**II-1-3- Effet de la concentration du solvant sur l'activité antioxydante des extraits de *P. atlantica***



**Figure 15 :** Histogramme désigne le pouvoir de l'activité anti radicalaire en fonction des concentrations pour le méthanol

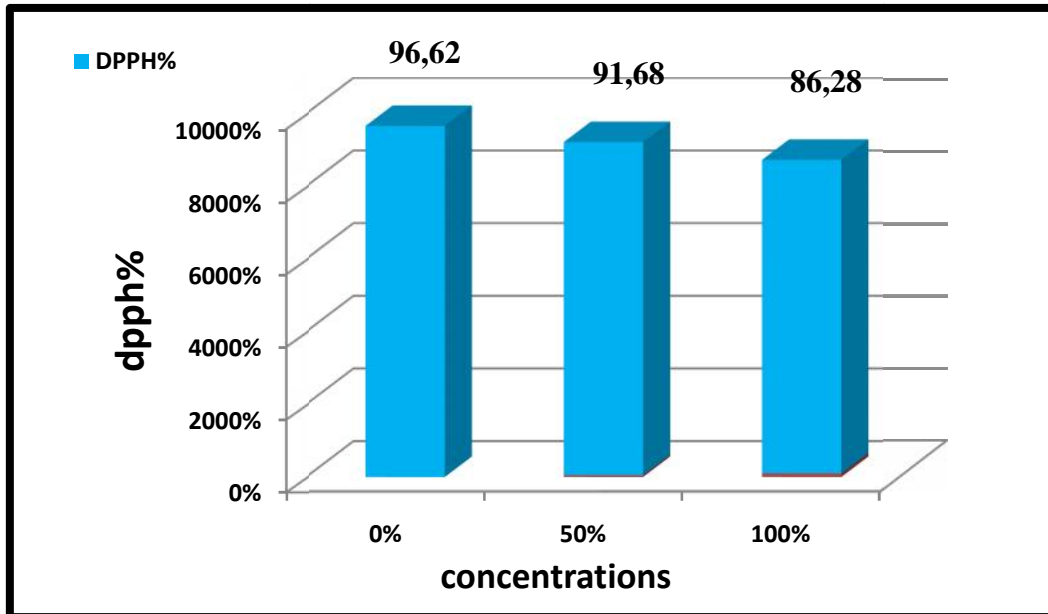
Le graphique représente la variation du pourcentage de l'activité anti radicalaire du DPPH des extraits de *P. atlantica* en fonction des différentes concentrations. Les résultats obtenus révèlent que les différents concentrations ratios présentaient une activité anti radicalaire dépassant les 92%. L'activité anti radicalaire la plus importante a été enregistrée par la concentration 50% avec 97.61%, alors que L'activité la plus faible a été enregistrée par la concentration 0% avec 92.99%



**Figure 16 :** Histogramme désigne le pouvoir de l'activité anti radicalaire en fonction des concentrations pour l'éthanol

Le graphique représente la variation du pourcentage de l'activité anti radicalaire du DPPH des extraits de *P. atlantica* en fonction des différentes concentrations. Les résultats obtenus révèlent que les différentes concentrations ratios présentaient une activité anti radicalaire dépassant les 88%. L'activité anti radicalaire la plus importante a été enregistrée par la concentration 50% avec 96.62%, alors que l'activité la plus faible a été enregistrée par la concentration 0% avec 88.85%.





**Figure 17 :** Histogramme désigne le pouvoir de l’activité anti radicalaire en fonction des concentrations pour l’acétone

graphique représente la variation du pourcentage de l’activité anti radicalaire du DPPH des extraits de *P. atlantica* en fonction des différentes concentrations. Les résultats obtenus révèlent que les différents concentrations ratios présentaient une activité anti radicalaire dépassant les 86%. L’activité anti radicalaire la plus importante a été enregistrée par la concentration 50% avec 96.62%, alors que L’activité la plus faible a été enregistrée par la concentration 100% avec 86.28%,

## II.2 Teneur des flavonoïdes totaux des extraits de *pistacia atlantica*

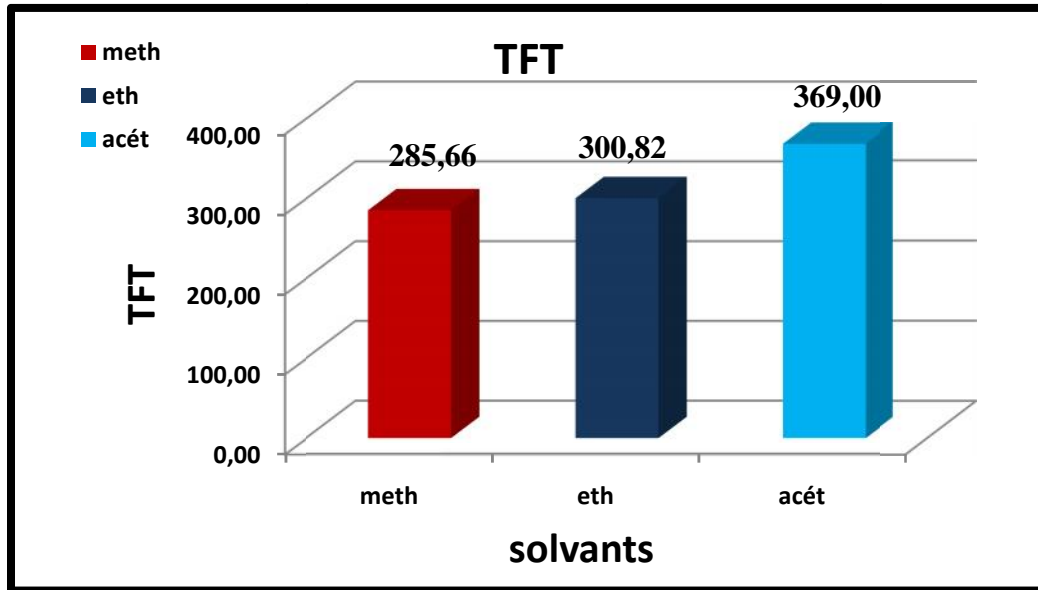
### II-2-1- Effet du solvant sur la teneur des flavonoïdes des différents extraits de *pistacia atlantica*

Les analyses quantitatives du teneur des Flavonoïdes totaux de chaque extrait ont été calculées à partir de l’équation suivant :

$$\left( \frac{\text{Abs}_{\text{Echantillon}} + 0,139}{0,002} \right) / \text{Poids MS}$$

