

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد الصديق بن يحي - جيجل
Université Mohammed Seddik Ben Yahia –Jijel

Faculté des Sciences de la Nature
et de la Vie
Département de biologie moléculaire
et cellulaire



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention de diplôme Master en biologie

Option : *pharmacologie expérimentale*

Thème

**Investigation *in vitro* de l'activité antioxydant des extraits des
fruits de pistachier lentisque de la région de Jijel dans un
modèle mitochondrie hépatique**

Membres de Jury :

Présidente : Dr . Lahouel Asma

Examinatrice : Dr. Zabaiou Nada

Encadreur : Dr. Benguedouar. Lamia

Présenté par :

Beltas chahrazed

Bouamoucha Hanane

Année Universitaire 2020-2021

Numéro d'ordre (bibliothèque) :



*Tout d'abord nous remercions **DIEU**, qui nous a donné le
courage et la force
pour mener ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier tous ceux qui nous ont aidé de près ou de
loin à élaborer ce travail en particulier notre encadrant **Dr**
BENGADOUAR Lamia,
qui nous a aidé et nous a suivie dans la réalisation de ce travail
D'avoir accepté de le diriger. Nous sommes très reconnaissantes
envers elle*

*Pour son aide, ses conseils, sa compétence et sa présence en tout
moment.*

*Nous adressons nos remerciements aux membres du jury **Zabaiou**
Nada et
Lahouel Asma qui nous ont fait l'honneur d'avoir accepté de
juger notre mémoire de fin d'étude.*



Dédicaces

Avant tout, nous remercions

Allah tout puissant qui nous avons donné le courage

La force et la volonté afin de pouvoir accomplir ce travail.

*Je dédie ce modeste travail à ma très chère mère **Aicha** qui a annulé sa vie pour moi, qui s'est battue et a donné tout ce qu'elle avait pour ce moment et à*

*mon cher père **Messaoud** pour tous qui a donné pour moi*

*A ma cher sœur **Masika**, pour m'avoir toujours poussé vers l'avant tu as toujours ma bougie allumée*

*A ma cher sœur **Djanat** et son marie **mouad** pour son courage, son soutenu*

*Et mes chers frères **Omar**, **Ammar**, et **Mohamed** vous êtes toujours la bougie de ma vie*

*A tous qui porte le nom **Beltas** et a tous qui m'aide d'approche ou de loin*

*Et enfin A mon âme sœur **Roukia**, je suis reconnaissant de vous avoir*

A tous mes collègues de la promotion pharmacologie.

Enfin à tous ceux que j'aime.

CHAHRAZED



Dédicaces

*Avant tout, nous remercions
Allah tout puissant qui nous avons donné
le courage la force la volonté afin de pouvoir accomplir ce travail.*

*Je dédie ce modeste travail à mon très cher père **Messaoud** pour ses
Précieux conseils, ses grands sacrifices pour ma réussite et assurer les
bonnes conditions de vie.*

*A ma très chère mère **Djaouida** à celle que je dois tout, qui a
sacrifié tout pour moi, sa santé, son temps, sa vie juste pour ma
réussite, que ALLAH vous bénisse, vous apporte santé et vous garde
pour nous.*

*A mes chères sœurs « **Imen** », « **Aida** »,*

*A mon cher frère « **Mehdi** ».*

*A mes neveux « **Abde Rahmane** » « **Assim** »*

*A ma cousine « **Maria** »*

*A tous mes amies et surtout « **Abd El Malek** »*

*A tous la famille « **Bouamoucha** »*

A tous mes collègues de la promotion pharmacologie.

Enfin à tous ceux que j'aime.

HANANE

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	IV
Introduction.....	01
Analysebibliographique	
Chapitre I : Stress oxydatif et mitochondrie	
I.1. Mitochondrie	p03
I.1.1. Définition.....	p03
I.1.2. Organisation structurelle de la mitochondrie.....	p03
I.1.2.1. Membrane externe.....	p03
I.1.2.2. Espace intermembranaire.....	p03
I.1.2.3. Membrane interne.....	p04
I.1.2.4. Matrice.....	p04
I.1.3. Fonction de la mitochondrie.....	p04
I.1.3.1. Synthèse de ATP.....	p04
I.1.3.2. Implication de mitochondrie dans l'apoptose.....	p04
I.1.3.3. La chaîne respiratoire et la phosphorylation oxydative	p05
I.1.4. Implication dans le stress oxydatif	p05
I.2. stress oxydant.....	p05
I.2.1. Définition.....	p05
I.2.2. Les espèces réactive de l'oxygène	p06
I.2.3. Principales sources des ERO.....	p07
I.2.3.1. ERO endogènes.....	p07
I.2.3.2. Sources exogènes.....	p08
I.2.4. cibles biologiques du stress oxydant.....	p08
I.2.5. système antioxydant.....	p09
I.2.5.1. Système antioxydant enzymatique.....	p09
I.2.5.2. Système antioxydant non enzymatique.....	p11

I.2.5.2.1. Antioxydants non enzymatiques endogènes.....	p11
I.2.5.2.2. Antioxydants non enzymatiques exogènes.....	p12

Chapitre II : Doxorubicine

II.1. Définition	p14
II.2. Structure	p14
II.3. Pharmacocinétique	p15
II.3.1. Absorption	p15
II.3.2. Distribution	p15
II.3.3. Métabolisme	p15
II.3.4.Élimination.....	p16
II.4. Doxorubicine et pathologie	p16
II.4.1. Doxorubicine comme agent thérapeutique	p16
II.4.1.1.chimiothérapie par doxorubicine	p17
II.4.1.1.1. Interaction dans la molécule d'ADN.....	p17
II.4.1.1.2. Inhibition de l'enzyme topoisomérase II.....	p17
II.4.2.Doxorubicine comme agent toxique (cardiotoxicite)	p18
II.4. 2.1. Mécanisme de cardiotoxicite	p19
II.4.2.1.1. Production des ERO	p19
II.4.2.1.2. Par voie enzymatique.....	p19
II.4.2.1.3.Par voie dépendant des ions ferrique	p20

Chapitre III : Les polyphénols

III.1. Classification des polyphénols.....	p22
III.1.1. Polyphénols simples.....	p22
III.1.2. Acides phénoliques.....	p22
III.1.3. Flavonoïdes.....	p23
III.1.4. Tanins	p24
III.1.5. Les lignanes et les lignines	p25
III.1.6. Les coumarines	p25

Chapitre IV : Généralités sur *pistacia lentiscus*

IV.1. Historique et utilisation traditionnelle.....	p26
IV.1.1. Pistacia lentiscus en Algérie	p26
IV.2. Distribution géographique.....	p26
IV.3. Description botanique.....	p29
IV.3.1. Description morphologique.....	p29
IV.3.2. Classification botanique.....	p30
IV.4. Composition chimique.....	p31
IV.4.1. Composition des feuilles.....	p31
IV.4.2. Composition des fruits.....	p32
IV.4.3. Composition de la résine.....	p33
IV.5. Activités pharmacologiques	p33
IV.5.1. L'activité antibactérienne.....	p33
IV.5.2. L'activités antimicrobiennes et antivirales.....	p33
IV.5.3. L'activité anti-inflammatoires.....	p34
IV.5.4. L'activité antioxydant.....	p34
IV.6. Application industrielle.....	p34

Etude expérimental**Introduction**

I.Etude phytochimique des extraits de PLL.....	P36
I.1.Préparation des extraits des fruits de PLL.....	p36
I.1.1.Extraction par l'éthanol.....	p37
I.1.2. Extraction par l'eau chaud.....	p37
I.2. Dosage des polyphénols	p38
I.3.Dosage des flavonoïdes.....	p38
I.4.Dosage des tanins.....	p38
II.Evaluation de l'activité antioxydant des extraits de <i>Pistacia lentiscus</i>	p39
II.1. L'étude de l'activité antioxydant des extraits <i>in vitro</i>	p39

II.1.1.Reduction du Fer: FRAP (Ferric reducing antioxidant power)	p39
II.1.2.Test de piégeage de peroxyde d'hydrogène.....	p40
II.2.Mesure de l'activité enzymatique-antioxydant sur la mitochondrie isolée	p41
II.2.1. Extraction des mitochondries hépatiques.....	p41
II..2.2. Dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976)	p41
II..2.3. Stimulation des mitochondries hépatiques.....	p41
II..2.4. L'extraction la matrice mitochondriale	p42
II..2.5. Mesure de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD).....	p42
II..2.6. Mesure de l'activité enzymatique de la catalase	p42
Résultats	p45
Discussion	p50
Conclusion	p54
Références bibliographiques	p55
Annexes	

- **Tableau 01** :Principales espèces réactives de l'oxygène
- **Tableau 02** : Structure des principaux composants chimique des feuilles de *Pistacia Lentiscus*
- **Tableau 03** : Rendement d'extraction à partir de la matière végétale sèche
- **Tableau 04** : Teneurs en composants phénolique dans les extraits de *Pistacia Lentiscus L* utilisés

- **Figure 01** : Les origines des différents radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie
- **Figure 02** : Génération des ERO par voie mitochondriale
- **Figure 03** : Génération des ERO par le Cytochrome P450
- **Figure 04** : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR
- **Figure 05** : Principales étapes de production des espèces réactives de l'oxygène
- **Figure 06** : Les structures moléculaires de la doxorubicine et daunorubicine
- **Figure 07**: Biotransformation de la doxorubicine
- **Figure 08**: Mécanisme d'action des anthracyclines : intercalation dans l'ADN et stabilisation de l'enzyme topoisomérase II. 1. ADN 2. Anthracycline 3. Topoisomérase II
- **Figure 09** : Les mécanisme de cardiotoxicité de la DOX
- **Figure 10** : Schéma des différentes voies enzymatiques menant à la formation des radicaux libres à partir de la doxorubicine (Liu, 2003)
- **Figure 11** : Acides hydroxybenzoïque (A) et hydroxycinnamique (B)
- **Figure 12** : Les principales familles des flavonoïdes
- **Figure 13** : Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidines) et (b) d'un gallotanin (1,2,3-tri-O-galloyl- β -D-glucose)
- **Figure 14** : Aire de répartition du genre *Pistacia*
- **Figure 15** : Distribution géographique de *Pistacia* en nord Afrique re *Pistacia*
- **Figure 16** : Aire de répartition de *Pistacia lentiscus* en Méditerranée
- **Figure 17** : Fleurs [A], Fruits rouges [B], noirs [C] et mastic [D] de *P. lentiscus* (L.)
- **Figure 18** : Produits commercialisés à base de *Pistacia lentiscus*. A. Huiles essentielles, B. Huiles végétales, C. Compléments alimentaire, D. Parfums
- **Figure 19** : Réduction du complexe Fe⁺³-TPTZ en Fe⁺²-TPTZ par un antioxydant (Toure., 2015).
- **Figure 20** : Quelques étapes de l'auto oxydation de pyrogallol
- **Figure 21** : pourcentage de réduction des extraits des fruits de *Pistacia lentiscus* et de l'acide ascorbique
- **Figure 22** : pouvoir piégeur du H₂O₂ par les extrait des fruits de *pistacia lentiscus* L
- **Figure 23** : Variation de l'activité enzymatique de la SOD dans la matrice mitochondriale hépatique, après un traitement par le DOXO seul (1 μ m), et en cas de la combinaison l'extrait + DOXO.

- **Figure 24** : Variation de l'activité enzymatique de la CAT dans la matrice mitochondriale hépatique, après un traitement par la DOX seul (1 μ M), ou associée à l'extrait de *pistacia lentiscus L.*

- **AlCl₃**: Trichlorure d'aluminium
- **ATP** : Adénosine Triphosphate
- **ADP** : Adénosine Diphosphate
- **BBC** : Bleu Brillant de Coomassie.
- **BSA**: Bovin Sérum Albumine
- **CAT** : Catalase
- **DOX** : Doxorubicine
- **EAG**: Equivalent Acide Gallique
- **ECT**: Equivalent Cathéchine
- **EDTA** : Acide Ethylène Diamine Tetra Acétique
- **EGTA** : Acide Ethylène Glycol Tetra Acétique
- **EQ** : Equivalent Quercétine
- **ERO** : Espèces Réactive de l'oxygène.
- **FRAP**: Ferric Reducing Power
- **GPX** : Glutathion Peroxydase.
- **GR** : Glutathion Réductase
- **GSH** : Glutathion Réduit.
- **GSSG**: Glutathion Oxydé
- **HCL**: Chlorhydrique
- **H₂O₂**: Peroxyde d'hydrogène
- **K₃Fe**: Ferricyanure de potassium
- **KD**: Kilo Dalton
- **KH₂PO₄**: Phosphate de potassium monobasique
- **NAD⁺**: Nicotineamide Adénine Dinucléotide
- **NADH** : Nicotineamide Adénine Dinucléotide Réduit
- **NADP⁺**: Nicotineamide Adénine Dinucléotide Phosphate.
- **NADPH, H**: Nicotineamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit.
- **NO[•]** : Monoxyde d'azote.
- **O₂^{•-}** : Anion superoxide.
- **OH[•]** : Radical hydroxyle.

- **ONOO -:** Peroxynitrite.
- **ROS :** Reactive Oxygen Species
- **ROOH:** Radical hydroperoxyde
- **rpm:** Rotation Par Minute
- **SOD:** Superoxyde Dismutase.
- **P 450 :** Cytochrome P 450
- **PR:** Pouvoire de Réduction
- **PLL:** *Pistacia Lentiscus l*
- **TIM :** Translocase of the Inner Membrane
- **TOM :** Translocase of the Outer Membrane
- **TS:** Tampon Tris
- **TSE:** Tampon Tris EGTA

Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales sont utilisées comme tous les végétaux en médecine, en parfumerie, en cosmétique et pour l'aromatization culinaire, elles font partie de notre vie quotidienne sans que nous le sachions.

Selon les statistiques de 2003 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80% de la population mondiale a recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire des besoins en soins de santé primaire. D'ailleurs la pharmacopée humaine est riche d'un répertoire de pas moins de 20000 espèces dont 50% est utilisée en industrie pharmaceutique (Anonyme, 2011), Plusieurs médicaments sont dérivés des plantes ou des molécules d'origine végétale (Shakeri et Boskabady, 2015).

Le stress oxydatif est défini, au sein d'un même organisme, comme un déséquilibre entre la production d'oxydants et les mécanismes de défense antioxydants. Ce déséquilibre est étroitement associé à la production en excès des espèces réactives oxygénées (ERO). En effet, les ERO, représentant à la fois des radicaux libres et espèces radical non-libre (Sies, 2019) Cependant, en raison de leur potentiel hautement réactif, l'excès de leur production peut devenir toxique pour les composants majeurs de la cellule comme les lipides, les protéines et les acides nucléiques. Ces dommages peuvent aboutir à de nombreuses maladies chroniques (Liguori et al, 2018).

Les plantes sont aujourd'hui reconnues comme une source riche en composés antioxydants comme les composés phénoliques, les anthocyanines et les flavonoïdes. Il est actuellement admis que la consommation des antioxydants à base de plantes médicinales peut réduire le risque d'apparition de plusieurs maladies humaines liées au stress oxydatif (Tauchen et al.,2015).Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires présents dans les plantes et les produits végétaux (Watson et al., 2019). Les polyphénols restent une classe très intéressante puisque des études récentes ont montré leurs propriétés antioxydants et ces capacités à prévenir l'organisme contre le stress oxydatif (Manach et al, 2004).

L'Algérie par sa situation géographique abrite une importante richesse en plantes aromatiques et médicinales. Parmi elles, se trouve *Pistacia lentiscus* Lconnu en Algérie sous le nom de **Drou ou Darw**,communément appelé arbre de mastique ou lentisque. C'est une plante appartenant à la famille des "Anacardiaceae". Cette plante possède des propriétés dans le traitement de l'athérosclérose, Sa résine et son huile essentielle sont utilisés pour soigner l'ulcère gastroduodéal. Elle est décongestionnante, anti-inflammatoire, antiseptique, et antispasmodique (Chaib, 2015).L'huile de lentisque, est une huile végétative extraite à partir

de l'espèce *Pistacia lentiscus* il est utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement des petites blessures, brûlures légères et érythèmes. Malgré sa large utilisation en médecine traditionnelle, peu de travaux scientifiques ont été réalisés pour déterminer la composition chimique et les propriétés pharmacologiques de *Pistacia lentiscus*. Ceci, nous a poussés à faire une étude sur cette plante.

C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail dont l'objectif principal est d'extraire les molécules bioactives des fruits mure de *Pistacia lentiscus* Lde la région de Jijel, et de déterminer la concentration des polyphénols totaux et des flavonoïdes, et leurs activités antioxydants.

Notre travail comporte deux parties distinctes :

Une partie bibliographique dans laquelle nous réaliserons une synthèse des connaissances concernant *pistacia lentiscus* L, avec des généralités sur le stress oxydant et ces processus de déclenchements.

Une partie expérimentale qui est subdivisée en deux parties :

L'un présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail, l'autre est consacré à la présentation des résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

*Analyse
bibliographique*

I. Stress oxydatif et mitochondrie

I.1. La mitochondrie

C'est en 1930 que les chimistes Karl Lohman découvrirent l'ATP dont la structure fut élucidée quelques années plus tard. La cellule utilise l'ATP comme fournisseurs universel de l'énergie pour la multiplication, différenciation et la réponse aux différents stimuli de l'environnement.

Il a été établi que l'ATP est générée par un organe très important (la mitochondrie) (Iwata et al, 1998) (Yu CA et al, 1998)

I.1.1. Définition

La mitochondrie est un organe au cœur du métabolisme énergétique de la cellule. Elle est la « machine » de synthèse de l'ATP en condition aérobie. Si cette production constitue son rôle le plus connu, la mitochondrie est aussi impliquée dans d'autres mécanismes comme l'homéostasie calcique, l'apoptose et bien sûr la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Alcaraz et al.,2013).

I.1.2. Organisation structurelle de la mitochondrie

Les observations en microscopie électronique, montrent que la largeur moyenne des mitochondries varie de 0.5 à 1 µm, et de 2 à 10 µm de longueur. Elle se compose de deux membranes, une externe et l'autre interne, qui délimitent trois milieux ; extra-mitochondriale (cytoplasme de la cellule), l'espace inter membranaire, et la matrice mitochondriale (Cooper,1999).

I.1.2.1. Membrane externe

Uniforme et continue, perméable à toutes les molécules de 3KD au moins grâce à la présence de porines. Elle contient aussi des translocases, transporteurs protéiques, impliqués dans l'import des protéines (translocase of the outer membrane, TOM) et une NADH cytochrome b5 réductase peu sensible à la roténone) (Alberts et al, 1994).

I.1.2.2. Espace intermembranaire

Est un espace étroit d'environ 100 angströms qui contient une forte concentration en protons rendant ainsi ce compartiment chargé positivement(Mélissa, 2009).

I.1.2.3. Membrane interne

La membrane interne se replie pour former de nombreuses crêtes (cristea). La base d'une crête est souvent constituée d'une structure tubulaire appelée tube de jonction qui assure la Communication entre l'espace interne de la crêtes et l'espace inter-membranaire périphérique (Gilkerson RW et *al*, 2003) (Paolo B et *al*, 1999). Dans cette membrane, on trouve la chaîne respiratoire, l'ATP synthase, de nombreux transporteurs qui assurent le passage d'éléments tels que l'ATP, ADP ...etc. Elle comporte aussi des translocases (translocase of the inner membrane, TIM) et cardiolipine, une structure spécifique des membranes internes des mitochondries et des membranes bactériennes qui est présente dans la structure quaternaire des complexes et apparaît nécessaire pour leur activité (Giuseppe et *al*, 2003) (Smietink et *al*, 2004).

I.1.2.4. Matrice mitochondriale

C'est le compartiment interne de la mitochondrie, siège de nombreuses voies métaboliques telles que le cycle de Krebs et la β -oxydation des acides gras. La mitochondrie, de par son origine endosymbiotique, possède son propre génome (ADN mitochondrial) ainsi que les éléments nécessaires à la synthèse protéique, les mitoribosomes. (Mélissa, 2009).

I.1.3. Fonction de mitochondrie

Les mitochondries exécutent plusieurs tâches au niveau de la cellule.

I.1.3.1. Synthèse de l'ATP

Les mitochondries constituent ce qu'on a coutume d'appeler « la centrale énergétique de la cellule ». La respiration aérobie est le processus de transfert des électrons du NADPH ou du FADH₂ sur l'oxygène moléculaire. Le NADH et FADH₂ sont produits lors de la glycolyse et/ou du cycle de l'acide citrique. Ces deux mécanismes utilisent les acides organiques et autres composés résultants de la dégradation des sucres ou de l'amidon. Le pyruvate, principalement issue de la glycolyse constitue le substrat mitochondrial majeur ; Au cours de cycle de Krebs, son oxydation libère des électrons dont le transfert d'un complexe d'autre de la chaîne respiratoire s'accompagne d'une extrusion de protons. Le gradient de proton ainsi généré est utilisé par l'ATP synthase pour l'élaboration de l'ATP. Par l'ATP, la cellule dispose l'énergie requise pour le déroulement des différents processus biologiques.) (Etienne, 2004) (Duchen, 1999).

I.1.3.2. Implication dans l'Apoptose

La mitochondrie est très essentielle pour la vie des eucaryotes, mais elle peut jouer un rôle intégrateur des voies de la mort cellulaire programmée. Une collection hétérogène des

protéines réside normalement dans l'espace intermembranaire est reléguée dans le cytosol. Ces derniers interfèrent avec des molécules cytosoliques pour induire la cascade apoptotique et la mort cellulaire programmée) (Kroemer et *al*, 2000).

I.1.3.3. Chaîne respiratoire et la phosphorylation oxydative

Dans une cellule eucaryote normale, environ 90 % de l'énergie nécessaire au fonctionnement cellulaire est fournie par la mitochondrie (Rolfe et Brown, 1997). Les réactions de la phosphorylation oxydative, qui ont lieu au niveau de la membrane interne mitochondriale, permettent la transformation de l'énergie contenue dans les nutriments en énergie utilisable par la cellule : l'ATP. Le système de phosphorylation oxydative est composé de la chaîne respiratoire et de l'ATP synthase. La chaîne respiratoire est une chaîne de transport d'électrons constituée de quatre complexes protéiques :

- NADH ubiquinone oxydoréductase ou complexe I
- Succinate ubiquinone oxydoréductase ou complexe II
- Ubiquinol cytochrome *c* oxydoréductase ou complexe III
- Cytochrome *c* oxydase ou complexe IV (Flamment, 2009).

I.1.4. Implication dans le stress oxydant

Une conséquence de la respiration mitochondriale est la génération des électrons impairs. L'interaction de ces derniers avec l'oxygène moléculaire conduit à la synthèse une gamme d'espèces réactive de l'oxygène. En condition pathologique, ces ERO induisent un stress oxydant lorsqu'il y aura un déséquilibre entre la synthèse et leur detoxification) (Rizutto et *al*, 1998).

I.2 stress oxydant

I.2.1. Définition

En situation physiologique, il y a un équilibre parfait entre la production d'ERO et les systèmes de défenses antioxydants.

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre dans la balance entre les Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) et les systèmes de défenses antioxydants, que ce soit par déficit en antioxydants, par suite d'une surproduction de radicaux libres ou une combinaison de ces deux facteurs (Ece et *al*,2007). Les organismes aérobies produisent continuellement des espèces réactives d'oxygène (ERO) comme conséquence inévitable de leur métabolisme (Rudneva, 2014). La réduction partielle par divers processus endogènes entraîne la production constante des petites quantités des espèces hautement réactives d'oxygène (ERO, les oxyradicals) (Regoli et *al*,2011).

I.2.2. Les espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont des dérivés de l'oxygène où certains électrons se trouvent dans un état énergétique excité et très réactionnels (Tableau 01). Elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance dans le métabolisme aérobie (Valko et al., 2007) (Figure 01).

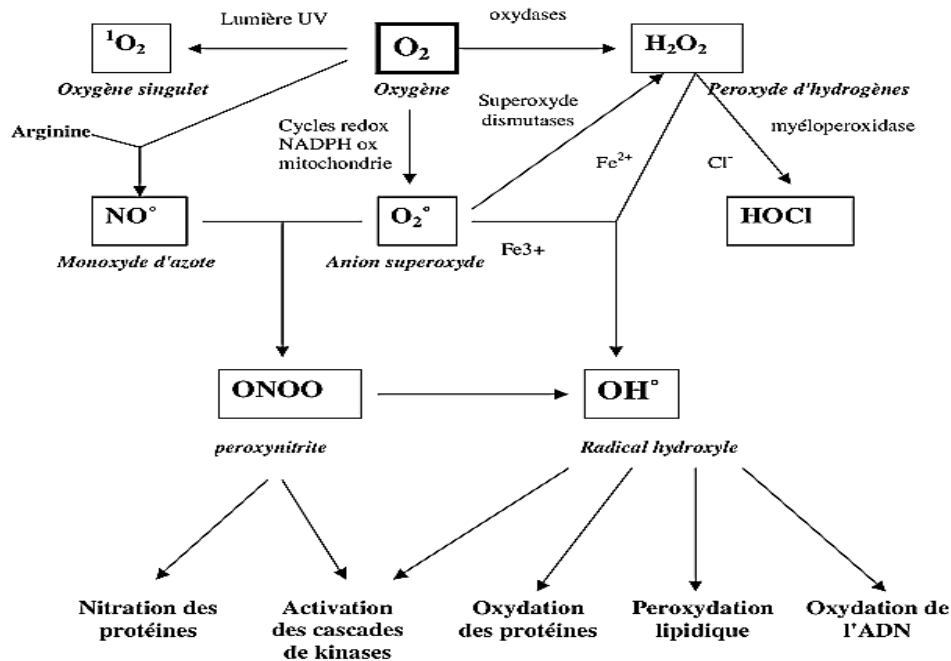


Figure 01. Les origines des différents radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003).

LesERO les plus couramment générés sont présentés dans le tableau.

Tableau 1 : Principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (Bartosz, 2003).

Espèces Réactives dérivées de l'Oxygène (ERO)		Espèces Réactives dérivées de l'Azote (ERN)	
Anion superoxyde	$O_2^{\circ-}$	Oxyde nitrique	$^{\circ}NO$
Radical hydroxyle	$^{\circ}OH$	Peroxynitrite	$ONOO^-$
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	Acide proxy-nitreux	$ONOOH$
Radical Peroxyle	ROO°	Dioxyde de nitrogène	NO_2
Hydro-peroxyde	$ROOH$		
Oxygène singulet	1O_2		
Ozone	O_3		

I.2.3. Principales sources des ERO

I.2.3.1. Les ERO endogènes

Il existe de nombreuses sources endogènes des ERO dont la plus importante est la mitochondrie qui est responsable de la production de 90% des ERO cellulaires (Assis de Silva et Mela, 2014). Au niveau de la mitochondrie, La phosphorylation oxydative représente la principale voie métabolique énergétique assurant une production importante et permanente d'ATP. Cette dernière nécessite l'énergie résultant du transfert des électrons des substrats réduits (NADH et FADH₂) à l'oxygène par l'intermédiaire d'un groupe des transporteurs d'électrons appelés collectivement la chaîne de transport des électrons (Fleury et al, 2002). Cependant, une partie des électrons peut fuir (en particulier des complexes I et III) et réagir avec l'oxygène en produisant l'anion superoxyde (Figure 2). Ce dernier est un médiateur significatif dans de nombreuses réactions en chaîne oxydante (Assis de Silva et Mela, 2014).