**Abs<sub>échantillon</sub>** : est l’absorbance de la solution du teneur en flavonoïde en présence de l’extrait

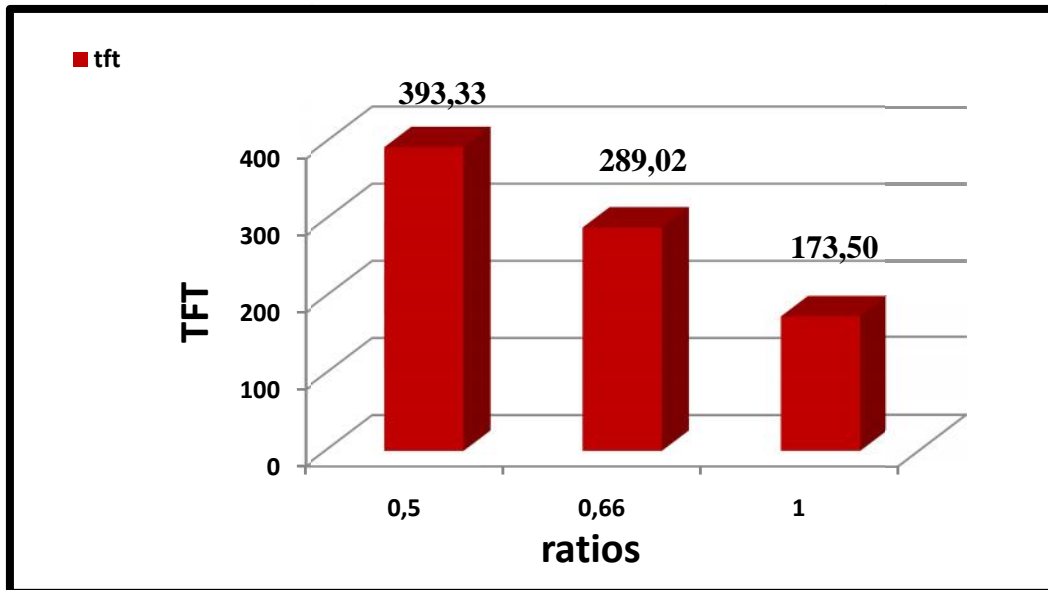
**MS** : c’est la matière sèche



**Figure 18 :** Histogramme de teneur en Flavonoïdes des différents extraits de *P.atlantica*

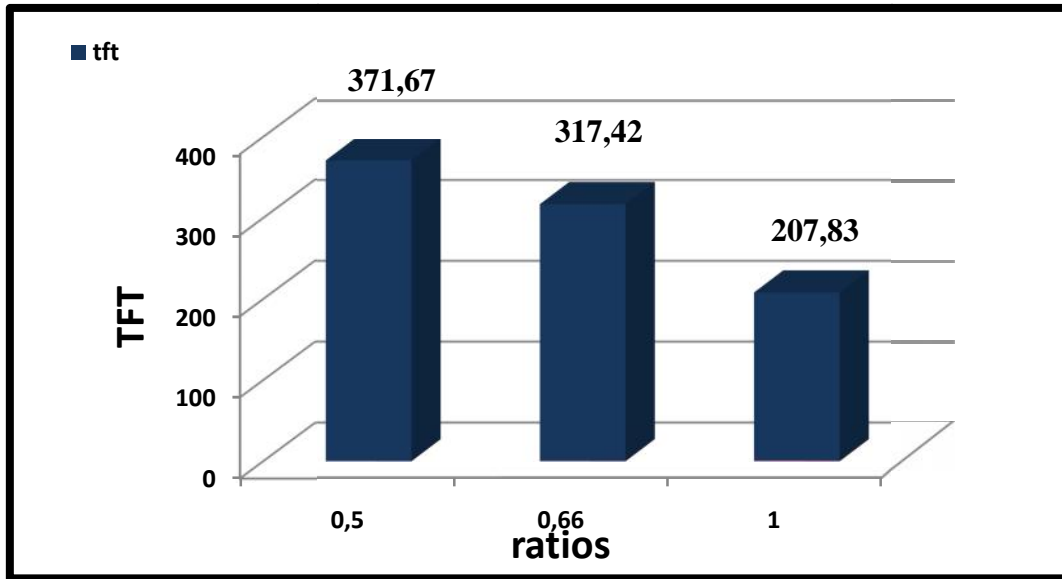
Le graphique représente la variation de la teneur en flavonoïdes des extraits de *P. atlantica*. en fonction des différents solvants. Les résultats obtenus révèlent que les différents extraits des feuilles de *P. atlantica*. Présentaient une teneur en flavonoïde dépassant 250 ug/gMs. La teneur la plus importante a été enregistrée par l'extrait acétonique et éthanolique avec 369,00 ug/gMs et 300,82 ug/gMs, alors que la teneur la plus faible a été enregistrée par l'extrait méthanolique avec 285,66 ug/gMs

II-2-2- Effet du ratio Solvant/Echantillon sur teneur du Flavonoïdes des différents extraits de *P.atlantica*



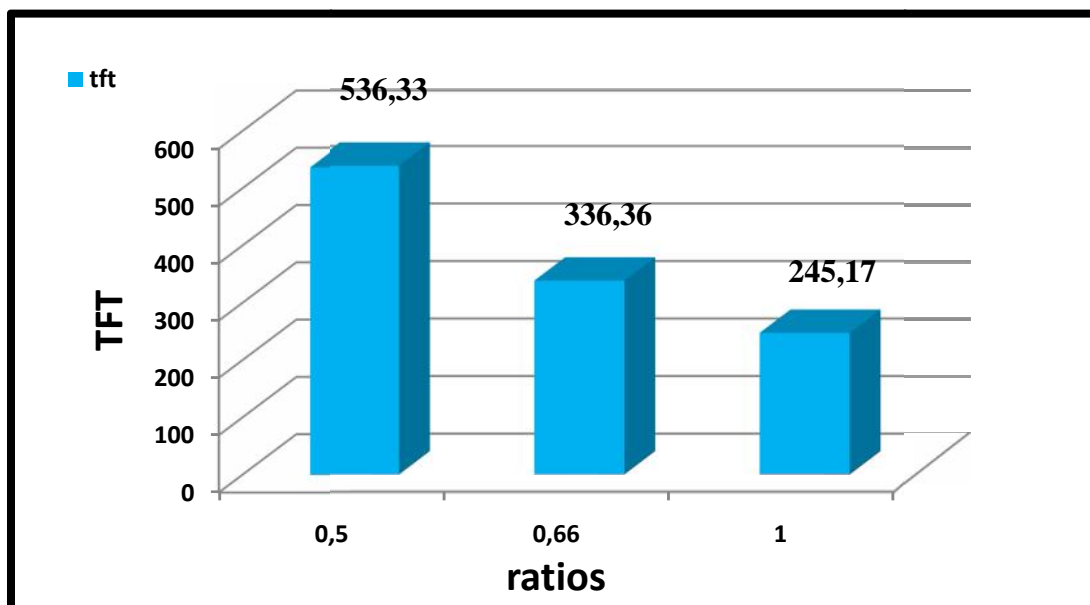
**Figure19** : Histogramme de la teneur des flavonoïdes en fonction des ratios pour le méthanol

Le graphique représente la variation de la teneur en Flavonoïdes des extraits de *P. atlantica*. en fonction des différents ratios. Les résultats obtenus révèlent que les différents ratios présentaient une teneur du Flavonoïdes dépassant 150 ug/g Ms. La teneur la plus importante a été enregistrée par le ratio 1/20 avec 393.33 ug/g, alors que la teneur la plus faible a été enregistrée par le ratio 1/10 avec 173.50 ug/gMs.



**Figure 20 :** Histogramme désigne le teneur du flavonoïde en fonction des ratios pour l'éthanol

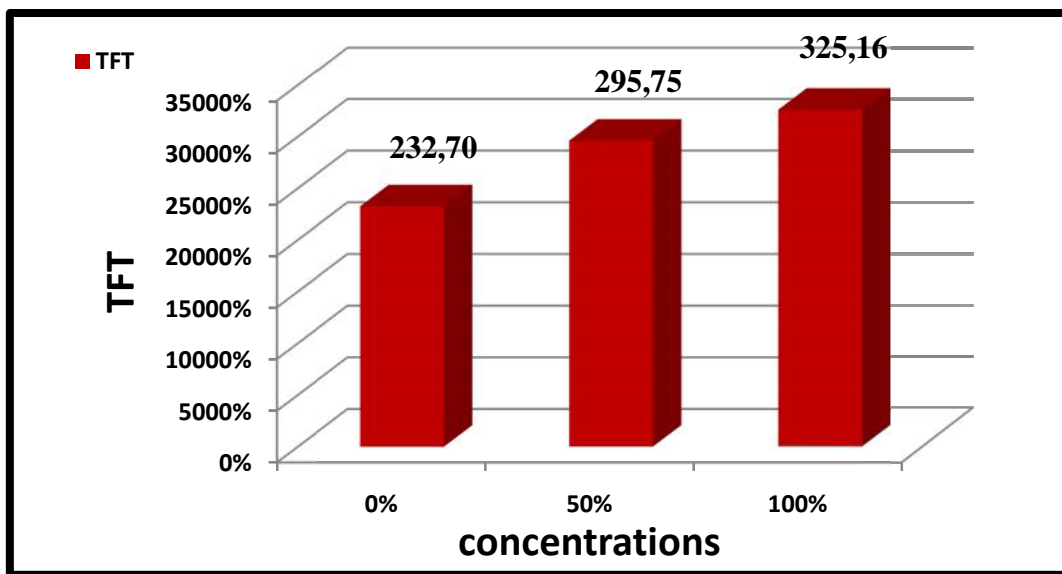
Le graphique représente la variation de la teneur en Flavonoïdes des extraits de *P. atlantica*. en fonction des différents ratios. Les résultats obtenus révèlent que les différents ratios présentaient une teneur du Flavonoïdes dépassant 200 ug/g. La teneur la plus importante a été enregistrée par le ratio 1/20 avec 371.67 ug/gMs, alors que La teneur la plus faible a été enregistrée par le ratio 1/10 avec 207,83 ug/gMs.



**Figure 21 :** Histogramme désigne le teneur du flavonoïde en fonction des ratios pour l'acétone

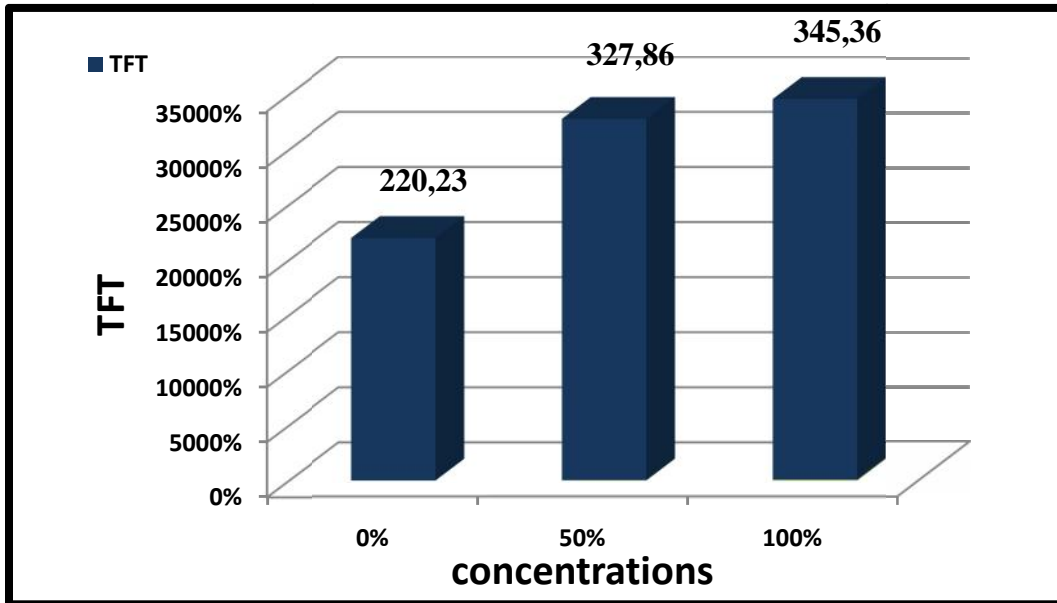
Le graphique représente la variation de la teneur en Flavonoïdes des extraits de *P. atlantica*. en fonction des différents ratios. Les résultats obtenus révèlent que les différents ratios présentaient une teneur du Flavonoïdes dépassant 200 ug/g. La teneur la plus importante a été enregistrée par le ratio 1/20 avec 536,33 ug/gMs, alors que La teneur la plus faible a été enregistrée par le ratio 1/10 avec 245,17 ug/gMs.