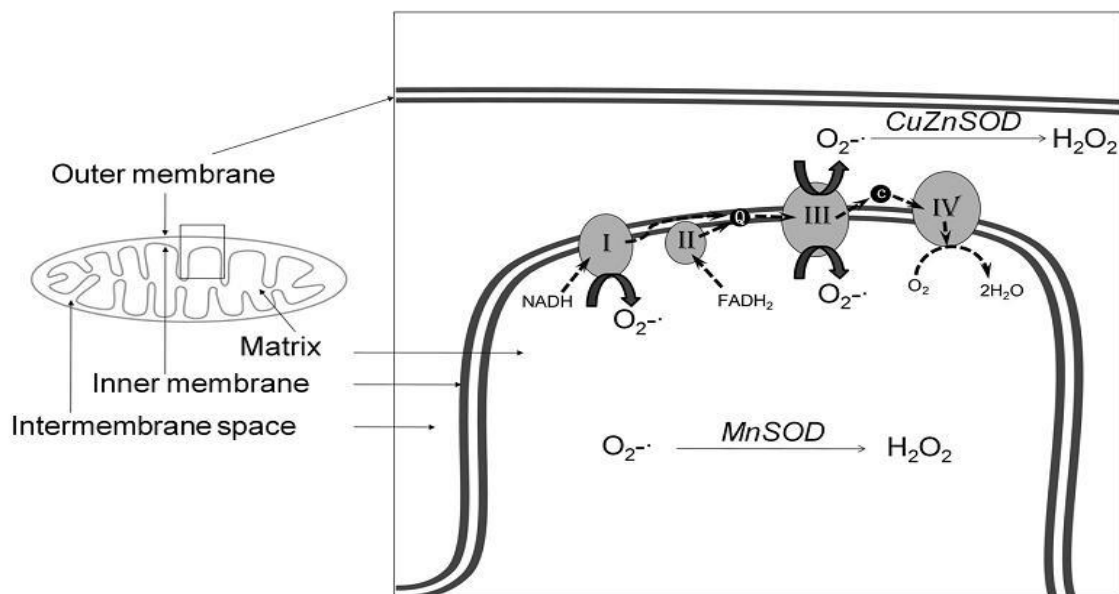


Figure 2 : Génération des ERO par voie mitochondriale.(Assis de Silva et Mela, 2014)

Le réticulum endoplasmique est considéré aussi comme une autre importante source de la production des ROS. En effet, le métabolisme oxydatif des molécules liposolubles est catalysé par le système cytochrome P450 responsable de l'oxydation des composés endogènes et des xénobiotiques contribuent donc à l'augmentation de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène (Figure 3) (Zangar et al, 2004).

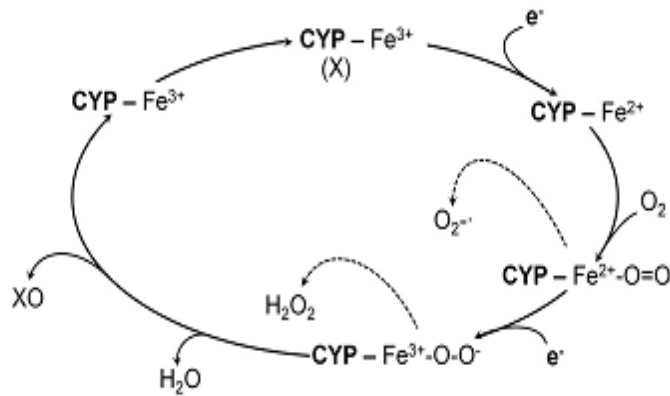


Figure 3 : Génération des ERO par le Cytochrome P450 (CYP) (Boelsterli, 2007).

Certaines quantités des ERO peuvent être produites dans la membrane plasmique par les différentes enzymes oxydatives tels que la xanthine oxydase, le tryptophane dioxygénase, la diamine oxydase, la guanylcyclase, NADPH oxydases et le glucose oxydase (Halliwell et Gutteridge, 1991).

I.2.3.2. Sources exogènes

En plus de nombreux systèmes endogènes responsables de la production des espèces réactives d'oxygène (ERO), il existe de nombreuses sources exogènes contribuant à cette production. Il s'agit principalement des rayonnements électromagnétiques (radiations ionisantes, rayons ultraviolets) (Krumova et Cosa, 2016), mais aussi des composés xénobiotiques environnementaux tels que les dérivés aromatiques et les PCBs (Van der Oost et al, 2003), les HAPs (Nogueira et al, 2011), les pesticides et certains métaux de transitions (Peña-Llopis et al, 2003)

I.2.4. Les cibles biologiques du stress oxydant

A concentration élevée les ERO peuvent engendrer des lésions importantes sur toutes les macromolécules contenues dans les cellules, particulièrement les lipides, les protéines, l'ADN et les glucides la figure 4 ci-dessous présente les différentes cibles biologiques et des dommages oxydatifs induits par les EOR (Koechlin, 2006).

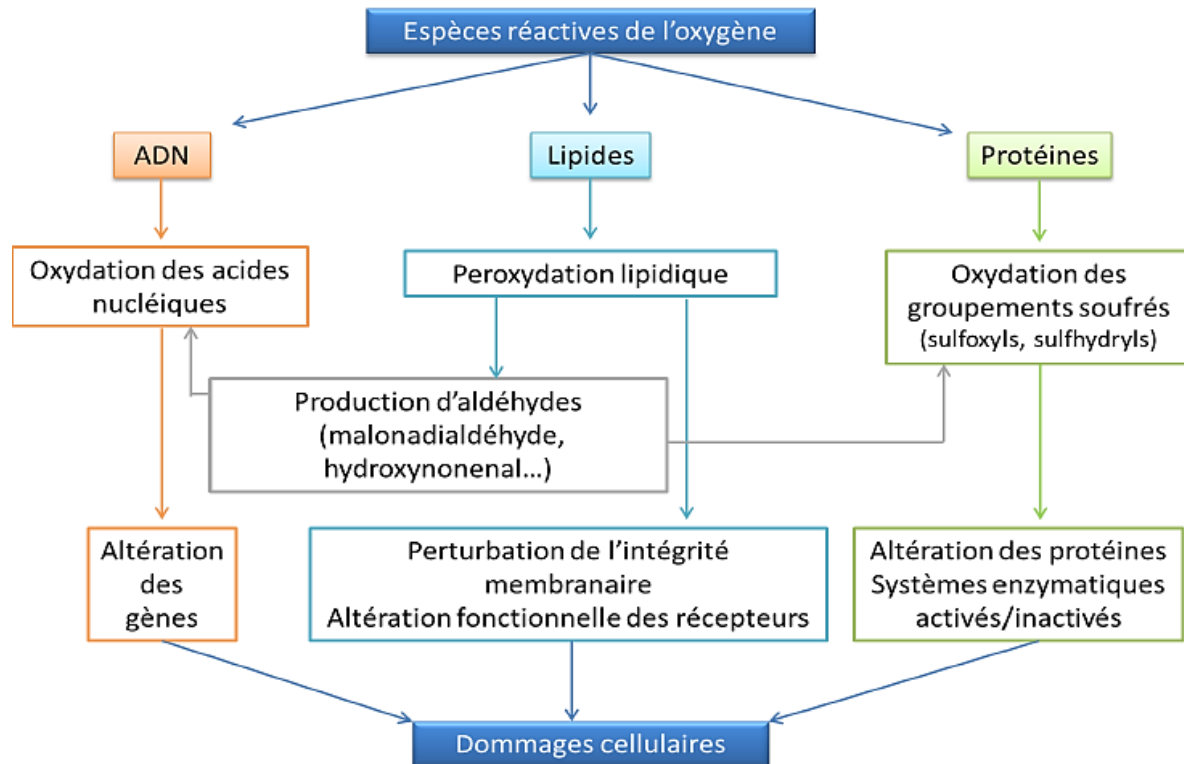


Figure 4 : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR (Loft et *al.*, 2008).

I.2.5. Systèmes antioxydants

Les antioxydants sont des molécules qui peuvent, à faible concentration, donner des électrons et/ou des atomes d'hydrogène aux oxydants (Siti et *al.*, 2015). Ils ont pour rôle d'empêcher la formation des radicaux libres, de permettre leur élimination ou bien de réparer les dégâts causés par ces espèces. Les antioxydants peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et systèmes non enzymatiques (Pieme et *al.*, 2017).

I.2.5.1. Système Antioxydant enzymatique

Les cellules sont disposées d'un système antioxydant enzymatique qui joue un rôle important dans l'inactivation des espèces réactives de l'oxygène et le contrôle du stress oxydatif (Rudneva, 2014). Ce système fait intervenir plusieurs enzymes dont les plus importantes sont : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), et la glutathion peroxydase (GPx), mais aussi la glutathion réductase (GR) (figure 5) (Van der Oost et *al.*, 2003 ; Nikinmaa, 2014).

a. Superoxyde dismutases (SOD)

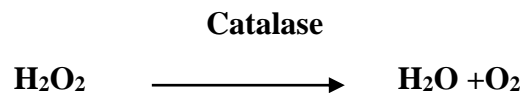
Les SOD éliminent les radicaux superoxydes par dismutation du radical en H₂O₂ et en OH⁺ et OH⁻ (Mn SOD dans la mitochondrie). Elle permet d'éliminer les radicaux superoxydes mais provoque l'apparition de peroxyde d'hydrogène diffusible et dangereux à

distance. La synthèse des SOD subit un rétrocontrôle négatif par les fortes concentrations de peroxyde d'hydrogène. L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc (Goudable et *al.*, 1997).

b.catalases

Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes.

La réaction catalysée par cette enzyme est une dismutation du peroxyde d'hydrogène :

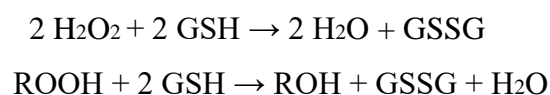


Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène, mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier. Elles sont quantitativement moins efficaces que le système suivant : les glutathion peroxydases.

La catalase et la glutathion peroxydase ont des rôles protecteurs similaires et leur contribution relative est assez variable. La catalase est surtout active lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé ou que la quantité de glutathion peroxydase est limitée et elle joue un rôle significatif en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier (Goudable et *al.*, 1997).

c.Glutathion peroxydases (GPx)

La glutathion peroxydase constitue une famille d'enzymes qui est présente dans les liquides extracellulaires, du cytoplasme et des membranes cellulaires (Valko et *al.*, 2006). Elle catalyse la réaction de transformation des peroxydes d'hydrogène et des lipides (ROOH) en eau et alcool (ROH). Lors de cette réaction deux molécules de glutathion (GSH) se transforment en glutathiondisulfure (GSSG) (Omodanisi et *al.*, 2017) :



d.Glutathion réductase (GR)

La glutathion réductase est une oxydoréductase NADPH-dépendant localisée dans le cytosol et les mitochondries. Elle catalyse la conversion du glutathion oxydé (GSSG) en glutathion réduit (GSH) (Csiszár et *al.*, 2016) :

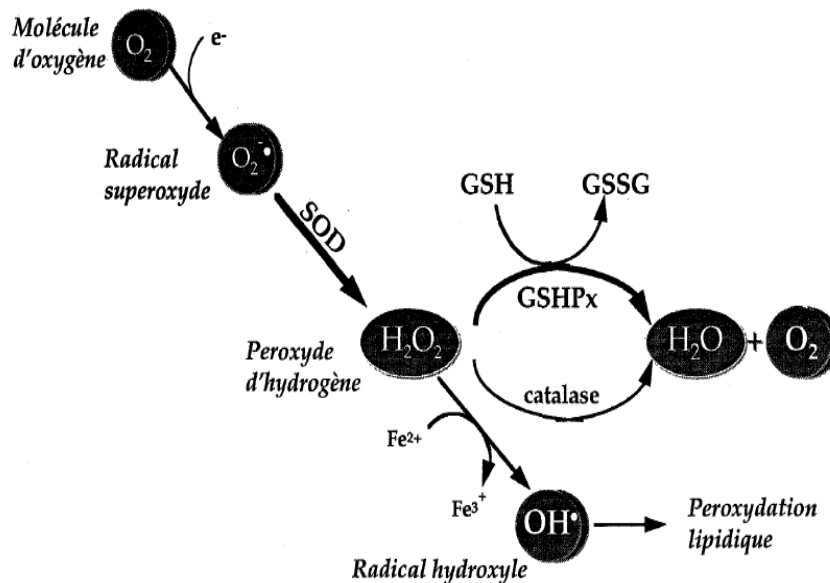
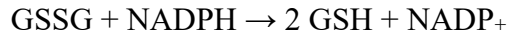


Figure 5 : Principales étapes de production des espèces réactives de l'oxygène (Goudable et al., 1997).

I.2.5.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont passynthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation, donc on peut les diviser en antioxydants endogènes et exogènes.

I.2.4.2.1 Antioxydants non enzymatiques endogènes

a. Le Glutathion (GSH /GSSH)

Le glutathion est le principal antioxydant non enzymatique intracellulaire. Il participe directement à la neutralisation des ROS par la réduction du peroxyde d'hydrogène grâce à la réaction catalysée par la GPx (Rajendran et al., 2014). Il permet aussi la régénération de composés aux propriétés antioxydantes comme les vitamines E et C (Lu, 2013).

b. Acide urique

C'est le produit du catabolisme des purines comme la xanthine et l'hypoxanthine. Il réagit avec plusieurs espèces réactives aux potentialités oxydantes fortes comme ROO^{\bullet} , HO^{\bullet} , ONOO^- , NO_2^{\bullet} et l'oxygène singulet, ce qui entraîne la formation du radical urate, qui peut être alors réduit par l'acide ascorbique (Stocker et Keaney, 2004).

c. La bilirubine

La bilirubine est un produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales. La bilirubine est capable de piéger ROO• et l'oxygène singulet (Powers et Jackson, 2008). Ainsi, elle protège l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires.

d. Ubiquinones et cytochrome c

L'ubiquinone est un cofacteur naturel qui joue le rôle de trans-porteur d'électrons dans le cadre de la chaîne respiratoire mitochondriale. Si, d'un côté, sa structure proquinonique est impliquée dans la formation de l'anion superoxyde au décours du transport mitochondrial d'électrons, cette molécule représente, d'un autre côté, un agent antioxydant puissant (Descamps et *al*, 2006).

I.2.5.2.2 Antioxydants non enzymatique exogènes

a. Vitamine E et vitamine C

La vitamine C ou l'acide ascorbique est considéré comme le principal antioxydant hydrosoluble (Spector et Johanson, 2014). Elle fournit la protection contre le stress oxydatif en agissant comme un éboueur des ROS, directement ou indirectement en recyclant l'antioxydant liposoluble, la vitamine E (Kirkwood et *al*, 2012). Celle-ci est un antioxydant liposoluble localisé au niveau membranaire et dans les lipoprotéines (Grimm et *al*, 2016). Elle réagit avec les radicaux peroxydes ce qui permet l'inhibition de la peroxydation lipidique (Duncan et Suzuki, 2017).

b. Polyphénols et caroténoïdes

Les polyphénols et caroténoïdes sont des phytonutriments très courants dans les fruits et légumes. Malgré leurs structures très différentes, ils partagent un certain nombre de caractéristiques : une implication dans la couleur des fruits et légumes ; des propriétés antioxydantes ; des propriétés protectrices envers certaines maladies dégénératives tels des cancers et maladies cardiovasculaires. Les propriétés anti-oxydantes de ces molécules ont été particulièrement étudiées. En effet par leurs propriétés de capture de radicaux ou d'électrons et leur sensibilité à l'oxydation, ces molécules sont impliquées lors des phénomènes d'oxydation (Oueslati, 2017).

c. Oligoéléments

Le cuivre, le manganèse, le sélénium, le zinc et le fer sont des éléments-trace, jouent le rôle des cofacteurs indispensables pour les réactions métaboliques d'enzymes antioxydants (Roussel, 2009), afin de maintenir leur activité catalytique et protéger les cellules contre des

dégâts oxydatifs (Marreiro et *al*, 2017). Cependant, certains oligo-éléments, notamment le fer et le cuivre, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme, ils peuvent avoir une action pro-oxydante (Laliberte et Labbe, 2008).