**II-2-3- Effet de la concentration du Solvant sur la teneur en Flavonoïdes des différents extraits de *P.atlantica***



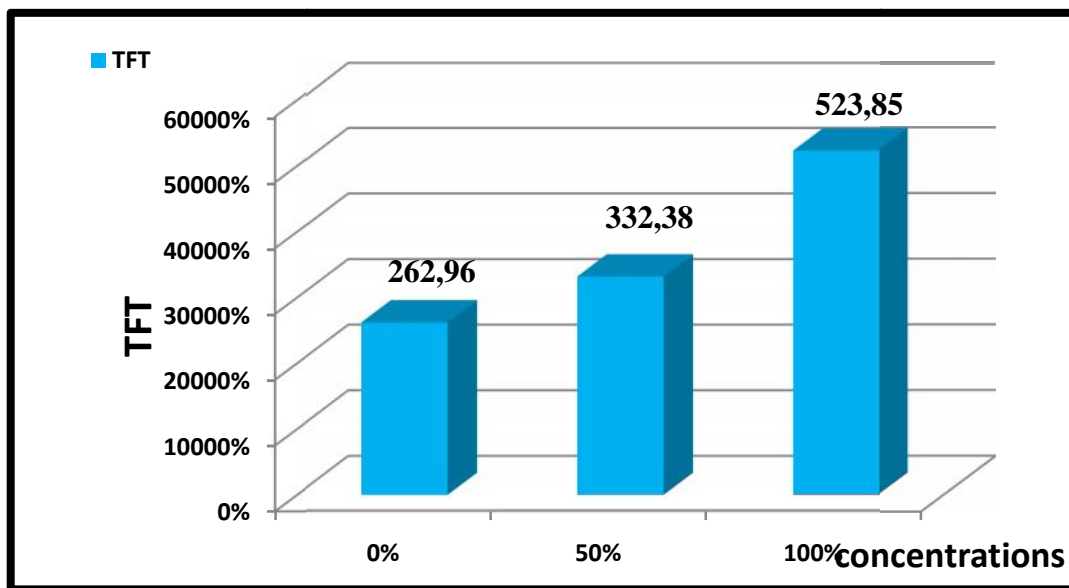
**Figure22 :** Histogramme de teneur du flavonoïde des extraits de *P. atlantica* en fonction de concentration pour le méthanol

Le graphique représente la variation de la teneur en Flavonoïdes des extraits de *P. atlantica*. en fonction de différentes concentrations. Les résultats obtenus révèlent que les différentes concentrations présentaient une teneur du Flavonoïdes dépassant 200 ug/gMs. La teneur la plus importante et a été enregistrée par la concentration 100% avec 325,16 ug/gMs, alors que La teneur la plus faible a été enregistré par la concentration 0% avec 232,70 ug/gMs.



**Figure 23 :** Histogramme de la teneur en flavonoïde des extraits de *P. atlantica* L en fonction De concentration pour l'éthanol

Le graphique représente la variation de la teneur en Flavonoïdes des extraits de *P. atlantica*. en fonction de différentes concentrations. Les résultats obtenus révèlent que les différentes concentrations présentaient une teneur du Flavonoïdes dépassant 200 ug/gMs. La teneur la plus importante et a été enregistrée par la concentration 100% avec 345,36 ug/gMs, alors que La teneur la plus faible a été enregistré par la concentration 0% avec 220,23 ug/gMs.



**Figure 24 :** Histogramme de teneur du flavonoïde des extraits de *P. atlantica* L en fonction De concentration pour l'acétone

Le graphique représente la variation de la teneur en Flavonoïdes des extraits de *P. atlantica*. en fonction de différentes concentrations. Les résultats obtenus révèlent que les différentes concentrations présentaient une teneur du Flavonoïdes dépassant 250 ug/gMs. La teneur la plus important a été enregistrée par la concentration 100% avec 523.85 ug/gMs, alors que La teneur la plus faible a été enregistrée par la concentration 0% avec 262.96 ug/gMs.

### II-3 Optimisation de l'extraction des TFT pour le solvant Acétone

#### II-3-1- Analyse statistique

Les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits (exprimés en  $\mu\text{g EQ/g MS}$ ) des feuilles de *Pistacia atlantica* obtenues à partir des 10 expériences sont répertoriées dans le (**tableau 05**). Les données expérimentales ont été utilisées pour calculer les coefficients de l'équation polynomiale du second degré, et le (**tableau 07**) résume les coefficients de régression obtenus. L'analyse de la variance des teneurs en flavonoïdes totaux a montré une différence hautement significative au seuil de ( $\alpha=0.05$ ) (**Tableau 06**) ce qui prouve que le modèle polynomial du second ordre représentait adéquatement les données expérimentales. Le coefficient de déterminations multiples ( $R^2$ ) pour les réponses des teneurs en flavonoïdes totaux étant de 0,91. Cela signifie que le modèle calculé a pu expliquer 91 % des résultats dans le cas des flavonoïdes totaux.

L'analyse de la variance a également montré qu'il y avait un manque d'ajustement non significatif du modèle, ce qui valide davantage le modèle. La teneur en flavonoïdes totaux moyenne des 10 combinaisons choisies des variables indépendantes, vari de ( $167\mu\text{g EQ/g Ms}$ ) à ( $431,06\mu\text{g EQ/g Ms}$ ) (**tableau 05**).

Tableau 05 : Les résultats obtenus et prévus pour le TFT

Configuration	[Concentration]	Le Ratio	TFT ug/gMs	TFT _Prévue
- -	0	0,05	384	355,07
- +	0	0,1	167	201,16
+ -	100	0,05	816	753,22
+ +	100	0,1	324,5	324,80
- 0	0	0,075	237,87	232,64
+ 0	100	0,075	431,06	493,53
0 -	50	0,05	409	500,70
0 +	50	0,1	244	209,53
0 0	50	0,075	317,42	309,63
0 0	50	0,075	359,09	309,63

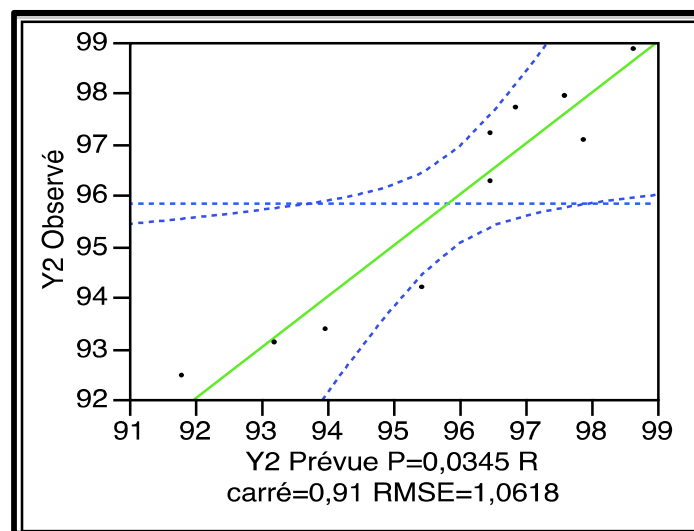


Figure 25 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues

Tableau 06 : Analyse de la variance et défaut d'ajustement

Source	DDL	SC	CM	Rapport F	Prob. > F
Modèle	5	169,04866	33,8097	19,0847	<b>0,0068**</b>
Résidus	4	7,08625	1,7716		
Défaut d'ajustement	3	4,1118261	1,37061	0,4608	<b>0,7629</b>
Erreur pure	1	2,9744200	2,97442		
Total	9	176,13490			



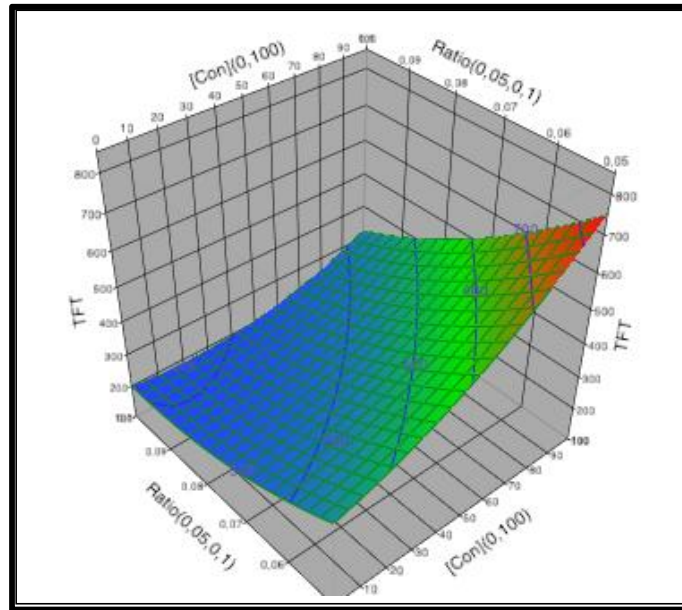
L'équation de régression obtenu après élimination des facteurs non significatifs pour le TFT était :  $YTF = 90,79 - 5,17X_1$

**Tableau 07** : Estimations des coefficients

Termes	Estimation	Erreur Std	Rapport F	Prob. > t
<b>Constante</b>	<b>90,79969</b>	0,79542	114,15	<b>&lt;,0001***</b>
<b>[Con](0,100)</b>	<b>-5,17263</b>	0,54337	-9,52	<b>0,0007***</b>
<b>Ratio(0,05,0,1)</b>	-0,43407	0,54337	-0,80	0,4691
<b>[Con]*Ratio</b>	-0,14100	0,66550	-0,21	0,8426
<b>[Con]* [Con]</b>	-0,51688	0,87134	-0,59	0,5850
<b>Ratio*Ratio</b>	1,754267	0,87134	2,01	0,1144

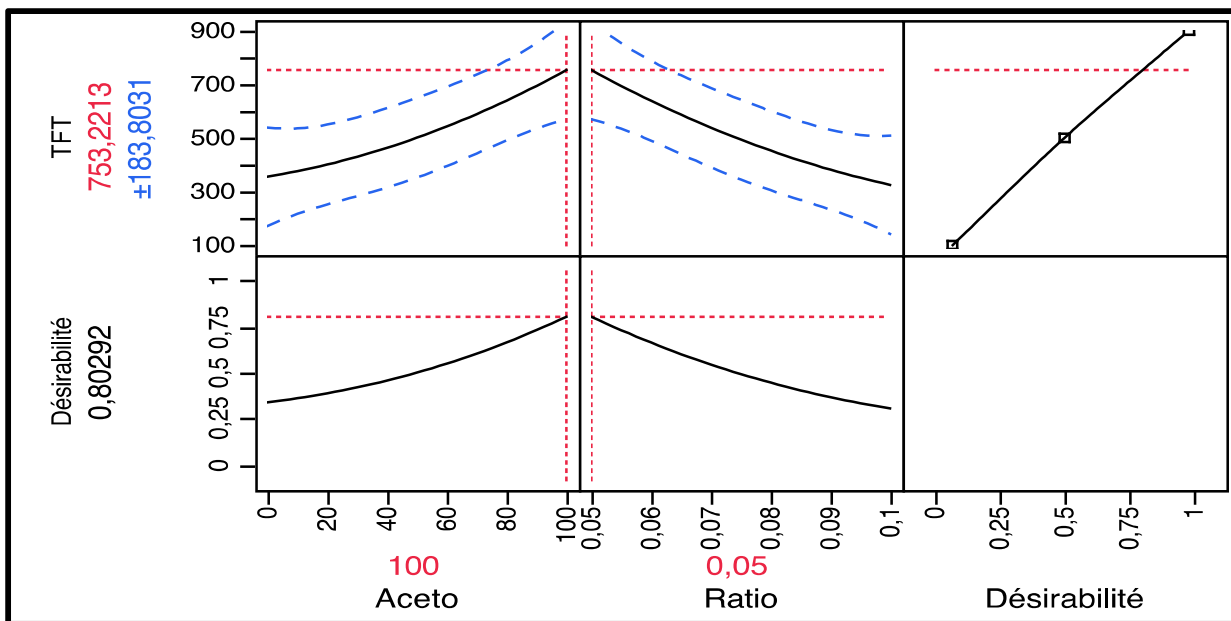
### II-3-2- Analyse des surfaces de réponse

Les surfaces de réponse 3D sont utilisées pour prédire visuellement les réponses futures et pour déterminer les valeurs de facteur qui optimisent la fonction de réponse. La meilleure façon d'exprimer l'effet de n'importe qu'elle variable indépendante sur l'extraction de flavonoïde est de générer des surfaces de réponse du modèle, en faisant varier deux variables dans la gamme expérimentale étudiée et en maintenant les deux autres variables à leur valeurs centrales (Niveau 0).



**Figure 26 :** Diagramme de surface de réponse d'Effet de la concentration et le ratio sur l'extraction des flavonoïdes

Il a été observé que l'effet de la concentration avait une influence significative sur le rendement en flavonoïdes par contre celui du ratio a une faible influence (effet non significatif). Le rendement en flavonoïdes augmente avec l'augmentation de la concentration du solvant. En utilisant la fonction de désirabilité (**Figure 27**), la teneur maximale TF pourra être obtenue avec une concentration de 100 % et un ratio d'extraction de 1/20.



**Figure 27 :** Profilur de prévision pour le TFT

### II-4 Optimisation de l'activité anti radicalaire pour le solvant Méthanol

#### II-4-1- Analyse statistique

L'activité anti-radicalaire des extraits (exprimés en  $\mu\text{g EQ/g MS}$ ) des feuilles de *Pistacia atlantica* obtenues à partir des 10 expériences sont répertoriées dans le (**tableau 08**). Les données expérimentales ont été utilisées pour calculer les coefficients de l'équation polynomiale du second degré, et le (**tableau 10**) résume les coefficients de régression obtenus. L'analyse de la variance de l'activité anti radicalaire a montré une différence significative au seuil de ( $\alpha=0.05$ ) (**Tableau 09**) ce qui prouve que le modèle polynomial du second ordre représentait adéquatement les données expérimentales. Le coefficient de déterminations multiples ( $R^2$ ) pour les réponses de l'activité anti radicalaire étant de 0,96. Cela signifie que le modèle calculé a pu expliquer 96 % des résultats dans le cas de l'activité anti radicalaire.

Pour tous les termes du modèle, un coefficient de régression important et une petite valeur  $p$  indiqueraient un effet plus significatif sur les variables de réponse respectives (**Quanhong et Caili, 2005**). L'analyse de la variance a également montré qu'il y avait un manque d'ajustement non significatif du modèle, ce qui valide davantage le modèle. Le % d'inhibition des 10 combinaisons choisies des variables indépendantes, vari de (92,46%) à (97,95%) (**Tableau 08**).

Tableau 08 : Les résultats obtenus et prévus pour l'activité antiradicalaire

Configuration	[Concentration]	Le Ratio	% D'inhibition du DPPH	%DPPH_Prévue
- -	0	0,05	97,95	97,51
- +	0	0,1	97,72	96,78
+ -	100	0,05	93,37	93,89
+ +	100	0,1	93,11	93,12
- 0	0	0,075	94,19	95,57
+ 0	100	0,075	92,46	91,93
0 -	50	0,05	98,86	98,77
0 +	50	0,1	97,08	98,02
0 0	50	0,075	97,22	96,82
0 0	50	0,075	96,27	96,82

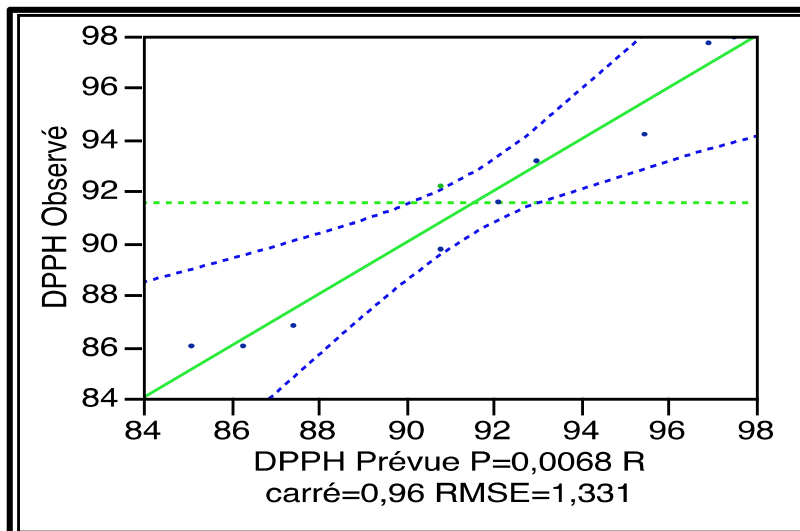


Figure 28 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues

**Tableau 09** : Analyse de la variance et défaut d'ajustement

Source	DDL	SC	CM	Rapport F	Prob. > F
<b>Modèle</b>	5	43,873143	8,77463	7,7826	<b>0,0345*</b>
<b>Résidus</b>	4	4,509869	1,12747		
<b>Défaut d'ajustement</b>	3	4,0664244	1,35547	3,0567	<b>0,3926</b>
<b>Erreur pure</b>	1	0,4434442	0,44344		
<b>Total</b>	9	48,383011			

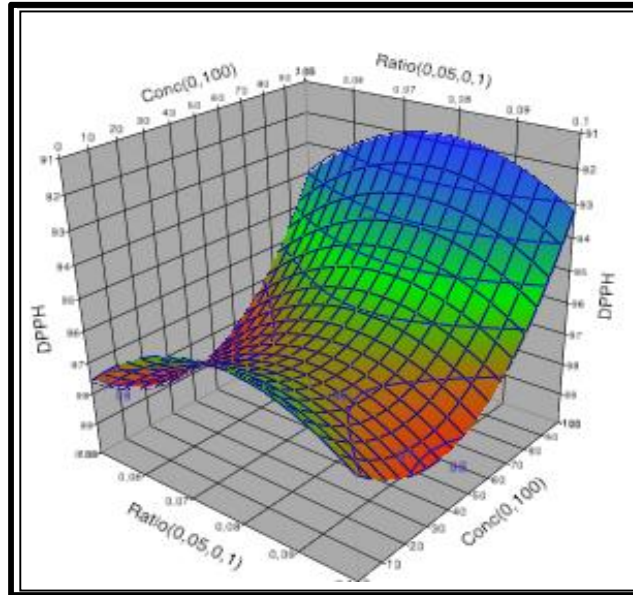
L'équation de régression obtenue après élimination des facteurs non significatifs était :  
 $YDPPH = 96,46 - 1,81X_1 - 2,85 X_1^2$