II. Doxorubicine et Stress Oxydant

II.1. Définition

La doxorubicine (ou adriamycine) est un médicament antibiotique anticancéreux de la famille des anthracyclines. À ce jour, la doxorubicine est la molécule de référence la plus utilisée en chimiothérapie malgré sa cardiotoxicité élevée. Elle possède un large spectre anticancéreux y compris les leucémies, les lymphomes (maladie de Hodgkin) et les tumeurs solides (cancer du sein et de l'ovaire, sarcomes osseux et tissulaires et neuroblastomes) (Tacar, 2013).

II.2. Structure

La DOX possède la même structure chimique de la famille des anthracyclines, elle est composée de quatre noyaux chromophores aromatiques (tétracycline). Port les complexes hydroquinone et quinone (accepteur et donneur d'électrons) attachés à une partie glucique, la daunosamine par une liaison O-glycosidique. La structure moléculaire des diverses anthracyclines diffèrent par l'ajout de radicaux.

La structure des anthracyclines comprend deux parties :

- Un aglycone composé d'un noyau polyaromatique tétracyclique hydrophobe quasi plan portant des fonctions quinones et hydroquinones, qui leur permet de fonctionner comme accepteur et donneur d'électrons.
- Un aminosucre, la daunosamine, lié au carbone C7 de l'aglycone par une liaison-glycosidique.

Les structures moléculaires des principaux anthracyclines utilisées en clinique sont présentées dans la (Figure 6)

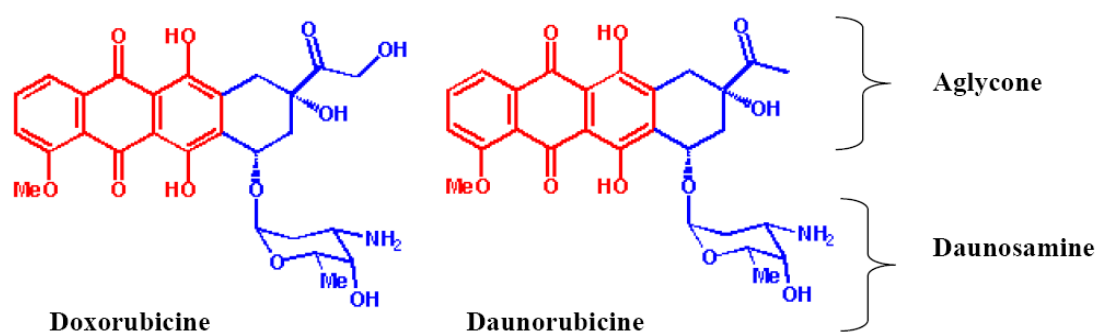


Figure 6 : Les structures moléculaires de la doxorubicine et daunorubicine (Hortobágyi, 1997).

II.3. Pharmacocinétique de doxorubicine

Les études pharmacocinétiques montrent que la DOX a un profil multiphasique :

II.3.1. L'absorption

La doxorubicine comme toutes les autres anthracyclines, est habituellement administrées par voie intraveineuse afin d'atteindre rapidement la tumeur sans être trop dégradée, et en injection rapide, pour éviter une extravasation à côté de la veine qui endommagerait les tissus (Hande, 1998).

II.3.2. La distribution

La DOX subit une étape sanguine de transport, au cours de laquelle il est véhiculé vers les différents tissus, puis elle est rapidement captée par différents organes de l'organisme (coeur, reins, poumons, foie et rate) à part le système nerveux central car elle ne traverse pas la barrière hématoencéphalique (Marcot et *al.*, 1997). La phase de distribution est rapide, elle se traduit par des temps de demi-vies plasmatiques brèves respectivement de l'ordre de 5 à 30 min

II.3.3. Le métabolisme

La DOX est essentiellement biotransformée au niveau du foie par différentes voies de métabolisme (Figure 7) parmi les quelles :

- La conversion de la DOX, en doxorubicinol (13-dihydrodoxorubicine), son métabolite actif principal par réduction de la fonction carbonyle en fonction hydroxyle par l'enzyme la carbonyle réductase, une C13-aldocétoréductase NADPH dépendante (Mross et *al.*, 1990 ; Zhou et *al.*, 2002 ; Gambliel et *al.*, 2002).
- La conversion de la DOX en hydroxy aglycone ou deoxy aglycone par l'élimination de la partie glycosidique par cytochrome P450 reductase NADPH dépendante (Zhou et *al.*, 2002), les réactions de conjugaisons par l'union de la DOX ou de leur métabolite avec l'acide glucuronique ou le groupement sulfate (Zhou et *al.*, 2002 ; Maluf et spriggs, 2002).

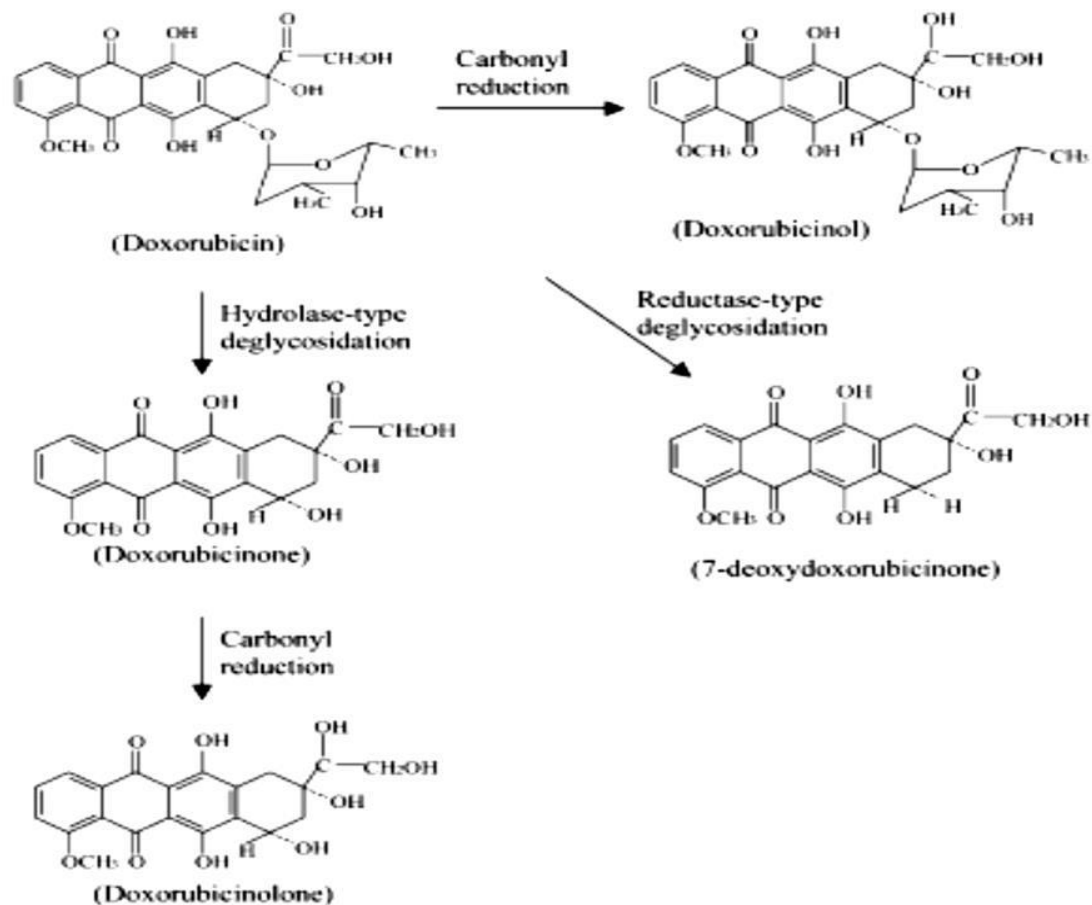


Figure 7: Biotransformation de la doxorubicine (Zhou et *al.*, 2002)

II.3.4. L'élimination

La DOX et ses métabolites seraient rapidement éliminés du plasma majoritairement dans la bile à raison de 40 – 50 % sous forme inchangée et de 23% sous forme de doxorubicinol. Alors que cette élimination est faiblement dans les urines (5 à 15 %) et sous forme inchangée ce qui expliquerait la coloration rouge de l'urine, soit la couleur de ce médicament, quelques jours après le traitement (Marcot, 1997; Tannock et Hill, 1998) le temps d'élimination est de 30 h (Robert et Gianni, 1993).

II.4. Doxorubicine et pathologie

II.4.1. Comme agent thérapeutique (traitement de cancer)

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, plus de 8,2 millions de gens meurent du cancer chaque année et il est d'ailleurs estimé que ce nombre devrait augmenter de 50 %, d'ici 2020 et que 11, 4 millions en mourront en 2030 selon l'OMS 2013.

Le cancer peut se définir comme une maladie grave qui se traduit par l'émergence d'amas de cellules cancéreuses (appelés tumeurs), qui est le résultat d'une prolifération

excessive et anarchique de certaines cellules deviennent immortelles et incontrôlables car elles échappent aux lois qui régissent la prolifération cellulaire (Alberts,2002; Mussett, 2002). Les trois événements mutagènes-clés pour développer un cancer sont la surexpression d'un proto-oncogène

II.4.1.1. Chimiothérapie par Doxorubicine

La chimiothérapie est un traitement systémique du cancer permettant l'élimination des cellules cancéreuses dans l'ensemble de l'organisme..C'est pourquoi, les anthracyclines sont des agents antitumoraux regroupe de nombreuses molécules analogues. Aujourd'hui ; on retrouve la doxorubicine (DOX) pour évaluer l'impact des composés de chimiothérapies sur le testicule immature, nous utilisons la DXO comme composé modèle (Teuffel et *al*, 2013). Plusieurs mécanisme sont impliqué dans le traitement de cancer par la doxorubicine

II.4.1.1.1 Intercalation dans la molécule d'ADN

Les anthracyclines se lient de façon covalente aux doubles-brins de l'ADN pour former un complexe [ADN-anthracycline]. Ces liaisons se font principalement sur les résidus guanine de l'ADN et sont réversibles. Leur structure multicyclique plane leur permet de former des adduits ou ponts (crosslink) en s'interposant entre deux paires de bases adjacentes dans la double hélice et d'y contracter des liaisons hydrophobes et électrostatiques. En s'intercalant dans l'ADN, les anthracyclines inhibent la réplication, la transcription et donc la synthèse protéique (figure 8) (Jain et *al.*, 2005).

II.4.1.1.2 Inhibition de l'enzyme topoisomérase II

Les topoisomérases sont des enzymes chargées de réguler les conversions topologiques de l'ADN. Leur fonction est essentielle durant de nombreuses étapes du métabolisme de l'ADN et permettent le bon fonctionnement nucléaire. Les topoisomérases II induisent des cassures doubles brins transitoires de l'ADN afin de permettre à un segment de l'ADN de passer à travers un autre et ensuite ressouder les segments coupés. Les anthracyclines en s'intercalant à l'ADN stabilisent le complexe transitoire de clivage [ADN-enzyme] et empêchent la religation des brins par les topoisomérases II. Ainsi, la formation du complexe ternaire stable [anthracycline-ADN-topoisomérase II] stabilise les coupures double brins et prévient la topoisomérase II de relier les extrémités libres des segments coupés pour la restitution de la structure tridimensionnelle de l'ADN. L'inhibition de cette enzyme provoque un arrêt du cycle cellulaire en G2/M et la mort cellulaire. Les cellules en phase G0 ne possédant que peu de topoisomérases II sont peu sensibles à ces agents (Isaacs et *al*, 1995).

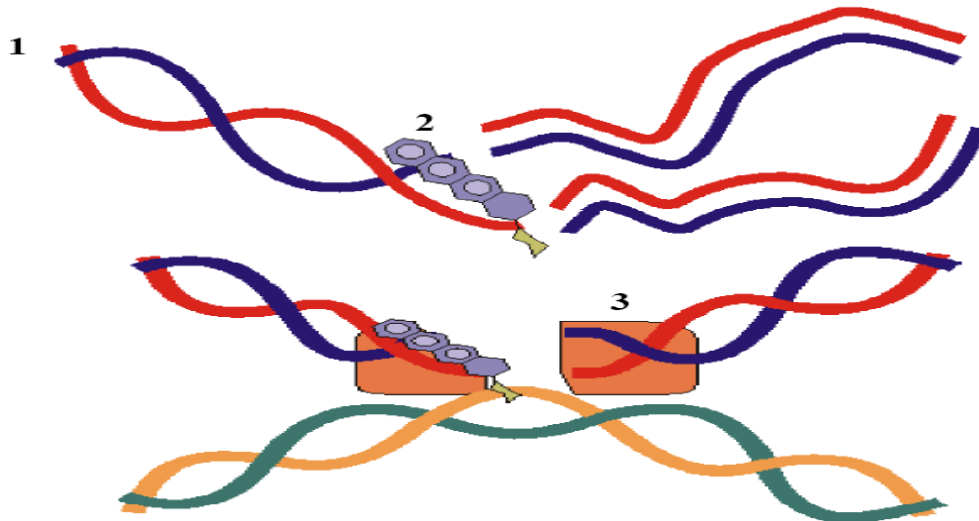


Figure 8 : Mécanisme d'action des anthracyclines : intercalation dans l'ADN et stabilisation de l'enzyme topoisomerase II. 1. ADN 2. Anthracycline 3. Topoisomérase II (Isaacs et al., 1995).

II.4.2. Comme un agent toxique (cardiotoxicité)

La chimiothérapie à la doxorubicine (DOXO) augmente le risque de maladie cardiovasculaire en partie en induisant dysfonctionnement des artères des conduits. Cependant, les mécanismes médiateurs de la dysfonction endothéliale associée à la DOXO dans les artères (intactes) et les stratégies de traitement ne sont pas établies (figure 9) (Zachary et al., 2020).