**Tableau 10** : Estimations des coefficients

Termes	Estimation	Erreur Std	Rapport F	Prob. > t
<b>Constante</b>	<b>96,468703699</b>	0,634560351	152,02	<b>&lt;,0001***</b>
<b>[Con](0,100)</b>	<b>-1,818969803</b>	0,433487245	-4,20	<b>0,0137*</b>
<b>Ratio(0,05,0,1)</b>	-0,377867805	0,433487245	-0,87	0,4326
<b>[Con]*Ratio</b>	-0,008052242	0,5309112801	-0,02	0,9886
<b>[Con]* [Con]</b>	<b>-2,855474117</b>	0,6951260367	-4,11	<b>0,0148*</b>
<b>Ratio*Ratio</b>	1,7891298179	0,6951260367	2,57	0,0617

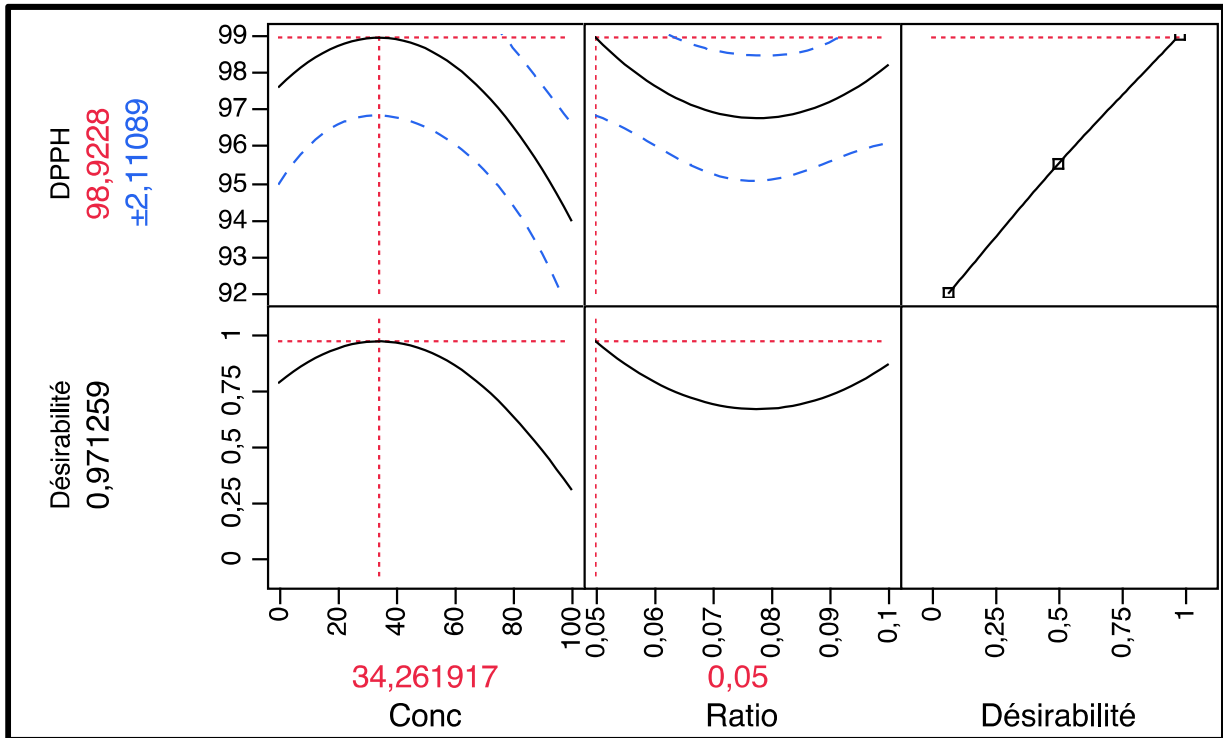
#### II-4-2- Analyse des surfaces de réponse

Les surfaces de réponse 3D sont utilisées pour prédire visuellement les réponses futures et pour déterminer les valeurs de facteur qui optimisent la fonction de réponse. La meilleure façon d'exprimer l'effet de n'importe quelle variable indépendante sur l'extraction de flavonoïde est de générer des surfaces de réponse du modèle, en faisant varier deux variables dans la gamme expérimentale étudiée et en maintenant les deux autres variables à leur valeurs centrales (Niveau 0).



**Figure 29** : Diagramme de surface de réponse d'Effet de la concentration et le ratio sur l'activité antiradicalaire

Il a été observé que l'effet de la concentration avait une influence significative sur l'activité antiradicalaire par contre celui du ratio a une faible influence (effet non significatif). L'activité antiradicalaire augmente avec l'augmentation de la concentration du solvant puis diminue après la concentration de 40%. En utilisant la fonction de désirabilité (**Figure 30**), l'activité antiradicalaire maximale pourra être obtenue avec une concentration de 34 % et un ratio d'extraction de 1/20.



**Figure 30 :** Profil de prévision pour l’activité antiradicalaire

L’optimisation par plans d’expérience est moins couteuse et consomme moins du temps par rapport aux méthodes classiques car plusieurs paramètres sont testés simultanément avec un nombre d’expériences minimale d’une manière à trouver les interactions entre les variables (MONTGOMERY, 2001). Ils offrent une grande quantité d’information à partir d’un nombre réduit d’essais (Bas et Boyaci, 2007).

À l’aide des équations prédictives de RSM l’activité antiradicalaire totale a été déterminée après extraction des flavonoïdes dans des conditions optimales. Les valeurs expérimentales et prédites ont été comparées afin de déterminer la validité du modèle. Les conditions d’extraction optimales ont été estimées par analyse de régression et tracés de surface de réponse tridimensionnelle (3D) des variables indépendantes et de chaque variable dépendante

L’extraction solide-liquide ou lixiviation peut être définie comme un phénomène de transport de masse dans lequel les solides contenus dans une matrice solide migrent dans un solvant mis en contact avec la matrice (Ignat *et al.*, 2011). Les phénomènes de transport de masse peuvent être améliorés par des changements dans les gradients de concentration, les coefficients de diffusion ou la couche limite (Corrales *et al.*, 2009). L’efficacité de l’extraction

est connue pour être fonction des conditions du processus. Plusieurs facteurs affectent la concentration des composants désirés dans l'extrait : température, le solvant utilisé et sa concentration, le rapport liquide-solide, taille des particules...etc. Par exemple, dans notre essai, le taux des flavonoïdes le plus élevé a été obtenu avec l'acétone comme solvant avec une concentration de 66% et un rapport solide-liquide de 0,05 (1/20). Alors que la teneur optimale des composés responsable pour l'activité antioxydante, a été obtenue avec l'eau comme solvant avec un rapport solide-liquide de 0,078 (1/13). Nos résultats sont en accord avec ceux reportés par Koleva et Simeonov (2014), qui stipulaient que le maximum de la teneur en flavonoïdes a été obtenu avec l'éthanol à 50% comparé au méthanol, or nous avons trouvés que le maximum de la teneur en flavonoïdes a été obtenu avec les solvants acétone et éthanol à 50% avec 338,21235  $\mu\text{g EQ/g Ms}$  et 325,16  $\mu\text{g EQ/g Ms}$  respectivement.

Le ratio liquide-solide est une variable importante. Les flavonoïdes ne peuvent pas être complètement extraits si ce rapport est trop élevé, alors que les coûts du processus augmenteraient si le ratio est trop faible (Liu *et al.*, 2015).

On remarque que la quantité des composés phénoliques dans les 30 extraits des feuilles des *pistacia atlantica* pour les trois solvants (méthanol, éthanol, acétone) est très faible (285,66- $\mu\text{g/g}$  à 369,0  $\mu\text{g/g}$ ) d'extrait

Comparativement à d'autres travaux effectués sur la même plante, on peut dire que notre teneur en composés phénoliques est très faible de celle de Benamar *et al.* (2010) qui était de 407.68  $\mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait est faible par rapport à celle de Yousfi *et al.* (2009) qui a obtenu 117.3  $\mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait

La richesse de *P. atlantica* en polyphénols a été confirmée par certains auteurs sur d'autres espèces. Les feuilles de *P. atlantica* sont plus riches en phénols totaux ( $136.25 \pm 18.9$  mg EC/ g d'extrait) et faibles en flavonoïdes ( $12.93 \pm 1.69$  mg équivalent de quercétine/ g d'extrait) (Atmani *et al.*, 2009), par rapport aux fruits de *P. atlantica* où nous enregistrons des teneurs en polyphénols, en flavonoïdes de l'ordre de  $285.956 \pm 10.257$ ,  $12.441 \pm 0.256$  respectivement. (Goli *et al.*, 2005)

Si on compare nos résultats de taux de flavonoïdes totaux avec les résultats des travaux sur *pistacia atlantica* on trouve que la teneur en flavonoïdes est inférieure à celle trouvée par Ebrahimzadeh *et al.*, (2008) qui montrent que la teneur en phénols



significativement la plus élevée a été trouvée avec l'extrait hydro alcoolique de *P. atlantica* ( $97.26 \pm 0.003$  mg EQ AG/ g) et les flavonoïdes ( $8.21 \pm 0.008$  mg Eq Q/ g). Suivie par l'extrait aqueux de la même plante ( $87.79 \pm 0.0173$  mg EQ AG/ g). Le même auteur signale que les teneurs en flavonoïdes ( $8.21 \pm 0.008$  mg Eq Q/ g) ont été trouvées avec l'extrait hydro alcoolique des feuilles de *P. atlantica* Remila *et al* (2015) Confirment une teneur élevée en polyphénols ( $429.58 \pm 3.26$  mgCatE/gE) et ( $139.38 \pm 3.11$  mgCatE/gE) en flavonoïdes dans les extraits de feuilles du *P. atlantica*

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

Le succès dans la procédure d'extraction dépend, non seulement de la méthode (Pool *et al*, 1990), mais aussi d'autres paramètres tels le solvant, la température, le temps et la partie utilisée de la plante (Hernández *et al*, 2009). Dans la littérature, différents solvants ont été utilisés pour l'extraction des métabolites secondaires, parmi eux l'éthanol avait un pouvoir élevé d'extraction des flavonoïdes (Lonni *et al*, 2012).