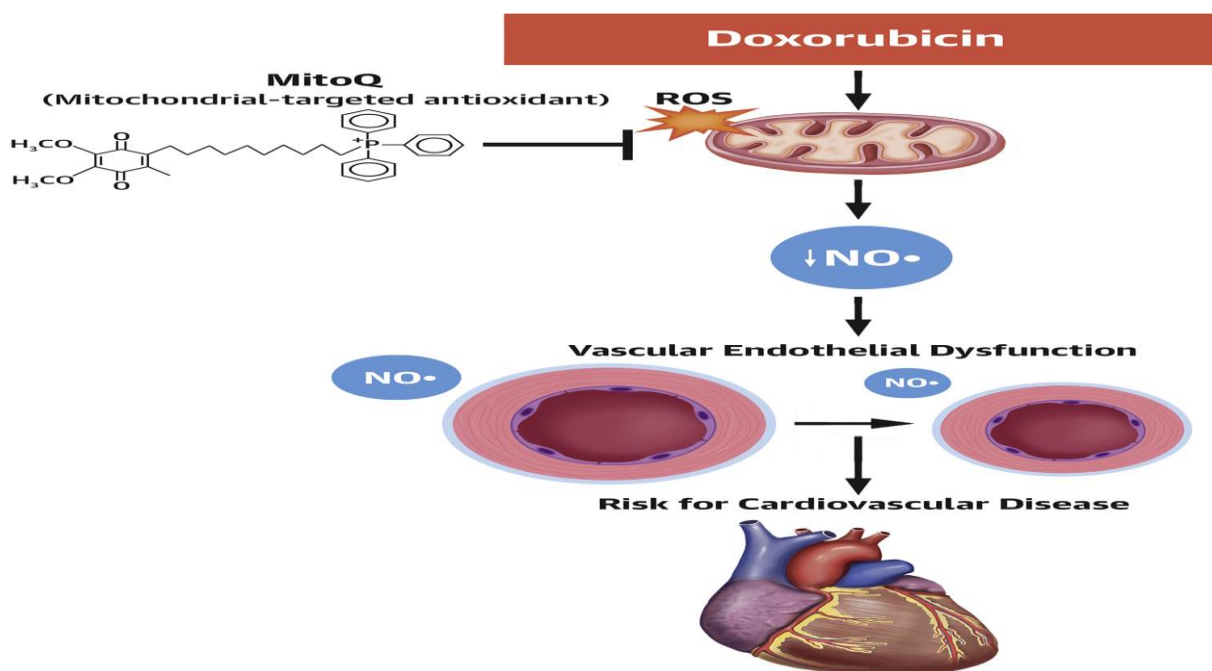


Figure 9 : Les mécanisme de cardiotoxicité de la DOX (Zachary et al., 2020).

II.4.2.1. Mécanisme de cardiotoxicité de la doxorubicine

Les mécanismes par lesquels la doxorubicine induit une cardiotoxicité ne sont pas complètement élucidés, plusieurs hypothèses ont été énoncées: le stress oxydatif, la dérégulation de l'homéostasie calcique, l'inhibition de la cardiolipine et la production de métabolites (Gascon, 2015). Mais il apparaît que l'induction d'un stress oxydant au sein du tissu myocardique constitue le dénominateur commun de ces mécanismes (Delemasure, 2006). Les principaux mécanismes retrouvés sont représentés par:

II.4.2.1.1. Production de radicaux libres

Le coeur est particulièrement sensible aux radicaux libres engendré par la doxorubicine en comparaison avec d'autres organes comme le foie et les reins, Ceci est expliqué par ;

- Le déficit des systèmes de défenses antioxydantes au niveau du coeur qui traduit par un taux relativement bas de SOD et de CAT et un faible taux de renouvellement du glutathion (Delemasure, 2006).
- L'augmentation de système redox dans les cardiomyocytes (Quiles, 2002).
- Le taux élevé des enzymes réductases et dehydrogenase au niveau du coeur (la NADH dehydrogénase et la NADPH cytochrome P-4S0 réductase) qui jouent un rôle important dans la production accrue d'ERO (Chen, 2007).
- La grande affinité de la DOX au phospholipide polyinsaturé (la cardiolipine) qui se trouve particulièrement dans la membrane interne de la mitochondrie des cardiomyocytes ce qui provoque l'accumulation de la DOX dans les tissus de coeur (Jain, 2000 ; Quiles, 2002; Tokarska-Schlattner, 2006; Chen, 2007; Vander Heide, 2007).

II.4.2.1.2. Par voie enzymatique

Le H₂O₂ peut entraîner la formation de radicaux hydroxyls un des radicaux libres les plus réactifs et destructifs, mais peut aussi être éliminé par la catalase et la glutathion peroxydase (Li, 2000; Iarussi et al, 2001) (figure 10). Toutefois, le coeur est un des organes qui en est le moins pourvu de catalases (Zucchi, 2003). De plus, sous l'effet de stimuli inflammatoires induit par la DOX, une grande quantité de monoxyde d'azote (NO) est produite à partir de la L arginine par l'enzyme NO synthase sous sa forme inductible (iNOS) présente au niveau des macrophages et des cellules vasculaires (Vasquez-Vivar, 1997). L'O₂· et le NO· sont modérément toxiques individuellement, mais lorsqu'ils sont produits de façon concomitante et en grandes quantités, ils se combinent immédiatement pour former un oxydant puissant, le peroxy-nitrite (ONOO·). (Beckman, 1990). La production de radicaux

libres par la doxorubicine, au sein des cellules myocardiques, endommageraient l'ADN, les protéines et les constituants des membranes cellulaires (Iarussi *et al.*, 2001) et ayant pour conséquence une évolution de la cellule vers l'apoptose (Hsiu et Chuan, 1996).

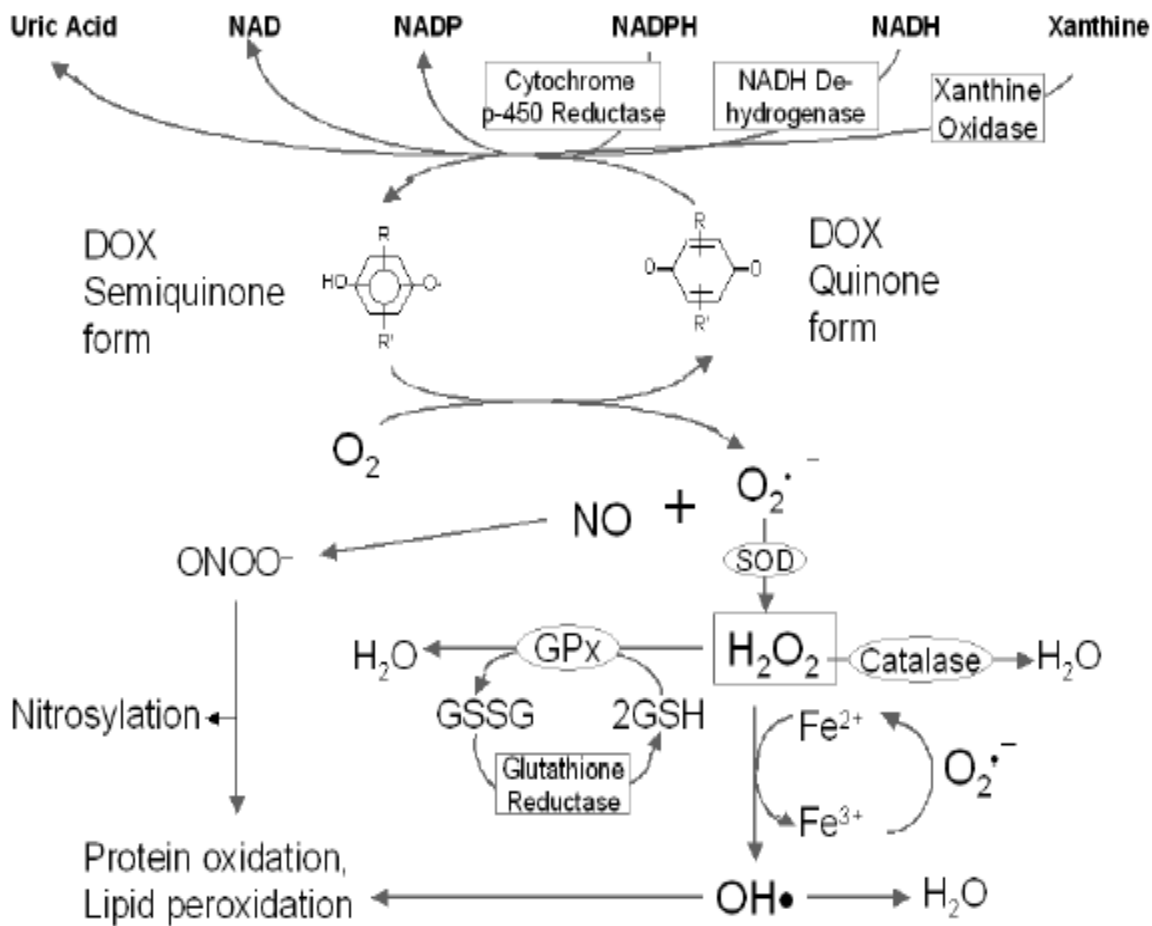


Figure 10 : Schéma des différentes voies enzymatiques menant à la formation des radicaux libres à partir de la doxorubicine (Liu, 2003)

II.4.2.1.3. Par voie dépendante des ions ferriques

Cette voie de génération de radicaux libres fait intervenir la formation d'un complexe organométallique entre la DOX et le fer (Xu, 2005). La DOX attaque les protéines responsables de l'entreposage et de la relâche des ions ferriques (Fe³⁺), transferrine et ferritine provoquant ainsi la libération de ces ions de ses sites de stockage (Xu, 2005; Chen, 2007; Gammella *et al.*, 2014;). Le Fe³⁺ se lie alors à trois molécules de la doxorubicine avec la fonction cétone et hydroxyle de carbone C11 et C12 pour former un complexe très stable: Fe₃₊-(DOX)₃. Ce complexe subit un cycle interne d'oxydoréduction, donnant naissance à un

complexe Fe^{2+} -(DOX)₃. Ce dernier peut céder son électron supplémentaire à l'oxygène moléculaire et aboutir ainsi à la formation de $\text{O}_2^{\cdot-}$ et par la suite la formation des autres radicaux libres (Quiles, 2002; Liu, 2002; Barnabé, 2002; Liu, 2003; Xu et *al.*, 2005; Tokarska-Schlattner, 2006; Outomuro, 2007).

III. Les polyphénols

Les polyphénols dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques de règne végétale et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (Mompon B et *al*,1996) ;He *etal*, 2008) on les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Le terme phénol englobe approximativement 10000 composés naturel identifier (Martin *etal*, 2002 ;Druzyuka et *al*,2007). L'élément structurel fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones, auquel est directement lié au moins à un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, ou hétéroside (Bruneton,1999 ;Balasundram *etal*,2006).

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'élaboration de cycle aromatique, la voie shikimate (également responsable de la synthèse des acides aminés Phe Tyr) et la voie polyacétate, qui consiste en la condensation de molécule d'acétyl coenzyme A. Cette biosynthèse a permis la fonction d'une grande diversité de molécules qui sont spécifique d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière. (Guignard, 2000 ; Bruneton.,2008).

III.1. Classification des polyphénols

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (Clifford, 1999 ; D'Archivio *etal*,2007).

III.1.1. Polyphénols simples

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

III.1.2.Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont les dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque et del'acide cinnamique, ils sont présents dans un certain nombre de plantes agricoles etmédicinales (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).

- **Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1)**

Ces acides sont très communs aussi bien sous forme libre que sous forme combinée à l'état d'esters ou hétérosides (Bruneton.,2008 ; Skerget et *al*,2005). Cette catégorie est

abondante dans les végétaux et les aliments, notamment les épices, les fraises, certains fruits rouges et l'oignon dans lesquels les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruits frais (Manach et *al.*,2004)

- **Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C6-C3)**

Ces composés ont une distribution très large. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés (Skerget et *al.*,2005). Peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres (O-acylglucosides, Oarylglucosides) ou des polyols tels que l'acide quinique (Bruneton.,2008). (Figure 11)

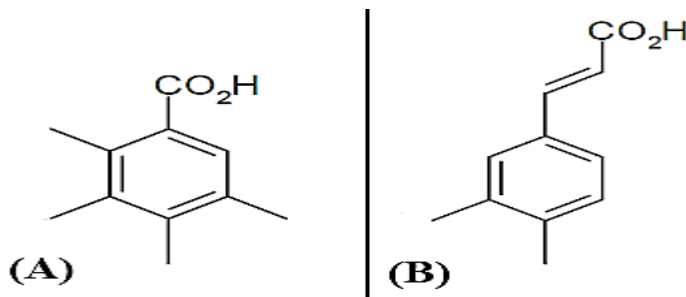


Figure 11: Acides hydroxybenzoïque (A) et hydroxycinnamique (B) (Chandrasekara, 2019)

III.1.3.Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6 (Ghedira, 2005). Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs et dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes (Crozier,2003). Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d'aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, thé et vin...).

Chez les plantes, plus de 6000 variétés de flavonoïdes ont été identifiées et regroupées en plusieurs familles (figure 12)

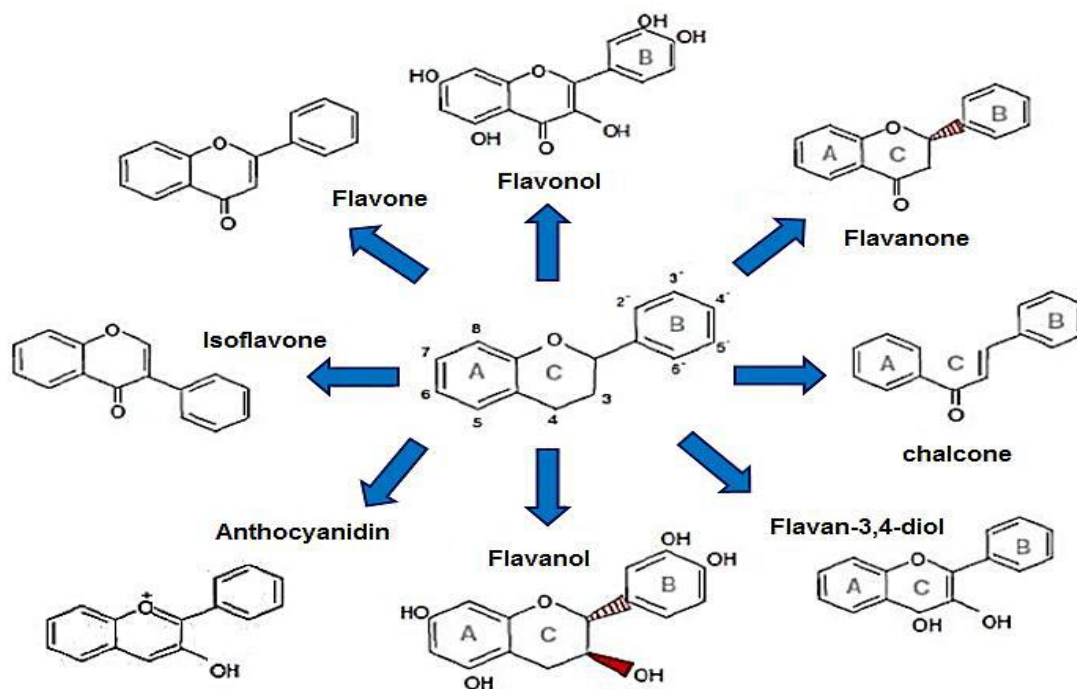


Figure 12: Les principales familles des flavonoïdes (Fraga et Oteiza, 2011).