Maintes publications ont rapporté que l'activité antioxydante est fortement corrélée avec la teneur en flavonoïdes (Fang *et al*, 2009 ; Xia *et al.*, 2010 ; Ignat *et al.*, 2011 ; Piluzza *et Bullitta*, 2011 ; Beghlal *et al.*, 2016). Cependant, l'extrait éthanolique du *Pistacia atlantica*, dans notre essai, exhibait une forte activité antioxydante, malgré sa faible teneur en flavonoïdes. Nos résultats sont en parfaite accord avec ceux rapportés par Beghlal *et al.* (2016), qui affirmaient que les extraits éthanoliques du *Pistacia lentiscus* montraient une forte activité antioxydante comparée aux huiles essentielles de la même plante. Dans leurs travaux, l'activité antioxydante du *Pistacia lentiscus* a été attribuée, majoritairement, aux tannins, saponines et coumarines. Ceci est expliqué par le fait que la présence de substances phénoliques spécifiques dans l'extrait est influencée par le génotype, la qualité du sol, le climat et les conditions de stress du milieu (Castro-López *et al*, 2016).

# **Conclusion générale**

### Conclusion générale

L'objectif de l'étude de pistachier de l'atlas *pistacia atlantica* est l'évaluation les propriétés antioxydants la teneur en flavonoïdes totaux de cette plante

Dans la première partie, la quantification par des méthodes spectrophotométriques nous a permis de déterminer les teneurs en flavonoïdes totaux par le trichlorure d'aluminium et l'étude des propriétés antioxydants des extraits bruts de *pistacia atlantica* dans la wilaya de kenchela.

La deuxième partie sur l'évaluation de l'effet des différents facteurs étudiés (solvant, concentration et ratio) sur les teneurs en flavonoïdes et l'activité antioxydant.

Les résultats obtenus nous a mené à conclure que les feuille de *P.atlanticas* de cette région exhibaient des teneurs moyenne à faible en flavonoïdes, est doué d'une activité antioxydant intéressante. Aussi que l'extrait Acétonique des feuilles de *P.atlantica*. Présentait la teneur en flavonoïdes les plus élevées (369 ug/g), alors que l'activité antioxydant la plus élevé a été enregistré par l'extrait méthanolique.

Les résultats obtenus constituent un réel avantage contre le stress oxydant.

**Référence  
bibliographique :**

### Référence bibliographique

Abdelkrim H., 1985- Les Dayates (1) du Sud de l'Atlas Saharien (Algérie). Colloques phytosociologiques XIII, Végétation et géomorphologie, Bailleul. Pp. 361-371.

Al-saghir M. G., 2006 - Phylogenetic Analysis of the Genus Pistacia (Anacardiaceae) Thèse, doc. Univ. Virginia

Alyafi, J. 1979. Approches systématiques et écologiques du genre Pistacia dans la région méditerranéenne. Thèse de 3ecycle. Faculté des sciences et techniques de St.-Jerome, Marseille, France.

Arefi, H.M., Abdi, A., Saydian, S.E., Nasirzadeh, A., Nadushan, H.M., Rad, M.H., Azdoo, Z., Ziedabadi, D.D., 2006. Genetics and breeding of Pistacia atlantica in Iran. Acta Hort. 726, 77–81.

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

Bardeau F. (2009) Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Edit. Fernand Lanore, 315p

Barrero, A.F., Herrador, M.M., Arteaga, J .F., Akssira ,M., Millouki, F., Belgarrabbe, A., Blazquez, M.A., 2005 . Chemical composition of the essential oils of Pistacia atlantica Desf. Journal of Essentiel Oil Research, 17 (1), pp: 52-54.

Belhadj S 2003. Les Pistacheraies Algériennes : Etat actuel et dégradation. Centre universitaire de Djelfa., 107-109.

Belhadj S., 1999. Pistachio situation in Algéria. FAO-CIHEAM-NUCI news letter. n°8. P.30

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

Belhadj, S., 2001 .Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation. Option méditerranéennes. XIème colloque du GREMPA sur le pistachier et l'amandier, vol. 56, pp. 107-109.

Belhadj,S., Derridj, A., Aigouy, T., Gers, C., Gauquelin, T., Mevy, J.P., 2007. Comparative morphology of leaf epidermis in eight populations of atlas pistachio (Pistacia atlantica Desf., Anacardiaceae). Microsc. Res. Technol. 70, 837–846.

Bellakhder, J., 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle; Médecine arabe ancienne et savoir populaire. Ibis Press, Saint Etienne, p. 764.

- Benabderrahmane M., Benali M., Aouissat H. et Jordan Bueso M.-J., 2009. Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. de l'Algérie. *Phytothérapie*, 7, 304-308.
- Benhammou, N., Bekkara, F.A., Panovska, T.K., 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extract. *African Journal of Pharmacology* 2 (2), pp, 22-28.
- Benhassaini H, belkhodja M., 2004 - Le pistachier de l'Atlas en Algérie : entre survie et disparition. *La feuille et l'aiguille*, N° 54, pp 1-2.
- Benhassaini H, Mehdadi Z, Hamel L, Belkhodja M, 2007. Phytoécologie de *Pistacia atlantica* Desf. sub. sp. *atlantica* dans le Nord-ouest algérien. *Ed sécheresse* vol : 18(3) John Libbey Eurotext. 199-205
- Benhassaini H., Bendahmane M. et Benchalgo N., 2007. The Chemical Composition of Fruits Of *Pistacia atlantica* Desf. Subsp. *atlantica* From Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, 43, 121-124.
- Benhassaini, H., Bendeddouche, F.Z., Mehdadi, Z., Romane, A. (2008). GC/MS analysis of the essential oil from the oleoresin of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* from Algeria. *Nat. Prod. Commun*, 3: 929–932.
- Bosabalidis, A.M., Kofidis G., 2002. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. *Plant Sci* 163:375–379
- Bracke M., B. Vyncke, G. Opdenakker, J.M. Foidart, G. De Pestel et Mareel M. (1991). Effect of catechins and citrus flavonoids on invasion in vitro. *Clin Exp Metastasis*, 9:13- 25.
- Bravo L., (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56 (11): 317-333.
- Bruneton J. (1993). *Pharmacognosie, Photochimie, Plantes Médicinales*, Tec etDoc, Ed :Lavoisier, Paris, 915.
- Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 3ème éd. Tec et Doc. Paris, 658p..
- Brunton J. (1987). *Elément de phytochimie et de pharmacologie*, Ed : Lavoisier 156-407
- Castola, V., Bighelli, A., Casanova, J., 2000. Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica. *Biochem Syst Ecol* 28:79–88.
- Chaba, B., Chraa, O., Khichane, M., 1991 . Germination, morphogénèse racinaire et rythmes de croissance du Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.). *Physiologie des Arbres et Arbustes en zones arides et semi-arides*, Groupe d'Etude de l'Arbre- Paris, France, pp. 465-472.

- Chaudhry P.S., J.Cabrera, H.R. Juliani et S.D. Varma (1983). Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin. *Biochem Pharmacol*, 32:1995.
- Chen Lui K.C.S., S.S. Lee, J.F. Chiou et E. Ren (1999). *Science et Lien*, E.J, 65 : 43- 46
- Chopra R.N., Nayar S.L. and Chopra I.C., (1986). Glossary of Indian medicinal plants (Including the supplement). Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi.
- Chu S.C., Y.S. Hsieh et Lin J.Y (1992). Inhibitory effects of flavonoids on Moloney murin leukemia virus reverse transcriptase activity. *J Nat Prod.*, 55: 179-183.
- Crossa-Raynaud, P.,1984 .Quelques productions fruitières dependant d'une pollinisation anemogame: noyer, noisetier olivier, palmier-dattier, pistachier. In P. Pesson & J. Louveaux (Eds), *Pollinisation et productions végétales* (pp. 163–180). Paris: INRA.
- Di Carlo G., N. Mascolo, A.A. Izzo et F. Capasso (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Review. Life Sci*, 65: 337-53.
- Dogan,O., Baslar, S., Aydin,H., Mert ,H.H., 2003: A study of the soil-plant interactions of *Pistacia lentiscus* L. distributed in the western Anatolian part of Turkey. *Acta. Bot. Croat.* 62 (2) , pp.73-88
- Duru, M.E., Cakir, A., Kordali ,S., Zengin, H., Harmandar ,M., Izumid ,S. Hirata ,T., 2003. Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species. *Fitoterapia* 74:170–176.
- Fennane M., Ibn Tattou M., Ouyahya A. and El Oualidi J., (2007). *Flore pratique du Maroc. Manuel de détermination des plantes vasculaires*. 2ème éd. Institut Scientifique. rabat. 636 p.
- Ferguson, L., Sanden, B., Grattan, S., Epstein, L., Klueger, B., 2005. The orchard. Pistachio rootstocks. In: Ferguson, L., Beede, R. H., Freeman, M.W., Haviland, D.R.Holtz, B.A., Kallsen, C.E., Coviello, J. (Eds.), *Pistachio Production Manual*, 4thEdition, Fruit and Nut Research and Information Center, University of California, USA, pp. 67–73.
- Fida, A., 2008. Control of acetic acid fermentation by quorum sensing via N-acylhomoserine lactones in gluconacetobacter intermedium . *Journal of bacteriology*. Volume . 190. Issue : 7. Page : 2546–2555.
- Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C. and Api A.M., (2001). The in vitro dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*, 39: 153-162.
- Ghalem, B.R. et Benali, M., 2009. Bactericidal Activity of *Pistacia atlantica* Desf. Mastic gum against certains pathogens. *African Journal of Plant Science*, 3 (1), pp :13-15.