III.1.4. 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).

- **Tanins hydrolysables** : ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique (Cowan, 1999 ; O'connell et Fox, 2001). Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) (Ribéreau et Gayon, 1968).
- **Tannins condensés** : les tannins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 (Bruyne *et al.*, 1999 ; O'connell et Fox, 2001).

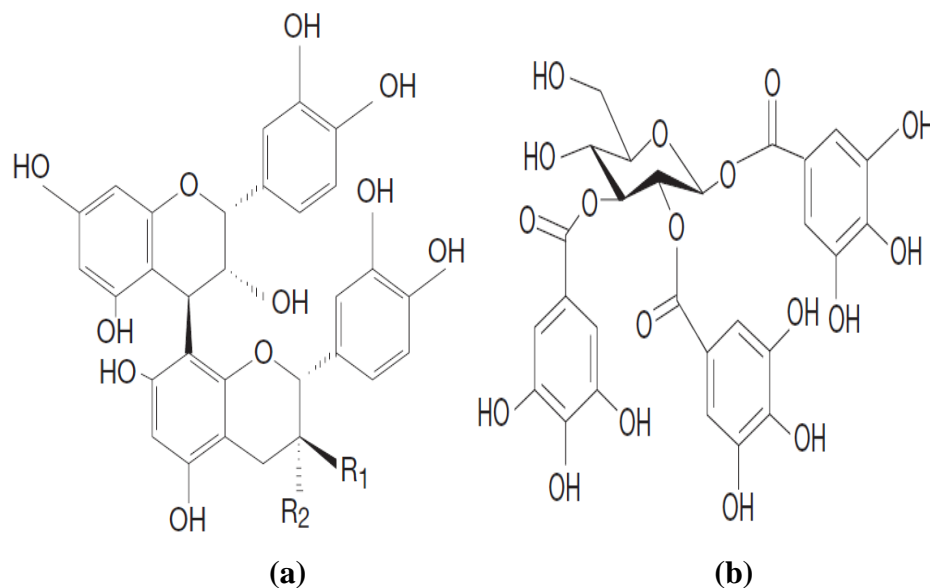


Figure 13 : Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidines) et (b) d'un gallotannin (1,2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose) (Derbel *et al.*,2005).

III.1.5. 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).

III.1.6. 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).

IV. *Pistacia Lentiscus L*

IV.1. Historique et utilisation traditionnelle

Pistacia Lentiscus est une plante connue depuis longtemps par les humains, des fouilles archéologiques indiquent que les populations du Mésolithique et Néolithique connaissaient déjà cette plante, Traditionnellement, le Lentisque est essentiellement utilisé pour sa résine, on se sert également de ses feuilles, de son bois et de ses fruits pour des usages alimentaires, domestiques ou médicinaux (Lanfranchi et al, 1999).

Les fruits sont principalement utilisés pour l'extraction de l'huile fixe. En Méditerranée, cette huile a de nombreuses utilisations. En effet, au Maroc l'huile des fruits de Lentisque est employée sous forme d'onguent pour soulager les douleurs dorsales et soigner les brûlures. En Tunisie, cette huile comestible est utilisée traditionnellement par la population tunisienne dans son alimentation quotidienne en salades et pâtisseries (Trabelsi et al, 2012).

La décoction des racines séchées est efficace contre l'inflammation intestinale et de l'estomac ainsi que dans le traitement de l'ulcère (Palevitch et Yaniv, 2000).

Les feuilles sont utilisées dans le traitement de l'eczéma, des infections buccales, des diarrhées, de la jaunisse, des maux de tête, de l'asthme et des problèmes respiratoires (Villaret al, 1987 ; Shtayeh et a., 1998 ; Ali-Shtayeh et a., 2000 ; Lev et Amar, 2002).

IV.1.1. *Pistacia lentiscus* en Algérie

Parmi les plantes médicinales que compte la flore algérienne, le pistachier lentisque *Pistacia Lentiscus L.* (Anacardiaceae) connu selon les régions d'Algérie sous différents noms. Dans la région littorale de Jijel, à l'Est du pays, la plante se dénomme en dialecte local : « *tro* ou *troo* » ; dans la région de la Kabylie (centre du pays) : « *amadagh* » (Bensalem, 2015).

En Algérie, l'huile fixe extraite des fruits mûrs est employée en application locale externe sous forme d'onguent pour soigner les brûlures, les petites blessures, les érythèmes et les douleurs dorsales (Iserin, 2001 ; Baudoux, 2003 ; Grosjean, 2007). L'huile fixe est aussi employée par voie orale contre les problèmes respiratoires d'origine allergique et les ulcères de l'estomac. Ces usages sont surtout répandus à l'Est du pays (région d'El-Milia, Skikda, Guelma).

IV.2. Distribution géographique

Pistacia Lentiscus est une espèce sauvage, thermophile, largement distribuée dans les écosystèmes extrêmes de la région méditerranéenne. On la rencontre également en Europe,

Asie, et en Afrique (Figure 14). Cette espèce est adaptée au climat semi-aride de la méditerranée et aux sols désertique et salin (Rauf et *al*, 2017).

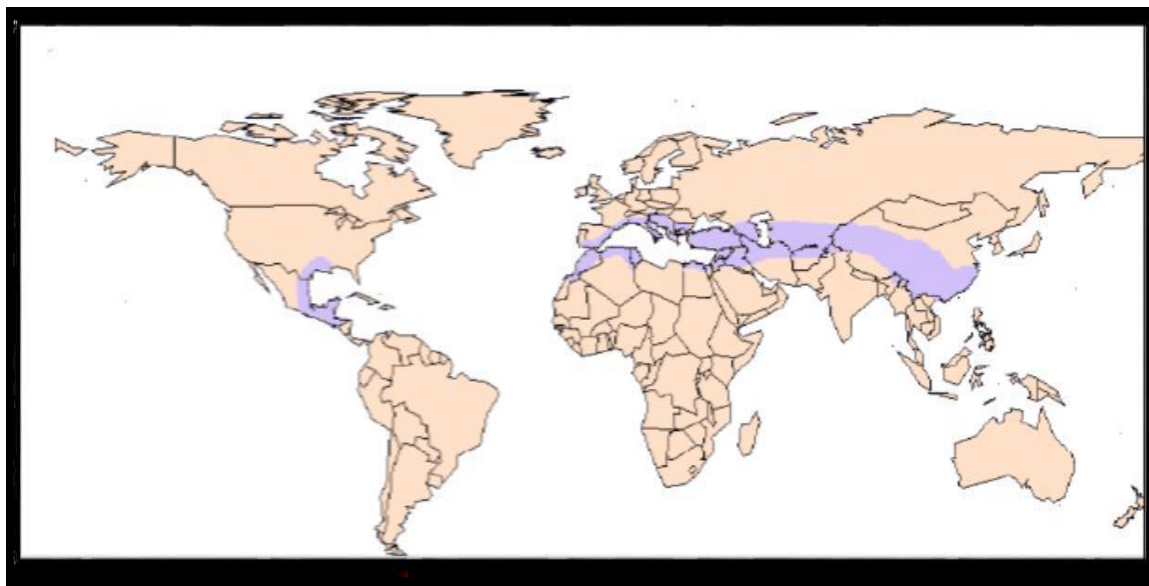


Figure 14 : Aire de répartition du genre *Pistacia* (Belfadel, 2009).

Les espèces de cette famille sont des arbres, des arbustes résistant à la chaleur, au froid et à la salinité puisqu'elles existent en abondance sur les bords de la mer méditerranée (Boullard, 2001).

Le pistachier se disperse sur tout le tell Algérien et Tunisien, et existe avec densité dans les zones forestières et champêtres fraîches. Le lentisque préfère une ambiance climatique subhumide, semi-aride et chaude (figure 15).

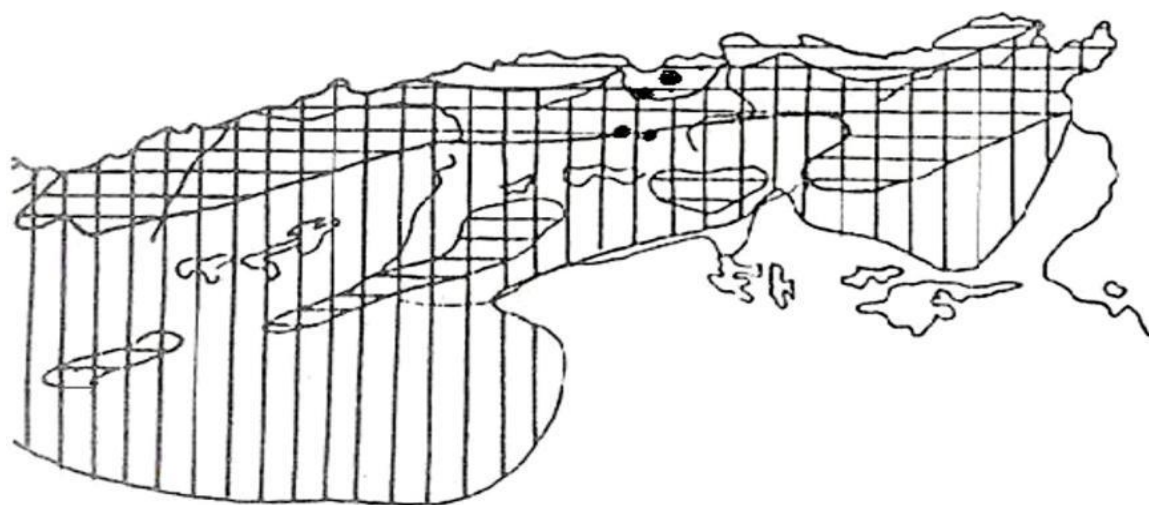


Figure 15 : Distribution géographique de *Pistacia* en nord Afrique (Algérie et Tunisie). (Djedaia, 2017).

Dans les zones humides, cette espèce est plus abondante dans les plaines que sur les hauteurs, contrairement aux zones semi-arides où elle pousse plutôt sur les hauteurs. Le lentisque assure la protection du sol contre l'érosion et crée les conditions favorables pour l'humification de la matière organique et l'enrichissement de ses propriétés biologiques (Djedaia., 2017).

En Algérie, il occupe l'étage thermo-méditerranéen. Sa limite méridionale se situe aux environs de Saïda, sa présence au sud de l'Atlas saharien n'est pas signalée (figure 16) (Ait Said., 2011).

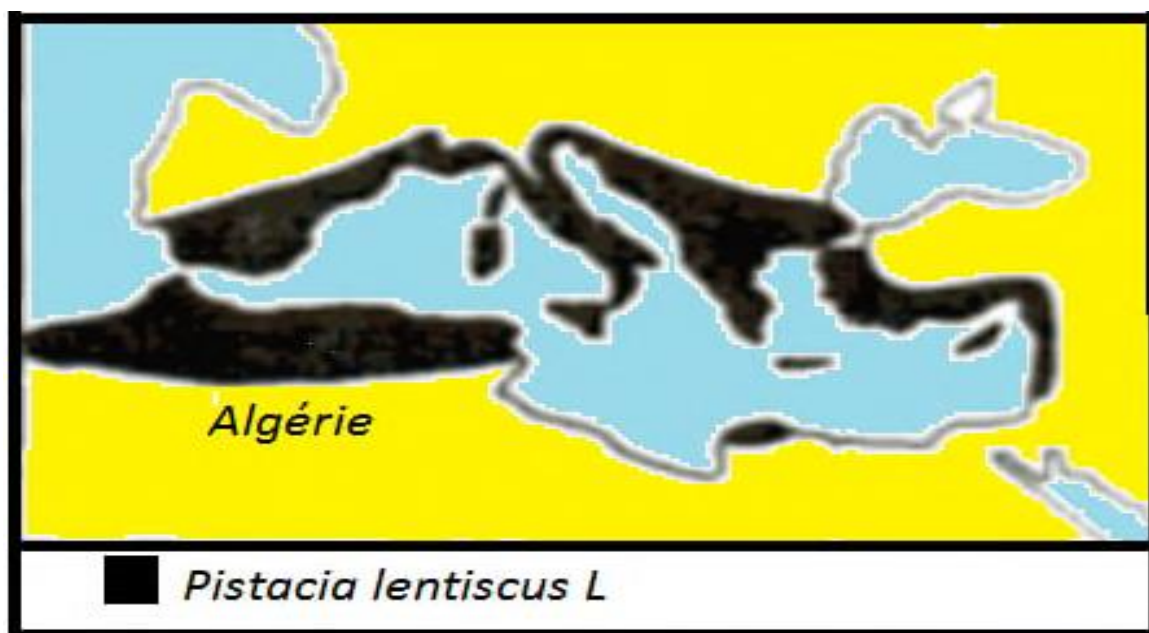


Figure 16 : Aire de répartition de *Pistacia lentiscus* en Méditerranée (Seigue, 1985).

Dans ces régions, *Pistacia lentiscus* est largement distribué dans des écosystèmes « extrêmes » caractérisés par la rareté des éléments nutritifs et de l'eau ; avec une exposition prolongée au rayonnement solaire et aux hautes températures (Margaris, 1981) cités par (Bhourri et al, 2010). Bien qu'il soit bien adapté au sol et au climat méditerranéen semi-aride, le pistachier lentisque est de nos jours négativement affecté par plusieurs situations : le tourisme ; les incendies ; la dégradation des sols ; la déforestation et la plantation d'autres arbres, surtout les oliviers. En raison de cette pression, le nombre d'arbrisseau de *Pistacia lentiscus* ne cesse de diminuer (Dogan et al, 2003).