- Ghestem A., Seguin E., Paris M. and Orecchioni A.M., (2001). Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, Botanique-Pharmacognosie-Phytothérapie-homeopathie. Tec et Doc, 272 p
- Golan-Goldhirsh, A., Barazani, O., Wang, Z.S., KHadka, D.K., Saunders, J.A., Kostiukovsky, V., et Rowland, L.J. 2004. Genetic relationships among Mediterranean Pistacia species evaluated by RAPD and AFLP markers. Plant Syst. Evol.246: 9–18.
- Goli, A.H., Barzegar, M., Sahari, M.A., 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistacia vera*) hull extracts. Food Chem, 92 : 521–525.
- Gourine, N., Yousfi, M., Nadjemi, B., Bombarda, I., 2009. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil of leaves of *Pistacia atlantica* Desf. from Algeria. Asian J. Chem. 21, 1249–1257.
- Graham T.L. (1998). Flavonoid and flavonal glycoside metabolism in arabidopsis. Plant physiol and biochem, 36(1-2): 135-144
- Griel, A. E., Kris-Etherton, P. M., 2006 .Tree nuts and the lipid profile: A review of clinical studies. Br. J. Nutr., 96, 68S–78S.
- Hadj Brahim I., Kerdouch M. et Elrais R., 1998- Le pistachier d'Alep et ces différentes techniques (document en arabe). ACSAD. Administration des études botaniques. Vol.59.162p.
- Hale A.L., (2003). Screening potato genotypes for antioxidant activity, identification of the responsible compounds, and differentiating russet norkotah strains using Aflp and microsatellite marker analysis. Office of Graduate Studies of Texas University. Genetics. 260p.
- Hamdan I.I. et Afifi F.U., 2004. Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. Journal of Ethnopharmacology, 93, 117-121.
- Hatamnia A.A., Abbaspour N. et Darvishzadeh R., 2015. Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits. Food Chemistry, 145, 306-311
- Hertog M.G.L., E.J. Feskens, P.C. Hollman, M.B. Katan et D. Kromhout (1993).Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. Lancet. 342:1007-1011
- Holmes, M.G., Keiller, D.R., 2002. Effects of pubescence and waxes on the reflectance of leaves in the ultraviolet and photosynthetic wavebands: A comparison of a range of species. Plant Cell Environ 25:85–93.
- Hu, F. B., Stampfer, M. J., 1999 . Nut consumption and risk of coronary heart disease: A review of epidemiologic evidence. Curr. Atheroscler. Rep., 1, 204–209.



- IIAli N.A.A., Julish W.D., Kusunick C. and Lindesquist U. (2001). Screening of Yamani medicinal plant for antibacterial and cytotoxic activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 74:173-179
- Iserin, P. (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations, soins. 2nd edition, Dorling Kindersley Limited, Londres
- Isfendiyaroglu, M., Ozeker, E., Misirli, A. & Saglam, H. (2001). Determination of pollinator characteristics of different *Pistacia* spp. in Manisa-Yunt mountain area. In XI GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds. *Cah. Opt. Me´diterr.*, 56, 267–270.
- Izzo A. (1996). PAF and the digestive tract. A review. *J Pharm Pharmacol.*, 48: 1103-11.
- Kafkas, S. 2005. Detection of polymorphic RAPD markers for *Pistacia atlantica* Desf. *Série A. Options Méditerranéennes*, 63: 341–345.
- Kafkas, S., et Perl-Treves, R. 2001. Morphological and molecular phylogeny of *Pistacia* species in Turkey. *Theor. Appl. Genet.* 102: 908–915.
- Kafkas, S., Kafkas, E., et Perl-Treves, R. 2002. Morphological diversity and a germplasm survey of three wild *Pistacia* species in Turkey. *Genet. Resour. Crop Evol.*49: 261–270.
- Kaska N. 1994, The Pistachio in its traditional growing areas. CIHEAM-FAO cours approfondies- production et économie des fruits secs. P.17
- Kaska N., Caglar S. and Kafkas S., (1996). Genetic diversity and germplasm conservation of *Pistacia* species in Turkey. In: Workshop “Taxonomy, distribution, conservation and uses of *Pistacia* genetic resources”, Padulosi S., Caruso T. and Barone E., Palermo, Italy, 1995. IPGRI, Rome, Italy, pp: 46-50.
- Kawashty S.A., Mosharrafa S.A.M., El-Gibali M. et Saleh N.A.M., 2000. The flavonoids of four *Pistacia* species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28, 915-917.
- Khaldi A. and Khouja M.K., (1996). Atlas pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.). North Africa taxonomy, geographical distribution, utilisation and conservation. In: Workshop “Taxonomy, distribution, conservation and uses of *Pistacia* genetic resources”, Padulosi S., Caruso T. and Barone S. Palermo, Italy, 1995. IPGRI, Rome, Italy, pp: 57-62.
- Klaas- Jan, V.D.B., Jerre, V.D.H., Jaap, J.B., Olof, O.S., 1998. Cis-1,4-poly- bmyrcene; the structure of the polymeric fraction of mastic resin (*Pistacia lentiscus* L.) elucidated. *Tetrahedron Lett.* 39:2645–2648.
- Kordali, S., Cakir ,A., Zengin, H., Duru, M.E., 2003 . Antifungal activities of leaves of three *Pistacia* Species grown in Turkey. *Fitoterapia*, 74, pp: 164-167.
- Kris-Etherton, P. M., Hu, F. B., Ros, E., Sabate, J., 2008. The role of tree nuts and peanuts in the prevention of coronary heart disease: Multiple potential mechanisms. *J. Nutr.*, 138, 1746S–1751S

Landolfi R., R.L. Mower et M. Steiner (1984) Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. Structure-activity relations. *Biochem Pharmacol.* 33:1525-153

Larocca L.M., M. Giustacchini, N. Maggiano, F.O. Ranelletti, M. Piantelli, EAlcini. et A. Capelli (1994), Growth- inhibitory effect of quercetin and presence of type II estrogen binding sites in primary human transitional cell carcinomas. *J Urol.* 152: 1029-1033.

Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F. and Tian Y., (2007).Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chimestry*, 102: 771-776.

Lugasi A., H vári J., Sági K.V. and Bír L., (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, 47: 119-125

Maamri S., (2008). Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire de magistère. Université de Boumerdes, Algérie, 109 p.

Maamri Sarah, 2008. Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Thèse de magistère. Université M'HAMED BOUGARA Boumerdes

Maire R., 1926- Carte phytogéographique de l'Algérie et de la Tunisie. 48p.

Makimura M., M. Hirasawa, K. Kobayashi, J. Indo, S. Sakanaka, T. Taguchi et S. Otake (1993). Inhibitory effect of tea catechins on collagenase activity. *J Periodontol.* 64:630-636.

Maria, G.A., Luis, V.J. 2010. Anatomy and fruit development in *schinopsis balansae* (Anacardiaceae) . *Anales del jardin botanico de madrid* . volume : 67. Issue: 2. Page : 103-112.

Martins, S.M., chapeaurouge, A., ferreira, R.T., 2003. Folding intermediates of the prion protein stabilized by hydrostatic pressure and low temperature . *Journal of biological chemistry* . Volume : 278. Issue : 50. Page : 504449-504

Maurice Nicole (1997). De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI<sup>e</sup> siècle, Ed : Lavoisier, Paris, 12-1

Mazza G et E. Miniati (1993) "Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains", C.Press, Boca Raton, 362.12-18

Medi -Šari M., Jasprica I., Smol i -Bubalo A. and Mornar A., (2004). Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoids and phenolic acids. *Croatica Chemica Acta*, 77: 361-366.

Mohammedi Z. (2006) Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magistère, Univ. Tlemcen, 105 p.

Monastra F, M. Rovira , F.J. Vargas, M.A. Romero, I. Battle, D. Rouskas et A. Mendes Gaspar 2000. Caractérisation isoenzymatique de diverses espèces du genre *Pistacia* et leurs hybrides :Etude de leur comportement comme portegreffe du pistachier *Pistacia vera* L. Ed: CIHEAM-Options Méditerranéennes; 135.

Monjauze A. 1980. Connaissance du bétoum *Pistacia atlantica* Desf. Biologie et forêt.Revue Forestière Française, 4 :357-363. 9313

.Monjauze A., 1965- Répartition et écologie de *Pistacia atlantica* Desf. En algérie.bull. Soc. His. Nat. Afr. Nord. Tome 5. 128p.