IV.3. Description botanique

IV.3.1. Description morphologique

Le pistachier lentisque est un arbrisseau vivace de trois mètres de hauteur, ramifié, à odeur de résine fortement âcre, aux feuilles persistantes épaisses, luisantes, vert foncé, portant de courtes grappes auxiliaires de petits fruits qui deviennent noirs à la maturité. La floraison a lieu entre avril et juin et la fructification entre octobre et novembre (Bouhrara et Merzougui, 2015) (figure 17)



Figure 17 : Fleurs [A], Fruits rouges [B], noirs [C] et mastic [D] de *P. lentiscus* (L.) (Ben Douissa, 2004).

Pistacia lentiscus est caractérisée par :

- **Une écorce** : de couleur rougeâtre sur les jeunes branches, qui vire au gris avec le temps.
- **Des branches** : tortueuses et pressées, qui forment une masse serrée.
- **Des feuilles** : persistantes, composées, possédant un nombre pair de folioles (4 à 10), d'un vert sombre ; elliptiques, obtuses, luisantes en dessus, glabres, coriaces et dont le pétiole est bordé d'une aile verte.
- **Des fleurs** : unisexuées d'environ trois mm de large qui apparaissent au printemps (Mars à Mai). Elles sont très aromatiques et se présentent sous forme de racèmes (grappe) de petite taille. Les fleurs femelles sont, vert jaunâtre, alors qu'elles sont de couleur rouge foncé pour les fleurs mâles.
- **Un Fruit** : une drupe arrondie de 2 à 3 mm de diamètre, monosperme, contenant un nucléole de la même forme ; le fruit est d'abord rouge puis devient noirâtre à sa maturité, (l'automne)
- **Une résine** : appelée également mastic, c'est le produit le plus connu de cette plante ; il s'agit d'une substance aromatique et résineuse qui suinte du tronc et des branches principales

Cette sécrétion peut être favorisée par des éraflures pratiquées dans le tronc et les branches. Les petites « larmes » qui s'écoulent de la plante sont séchées au soleil pour les faire durcir en gouttes translucides ; une variété célèbre de cette résine provient des arbustes retrouvés au sud de l'île grecque de Chios en mer Égée (Seigue, 1985) (More et White, 2005) cités par Ferradji, 2011) (Belfadel, 2009).

IV.3.2. Classification botanique

L'espèce *Pistacia Lentiscus* L. ou communément appelé Lentisque ou 'Dhrou' appartient au : (Chaabani, 2019)

- Règne : Végétale
- Embranchement : Spermaphyte
- Sous-embranchement : Magnoliophyta ou Angiospermes
- Classe : Magnoliopsida ou Eudicots
- Sous-classe : Rosidae ou Eudicots moyennes dialypétales (plus de 90 000 espèces connues)
- Ordre : Sapindales
- Famille : Anacardiaceae
- Genre : *Pistacia*
- Espèce : *Pistacia lentiscus* L.

Le lentisque, ou pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.), est un arbrisseau du genre *Pistacia* appartenant à la famille cosmopolite des Anacardiaceae qui comprend environ 70 genres et plus de 600 espèces (Bozorgi et al, 2013). En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, en l'occurrence *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* (Quezel et Santa, 1963).

Les espèces les plus importantes dans le monde du genre *Pistacia* d'après (Martini, 2003 ; Ibn Bitar, 1989 ; Ibn Sina, 1965) sont :

- *Pistacia atlantica*
- *Pistacia chinensis*
- *Pistacia lentiscus* L - Pistachier lentisque.
- *Pistacia Palaestina* - térébinthe de Palestine
- *Pistacia terebinthus* L - Pistachier térébinthe
- *Pistacia Vera* L - Pistachier vrai (qui donne les pistaches)
- *Pistacia Vulgaris* - Pistachier Vulgaris

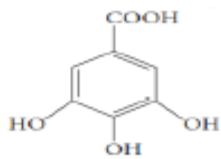
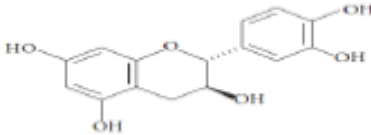
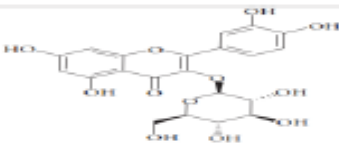
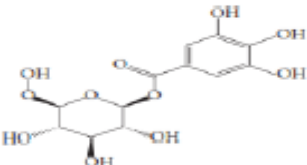
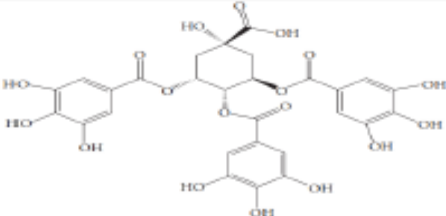
IV.4. Composition chimique de *pistacia lentiscus*

IV.4.1. Composition des feuilles

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* L. sont caractérisées par la présence de glycosides de flavanols comme les quercétine, myricine, lutéoline ainsi que l'isoflavone gentisine (Romani et al, 2002 ; Stocker et al, 2004 ; Vaya et Mahmood, 2006). Elles contiennent aussi 6 à 7% de gallotannins de faible poids moléculaire, et des dérivés d'acide quinique 5-O-, 3,5- O-di- et 3,4,5-O-trigalloyl (Romani et al, 2002).

L'huile essentielle représente 0,14- 0,17% du poids des feuilles de *Pistacia lentiscus*. Les études phytochimiques effectuées sur les huiles essentielles obtenues à partir des feuilles de lentisque des régions d'Alger, de Tizi-Ouzou et d'Oran ont montré la présence de longifolène, α -pinène, β -pinène, γ -cadinène, trans- β -terpèneol, α -acoméol, γ -muurolène, Sabinène et terpinen-4-ol (Dob et al, 2006). Les structures des principaux composants chimiques des feuilles de *Pistacia Lentiscus* sont présentées dans le tableau 2

Tableau 2 : structures des principaux composants chimiques des feuilles de *PistaciaLentiscus* (Bozorgi et al, 2013).

Nom du composant chimique	Structure
Acide gallique	
Catechine	
Quercetin-3-glucoside	
Monogalloyl glucose	
3,4,5-Tri-O-galloylquinic acid	

IV.4.2. Composition des fruits

Les composés phénoliques identifiés dans le fruit de *P. lentiscus* (L.) sont constitués essentiellement d'acides phénoliques libres (les acides p-hydroxybenzoïque, gallique, cinnamylidène acétique) et estérifiés (acides quinique, 4-O-glucoside p-coumarique, 5-galloylquinique, l'isomère de acide caffeoylquinique et 3,4,5 O-acide trigalloylquinique), de flavonoïdes (quercétine, taxifoline, quercétine-3-O-glucuronideet lutéoline 6,8-di-C-hexoside), un secoiridoïde (oléoside) et d'un diterpène phénolique (épirosmanol) (Trabelsi et al., 2015).

L'huile végétale (fixe) représente 38,8 % du poids des fruits et contient 53 % d'acide gras monoinsaturé. Le principal acide gras est l'acide oléique (50 -72%), suivi des acides palmitique (23,2%) et linoléique (21,7%). Les autres acides gras retrouvés en faibles quantités

sont les acide palmitoléique (1.3%), stéarique (1.1%), linoléique (0.8%), gadoléique (0.2%) et arachidique (trace). Quatre stérols ont été trouvés dans l'huile fixe, le β -sitostérol (90%), le camestérol, le cholestérol et le stigmastérol (Trabelsi et *al.*, 2011).

L'huile essentielle représente 0,2% du poids des fruits. Les composés caractéristiques sont des monoterpènes (α -pinène, β -pinène, β -myrcène, limonène, et α -phéllandrène), quelques sesquiterpènes, des esters aliphatiques, des cétones, et des composés phénoliques (thymol et carvacrol) (Grant et *al.*, 1990 ; Congiu et *al.*, 2002).

Les protéines représentent 5% du poids des fruits (Hamad et al, 2011). La composition minérale de ces fruits montre que la teneur en potassium est élevée (2,67%), alors que celles du sodium, calcium et phosphore sont plus faibles.

IV.4.3. Composition de la résine

La résine, également connue sous le nom de mastic (ou mastix), est une substance aromatique et résineuse qui suinte du tronc et des branches principales du lentisque. Elle est récoltée comme une épice dans le Sud de l'île grecque de Chios en mer Egée, où elle est également connue sous le nom "Tears Chios". Les analyses chimiques ont révélé la présence d'un polymère de myrcène, le cis- 4-poly- β - myrcène, une petite fraction d'huile essentielle (environ 2%), des triterpénoïdes sous forme de deux types de squelettes tétracyclique (euphane et dammarane) et pentacycliques (oleanane et lupane). Des triterpénoïdes bicycliques et tricycliques ont été également identifiés (Belfadel, 2009).

IV.5. Activité pharmacologique de *pistacia lentiscus*

Les intérêts du lentisque sont nombreux, il est exploité pour la résine qu'il secrète dans ses tiges, ses feuilles, son bois et ses fruits pour des usages alimentaires, domestiques ou médicaux (Djedaia, 2017)

IV.5.1. Activité antibactérienne

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

IV.5.2. Activités antimicrobiennes et antivirales

Les composés phénoliques de *pistacia lentiscus* ont un moyen de défense contre les micro-organismes. Les nombres de groupement hydroxyle augmente la toxicité contre soit par la chélation des ions métalliques, soit par des interactions non spécifiques, telles que

l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires, afin d'inactiver l'adhésion des micro-organismes (Cowan, 1999 ; Lin et al, 2005).

IV.5.3. Activité anti-inflammatoire

La présence de flavonoïdes dans les différentes parties de *pistacia lentiscus* confirme la puissance de l'activité anti-inflammatoire, cela par l'inhibition d'importantes enzymes de régulation. En effet, certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines, des molécules pro-inflammatoires très actives. Cet effet serait dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de lipooxygénase, de la cyclooxygénase et de phospholipase A2 (Manthey, 2000 ; Bozorgi et al, 2013).

IV.5.4. Activité antioxydant

La richesse des différentes parties de *pistacia lentiscus* en polyphénols et en flavonoïdes lui confère l'activité antioxydante et cela par le piégeage direct des ERO, l'inhibition des enzymes génératrices d'ERO, la chélation des ions de métaux de transition, responsables de la production des ERO et l'induction de la biosynthèse d'enzymes antioxydantes (Halliwell., 1994 ; Atmani et al., 2009 ; Bozorgi et al, 2013). Les extraits des feuilles de *P. lentiscus* ont une puissante activité antiradicalaire (Arab et al , 2014 ; Krimat et al, 2014).

IV.6. Application industrielle de *pistacia lentiscus*

De nombreux produits sont formulés à partir d'ingrédients issus de *Pistacia lentiscus* tels que la résine, l'huile essentielle, l'huile végétale ou des extraits enrichis. La société Super Smart commercialise un supplément naturel à base de la résine de mastic (*Pistacia lentiscus*) sous le nom de Mastic gum. Ce supplément nutritionnel semble protéger la muqueuse gastrique, possède des effets antimicrobiens et antifongiques et présente un intérêt contre la dyspepsie et les ulcères gastroduodénaux. La boîte de 60 gélules est vendue à 32 euros. Mastic Gum est un autre produit à base de la résine de *Pistacia lentiscus*, commercialisé par la société Jarrow formulas pour protéger l'estomac et prévenir les problèmes gastriques. L'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* est commercialisée par de nombreuses sociétés comme Vitalba, Huiles & Sens, Florame, etc. Cette huile est connue pour ces propriétés anti-oedémateuse, antalgique cutanée, parasiticide, insectifuge, décongestionnante veineuse et lymphatique, décongestionnante prostatique et décongestionnante des sinus et des bronches. L'huile végétale des fruits de Lentisque obtenue par pression mécanique est également commercialisée par le laboratoire Nature orient. Le Lentisque est même utilisé dans plusieurs

parfums comme Lilaia (Bvlgari), Infusion d'Iris (Prada), French Mastic (Queen B), etc. La (figure 18) regroupe les produits commercialisés à base de Lentisque (Chaabani, 2019)

A



B



C



D



Figure 18 : Produits commercialisés à base de *Pistacia lentiscus*. A. Huiles essentielles, B. Huiles végétales, C. Compléments alimentaire, D. Parfums. (Chaabani., 2019).

Etude
Expérimentale

Les plantes ont été de tout temps les alliées de l'homme, d'abord pour se nourrir et aussi pour soulager et guérir ses maux. En fait, les plantes constituaient la base de la pharmacopée et de la thérapeutique des civilisations antiques, grâce à la présence de certains composés naturels bioactifs appelés les métabolites secondaires. Ces derniers sont doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes, terpènes etc...

Notre recherche s'oriente vers la plante médicinale *Pistacia lentiscus L* considérée comme source énorme de multiples substances phytothérapeutiques douées d'activité antioxydant et qui peuvent être l'arme permettant de faire face au stress oxydant et ses dégâts au niveau des organes de l'être vivant ; avec cette approche nous avons procédé à la réalisation de la présente étude qui est axées principalement sur la mise en évidence de l'activité antioxydante des extraits de fruits de *Pistacia lentiscus L* de la région de Jijel , d'en déterminer les teneurs en polyphénols totaux et des flavonoïdes.

L'examen phytochimique permet de détecter la présence ou l'absence des constituants chimiques essentiellement les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et de déterminer leurs rendements.

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur des réactions colorimétriques à dosages spectrophotométrique. Les extraits sont utilisés pour évaluer leur pouvoir antioxydant par différentes méthodes parmi elles la méthode de piégeage du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , la réduction de fer et la mesure des activités enzymatiques mitochondriales (MnSOD et Catalase).

I. Etude phytochimique des fruits de *pistacia lentiscus L*

I.1. Préparation de l'extrait sec des fruits du pistachier lentisque

Des fruits murs de *Pistacia lentiscus L* ont été récoltés au mois de Novembre (2019) de la région de Jijel (Texenna).

Les fruits ont été séchés pendant un mois à température ambiante dans un endroit ombragé et loin de la lumière vive. Le broyage des fruits ainsi séchés a été réalisé à l'aide d'un broyeur électrique de marque Sayona 300W et tamisées pour récupérer une poudre très fine.