Monjauze, A., 1967 . Note sur la régénération du Bétoum par semis naturel dans la place d'essais de Kef lefaa. Bull. Soc. Hist. Nat. de l'Afrique du Nord. Alger, 58 (3-4), pp. 59-65.

Monjauze, A., 1968 - Répartition et écologie de *Pistacia atlantica* DESF. en Algérie. Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Du N. N° 56, pp 1–127.

Nemarundwe, N., Ngorima, G., Welford, L., 2008. Cash from the commons : improving natural product value chains for poverty alleviation . Available at : 12 th biennial conference of the International Association for the Study of Commons (IASC)

Ong K.C et H.E. Khoo (1997). Biological Effects of Myricetin. General Pharmacol. 29:121- 126.

Ong K.C et H.E. Khoo (2000). Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. Life Sci. 67: 1695-1705.

Ozeker, E., Isfendiyaroglu, M. & Misirli, A. ,2006. Comparison of different *Pistacia* spp. in terms of pollination biology in the Yunt Mountains of Manisa Province in Turkey. Pak. J. Biol. Sci., 9, 371–376.

Ozenda P., (1983). Flore du Sahara. 2ème éd. Centre national de la recherche scientifique, Paris, France.

Paris M et M. Hurabeille (1981).Abrégé de matière médicale,Ed : Masson, 82-101.

Pourreza,M., Shawb,J.D.,Zangeneh, H., 2008. Sustainability of wild pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.) in Zagros forests, Iran . Forest Ecology and Management 255 (2008) 3667–3671.

Psotová J., Lasovsk J. and Vi ar J., (2003). Metal-chelating properties, electrochemical behavior, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolics. Biomed. Papers, 147(2): 147–153.

- Quézel P. and Santa S., (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2. Centre national de la recherche scientifique, Paris, France.
- Quezel, P., & Medail F., 2003 - Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen, Elsevier, Paris, 117p.
- Razavi, S., 2006. Pistachio production, Iran vs. the World. *Acta Hort.* 726, 689–694.
- Reynaud J. and Lussignol M., (2005). The flavonoids of *Lotus Corniculatus*. *Lotus Newsletter*, 35:75-82.
- Sahli, F., 1997 . Note sur deux espèces forestières sahariennes : Cyprès du Tassili et le pistachier des l'Atlas. Journées d'étude sur les zones arides et sahariennes, du 8 au 10 Avril, Wilaya de Ghardaïa. Publication de l'INRF, pp. 25-41
- Sakagami H., Hashimoto K., Suzuki F., Ogiwara T., Satoh K., Ito H., Hatano T., takashi Y. and Fujisawa S., (2005). Molecular requirements of lignincarbohydrate complexes for expression of unique biological activities. *Phytochemistry*, 66 (17): 2108-2120.
- Scutt A., S. Meghji, J.P. Canniff. et W. Harvey (1987). Stabilisation of collagen by betel nut polyphenols as a mechanism in oral submucous fibrosis. *Experientia*. 43: 391-393.
- Shaddel R., Maskooki A., Haddad-Khodaparast M.H., Azadmard-Damirchi S., Mohamadi M. et Fathi-Achachlouei B., 2014. Optimization of Extraction Process of Bioactive Compounds from Bene Hull Using Subcritical Water. *Food Science and Biotechnology*, 23, 1459-1468.
- Sharayei P., Farhoosh R., Poorazrang H. et Khodaparast M.H.H., 2011. Effect of Bene Kernel Oil on the Frying Stability of Canola Oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 88, 647-654.
- Sheibani A., (1996). Distribution, use and conservation of pistachio in Iran. In: Workshop "Taxonomy, distribution, conservation and uses of Pistacia genetic resources", Padulosi S., Caruso T. and Barone E., Palermo, Italy, 1995. IPGRI, Rome, Italy, pp: 51- 56
- Somon, E. 1987 : Arbres, arbustes et arbrisseaux en Algérie. Office des publications
- Spann, T.M., Beede, R.H., DeJong, T.M., 2007. Preformation in vegetative buds of pistachio (*Pistacia vera* L.): relation to shoot morphology, crown architecture and rootstock vigor. *Tree Physiol.* 27, 1189–1196.
- Stalikas C.D., (2007). Extraction, separation and detection methods of phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 30: 3268-3295.
- Takechi M., Y. Tanaka, M. Takehara, G. I. Nonaka et I. Nishioka (1985). *Phytochemistry*, 24, (10), 2245-2250.

Taran M., Mohebali M. et Esmaeli J., 2010. In Vivo Efficacy of Gum Obtained Pistacia atlantica in Experimental Treatment of Cutaneous Leishmaniasis. Iranian Journal of Public Health, 39, 36-41.

Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarikurkcu, C., Ozturk, M., Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of Pistacia terebinthus. Food Chem, 103 : 816–822.

Tutin T.G., Heywood V.H. and Burgess N.A., (1968). Flora Europaea. Cambridge university Press, Cambridge, UK, vol 2, p. 237.

Tzakou, O., Bazos, I., Yannitsaros, A. , 2007.Volatile Metabolites of Pistacia atlantica Desf. From Greece . Flavour Fragr.J. 22. 358-362.

Veroffa L., M. Dell’agli, A. Giolito, M. Guerini, P. Cabalion et E. Basisio (2001).Journal of NaturalProduct, 64: 603-607.

VlietinckA.J., T. De Bruyne, S. Apers et L.A. Pieters (1997). Planta. Medica., 64 :79-109. 145- WHO, W.H.O.-. 2000 <http://www.who.int/inf-fs/en/fact116.html>.

Yaaqobi A., El Hafid L. and Haloui B., (2009). Etude biologique de (Pistacia atlanticaDesf.) de la région orientale du Maroc, Biomatec Echo, 3 : 39-49.

Yousfi M., Djeridane A., Bombarda I., Chahrazed-Hamia, Duhem B. et Gaydo E.M., 2009. Isolation and Characterization of a New Hispolone Derivative From Antioxidant Extracts of Pistacia atlantica. Phytotherapy Research, 23, 1237-1242.

Yousfi M., Nadjemi B., Bellal R., Ben Bertal D. et Palla G., 2002. Fatty acids and sterols of Pistacia atlantica fruit oil. Journal of the American Oil Chemists' Society, 79, 1049-1050.

Yousfi, M., Nedjemi, B., Belal, R., Benbertal , D., 2003:Étude des acides gras de l’huile de fruit du pistachier de l’Atlas algérien. OCL, vol. 10, n. 5-6, pp. 425-427.

Zangeneh, H., 2003. Ecological requirements of Pistacia atlantica in Kermanshah Province, Iran. J. For. Poplar Res. Special issue: The Second National Symposium on Wild Pistachio. No. 333, pp. 122–130 (in Persian).

Zohary M., (1952). A monographical study of the genus Pistacia. J. series. Vol.5.Palestine Journ Bot, 4 : 187–228.

Zohary M., (1987). Flora Palaestina. Platanaceae to Umbelliferae. Second printing.Academy of Sciences and Humanities, 2: 296–30.

## Résumé :

Ce travail avait pour but l'étude d'une plante médicinale ; le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) d'une région de khenchela, par l'extraction et le dosage des polyphénols et flavonoïdes existants dans les feuilles; puis l'évaluation de leur activité antioxydante. s'est concentré en premier lieu sur l'étude comparative de *Pistacia atlantica* à travers leur teneur en composés phénoliques existants dans les feuilles Puis l'évaluation de leur activité antioxydante, le test d'activité antioxydante montre que ces extraits phénoliques présentent un bon pouvoir antioxydant comparativement aux antioxydants pris comme référence. les feuilles de *pistacia atlantica* de la région de khenchela présente des teneurs moyennes à faible en flavonoïdes .

**Mots clés:** *Pistacia atlantica*, composé phénolique, flavonoïdes, activité antioxydant

## Abstract :

The purpose of this work was the study of a medicinal plant; the pistachio tree of the Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) an area of khenchela . the extraction and the proportioning of existing polyphenols and flavonoïdes in the sheets; then the evaluation of their antioxidant activity .focused first on the comparative study of *Pistacia atlantica* through their content of phenolic compounds existing in the leaves and fruit and the content of their fruits fat on the one hand. Thus on the evaluation of the antioxidant activity.the antioxidant activity test shows that these phenolic extracts have good antioxidant compared with antioxidants used as a reference.*P.atlantica* leaves from the khenchela region exhibited low to medium flavonoid contents .

**Keywords:** *Pistacia atlantica*, , phenolic compounds flavonoïdes , antioxidant activity

## المخلص

يتناول هذا العمل دراسة تجريبية لبننة طبية الفستق الأطلسي (البطم الأطلسي) في منطقة خنشلة وذلك من خلال معايرة عديدات الفينول والفلافونويدات المتواجدة في الأوراق ثم تقييم فعاليتها ضد الأكسدة. ركزنا في بداية الأمر على مقارنة الفستق الأطلسي من خلال كمية المركبات الفينولية المتواجدة في الأوراق ومن ثم تقييم الفعالية ضد الأكسدة تقييم فعالية الأكسدة, النتائج أكدت أن المستخلصات الفينولية لها نتائج جيدة ضد الأكسدة. أوراق الفستق الأطلسي لمنطقة خنشلة أظهرت محتويات الفلافونويد منخفضة إلى متوسطة .

**الكلمات المفتاحية** الفستق الاطلسي المركبات الفينولية ضد الاكسدة الفلافونويدات