Car les grains de *pistacia lentiscus* sont pleines d'huile nous devons passer par l'étape de délipidation qui consiste à éliminer le maximum des huiles contenues dans les grains du pistachier afin d'utiliser les tourteaux délipidés pour l'extraction des métabolites secondaires

L'huile contenue dans les graines est extraite par macération dans l'éther de pétrole à température ambiante pendant 2h. Pour ce faire, 50g de la poudre de fruits est introduite dans un erlenmeyer contenant de 500 ml d'éther de pétrole en respectant le rapport 1g de poudre dans 10ml d'éther de pétrole le macérât est décanté pendant 12 h et la phase éther de pétrole est prélevée. L'huile ainsi extraite est obtenue après évaporation de l'éther de pétrole, sous pression réduite par un rotavapeur à 40°C (Michawieyz, 2013).

I.1.1.Extraction par l'éthanol

L'extraction des composés phénolique à partir du végétal (tourteaux delipidés) passe par les étapes suivantes (Revilla et *al*,2001 ; Ojeil et *al*, 2010).

- ✓ **Etape 1:** la poudre végétal (tourteaux delipidés) et macérée dans de l'éthanol pendant une semaine.
- ✓ **Etape 2 :** le macérât est ensuite filtré et pour une meilleure extraction nous épuisé le les tourteaux de fruits par deux autres macérations dans l'éthanol pendant 3 jours chacune. Les filtrats issus des trois différentes macérations sont poolés.
- ✓ **Etape 3 :** le filtrat récupéré est soumis à une évaporation dans un rotavapor à 65°C jusqu'à l'élimination de l'éthanol. L'extrait ethanologique est obtenu au fond du ballon sous forme d'extrait sec.

I.1.2.Extraction avec l'eau chaude

Cette méthode a été effectuée selon le protocole décrit par (Nshimiyimana et *al*., 2010) avec quelques modifications. Pour cela, la poudre végétale est ajoutée à l'eau distillée, après agitation manuelle, le mélange est chauffé dans un bain marie à 65°C pendant 30 minutes puis refroidi à température ambiante et laissé macérer pendant une semaine.

A la fin de la macération une filtration est effectuée à l'aide d'un papier wathman n°1.

- ❖ Le calcul du rendement de l'extraction est déduit par la formule suivante :

$$R \% = (M - M_0 / M_t) \times 100$$

Avec :

R% : taux de la matière extraite.

M : masse du ballon après l'extraction.

M0 : masse de ballon vide (avant l'extraction).

T : masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction.

I.2. Dosage des polyphénols

La teneur en composés phénoliques de l'huile de *Pistacialentiscus Lest* estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu selon (Li et al., 2007) qui est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique (WO_4^{2-}) phosphomolybdique (MoO_4^{2-}) de réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (Géorgé, 2005).

1 ml de réactif de Folin (10 fois dilué) est ajouté à 200 µl d'échantillon ou standard (préparés dans l'eau distillée ou l'éthanol avec des dilutions convenables), Après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765nm. (Benslama, 2020)

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 µg/ml) et est exprimée en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'huile (µg Acide gallique/mg d'huile).

I.3. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée selon Bahorum et ses collaborateurs (1996) (Bahorum, 1996) pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait de *Pistacia lentiscus L.*

1 ml d'échantillon ou de standard (préparés dans l'éthanol ou l'eau distillé avec dilutions convenables) est ajouté 1 ml de la solution d' $AlCl_3$ (2% dans l'éthanol). Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-40 µg/ml) et est exprimée en mg d'équivalent de quercétine par mg d'extrait. (Zain., 2014).

I. 4. Dosage des tanins

Les quantités de tanins condensés ont été estimées par la méthode de la vanilline. Un volume de 50 µl de l'extrait a été ajouté à 1500 µl de solution vanilline/méthanol (4%, m/v) puis mélangé au vortex. Ensuite, 750 µl d'acide chlorhydrique concentré (HCl) ont été ajoutés et laissés réagir à température ambiante pendant 20 min (Julkunen et Titto R., 1985). L'absorbance à 550 nm a été mesurée par rapport à un blanc.

La concentration en tanins a été estimée en milligrammes d'équivalents catéchine (CAT) par gramme d'extrait sec à partir de la courbe d'étalonnage (0 et 300 ug/ml) (mg CAT. Eq/g extrait). Tous les tests ont été réalisés en triple.

II. Evaluation de l'activité antioxydant des extraits de *Pistacia lentiscus L*

II.1. Etude de l'activité antioxydant des extraits *in vitro*

II.1.1. Réduction du Fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

- **Principe :**

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. L'activité réductrice du fer de notre extrait est déterminée selon la méthode décrite par (Pan et al,2008) basée sur la réaction chimique de réduction du Fe^{3+} présents dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en Fe^{2+} . La réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe^{+3}) en couleur bleu-vert du fer ferreux (Fe^{+2}). Cette capacité réductrice peut servir comme un indicateur significatif de l'activité antioxydante potentielle d'un composé. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700nm. (Figure 19), selon la réaction suivante :

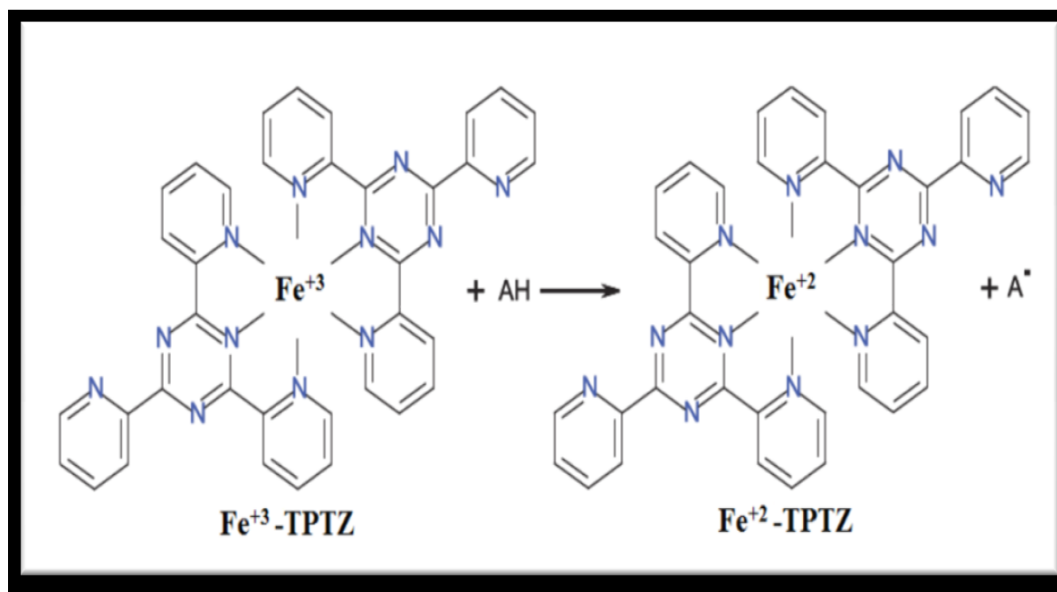
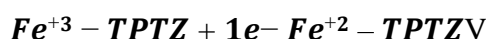


Figure 19: Réduction du complexe Fe^{3+} -TPTZ en Fe^{2+} -TPTZ par un antioxydant (Toure., 2015).

- **Mode opératoire :**

Un volume de 1ml de l'extrait à différentes concentrations (0.001-1mg/ml) est mélangé avec 2.5 ml d'une solution tampon phosphate 0.2 M (pH = 6.6) et 2.5 ml d'une solution de $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 minutes, puis refroidi à la

température ambiante. Ensuite, 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10 % sont ajoutés pour arrêter la réaction. Après, centrifugation des tubes à 3000 rpm pendant 10 minutes, 2.5 ml du surnageant sont ajoutés à 2.5 ml d'eau distillée et 500µl d'une solution de (FeCl₃, 6H₂O) à 0.1%. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm.

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôles positifs dans les mêmes conditions expérimentales. (Hemma et al.,2018).

L'activité antioxydant liée au pouvoir réducteurs des extraits est exprimée à l'aide de la formule suivant :

$$PR=100(Aa - Ab) / Aa$$

Aa : Absorbance de l'extrait

Ab : Absorbance du blanc

II.1.2. Test de piégeage de peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène est un dérivé non-radicalaire d'oxygène et considéré comme toxique pour les cellules car il permet la formation des radicaux hydroxyles à l'intérieur de la cellules (Bumrela et al.,2011)

- **Principe**

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basé sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV comme la concentration de H₂O₂ diminue par les composés piègeurs, la valeur d'absorbance de ce dernier à 230 nm diminue également. Néanmoins il est tout à fait normal que les échantillons absorbent également à cette longueur d'onde, exigeant ainsi l'exécution d'une mesure blanche (Malgalhaes et al.,2008)

- **Modes opératoires**

Pour étudier l'activité du piégeage du H₂O₂, nous avons utilisé la méthode décrite par (Ruch et al., 1989 et Bozin et al., 2008). 3.4 ml de l'extrait brut méthanolique et aqueux des fruits à une seule concentration (0.1µg/ml) préparés dans une solution tampon phosphate à 0.1 M (pH 7.4) sont mélangés avec 600 µl d'une solution de peroxyde d'hydrogène à 43 mM (préparée dans le même tampon phosphate). La réaction des échantillons avec le peroxyde d'hydrogène est suivie à l'aide d'un spectrophotomètre à 230 nm pendant 40 à 10 min d'intervalle. Dans les mêmes conditions opératoires, l'acide gallique et l'acide ascorbique et la querétrine à la même concentration choisie, sont utilisés comme contrôles positifs. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition selon la formule suivante :

$$\% \text{ du piégeage du H}_2\text{O}_2 = [(AC - AT) / AC] \times 100$$

AC : Absorbance du contrôle

AT : Absorbance du test.

II.2. Mesure de l'activité antioxydant sur la mitochondrie isolée

II.2.1. Extraction des mitochondries hépatiques

Les mitochondries de foie ont été préparées suivant le protocole décrit par (jonhson et lardy 1967). Le foie était prélevé d'un poulet.

5g de foie sont pesée, coupés à des petits morceaux et rincés deux fois dans le tampon de TSE (250Mm sucrose, 50mM Tris, 5mM EGTA, PH=7.2 à 4C°). Les morceaux de foie sont ensuite homogénéisés dans le potter Elvehjem (thomas C21729) contenant 15ml de tampon TSE. L'homogénéisation qui permet de casser les cellules et libérer les mitochondries et réalisée par aller/retour du piston de potter. Les mitochondries sont séparées en extraits membranaires et en cytosol par centrifugation de l'homogénat à 600g (1770tr/min SIGMA 3-16PK) pendant 10min à 4C°. Le surnageant obtenir est centrifugé à 15000g (11000tr/min SIGMA 3-16PK) pendant 5min à 4C°.

Après élimination du surnageant, le culot contenant les mitochondries est remis en suspension dans le tampon TSE et centrifugé à 15000g pendant 5min à 4C°. La même opération est répétée après reprise du culot dans le tampon TS (250Mm sucrose, 50mM Tris, PH=7.2 à 4C°). Le culot obtenu est ensuite remis en suspension dans 200µl de tampon TS.

II.2.2. Dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976)

Le dosage des protéines est effectué selon la technique de Bradford (1976). Elle est basée sur la complexation des aminés aromatiques présentes dans les protéines avec le Bleu Brillant de Coomassie (BBC). Pour le dosage des protéines, 5µl de la suspension ou de fraction cytosolique diluée au 1/10ème avec de l'eau distillée (50µl BSA pour la gamme étalon) sont ajoutés à 2.5 ml du réactif Bleu Brillant de Coomassie (BBC). Après agitation au vortex et incubation à température ambiante pendant 5 mn, la lecture de l'absorbance est effectuée à 595 nm (Bradford, 1976). La concentration des protéines est déduite à l'aide de la courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions par la BSA (Sérum Albumin Bovin).

II.2.3. Stimulation des mitochondries hépatiques

Après l'extraction des mitochondries hépatiques, le culot final suspendu dans 200µl de TS, ensuite le dosage des protéines a été effectuée par la méthode de Bradford. La suspension mitochondriale a été subit plusieurs traitements à différentes concentrations.

Dans un volume final de 500µl, 400µl de la solution mitochondriale à concentration de protéine 2mg/ml a été additionnée à 50µl de TS et 50µl de la substance à tester à différentes concentrations (dox), (dox + extrait aqueux), (dox+ extrait ethanologique).

Essaie 1 : (blanc) : 100µl de tampon TS + 400µl de la matrice mitochondriale.

Essaie2 : (traitement dox seul) : 50µl de TS + 50µl de dox + 400µl de la suspension mitochondriale.

Essaie 3 : (dox+extrait aqueux) : 50µl de dox +50µl d'extrait aqueux + 400 µl de la suspension mitochondriale.

Essaie 4 : (dox +extrait ethanologique) : 50µl de dox +50µl d'extrait ethanologique + 400 µl de la suspension mitochondriale.

Après cinq minutes d'incubation, une centrifugation de 15000 rpm pendant 20min à 4C° a été effectuée, le culot obtenu est suspendu dans 100 µl de la solution hypotonique (25mM KH₂PO₄, 5mM Megcl₂, PH 7.2). La suspension mitochondriale est subdivisée en des aliquotes pour effectuer l'extraction la matrice mitochondriale.

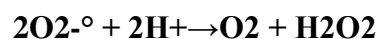
II.2.4. L'extraction la matrice mitochondriale

Les mitochondries traitées et récupérées la solution hypotonique ont été subit une série de 6 à 8 congélations – décongélation répétées avec un broyage vigoureux après chaque décongélation afin d'éclater la mitochondrie et libérer les enzymes mitochondriales, puis une centrifugation de 20 minutes a été effectuée à 9600 rmp à 4c°. Le surnageant obtenu utilisée comme une source enzymatique qui sert pour le dosage des activités CTA et SOD (Belli et al., 2010).

II.2.5 Mesure de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD)

- **Principe :**

La SOD est une enzyme antioxydant très importante dans le maintien d'une basse concentration de l'anion superoxyde. Elle catalyse la dismutation de l'O₂^{-°} en peroxyde d'hydrogène et en oxygène selon la réaction suivante :



L'activité enzymatique de la superoxyde dismutase cytosolique a été déterminée selon la méthode décrit par Marklund et Marklund, (1974). La mesure de l'activité de cet enzyme est basée sur la capacité de la SOD à inhiber l'auto-oxydation du pyrogallol.

La (figure 20) illustre quelques étapes de l'autoxydation du pyrogallol (Kim et al., 1994).

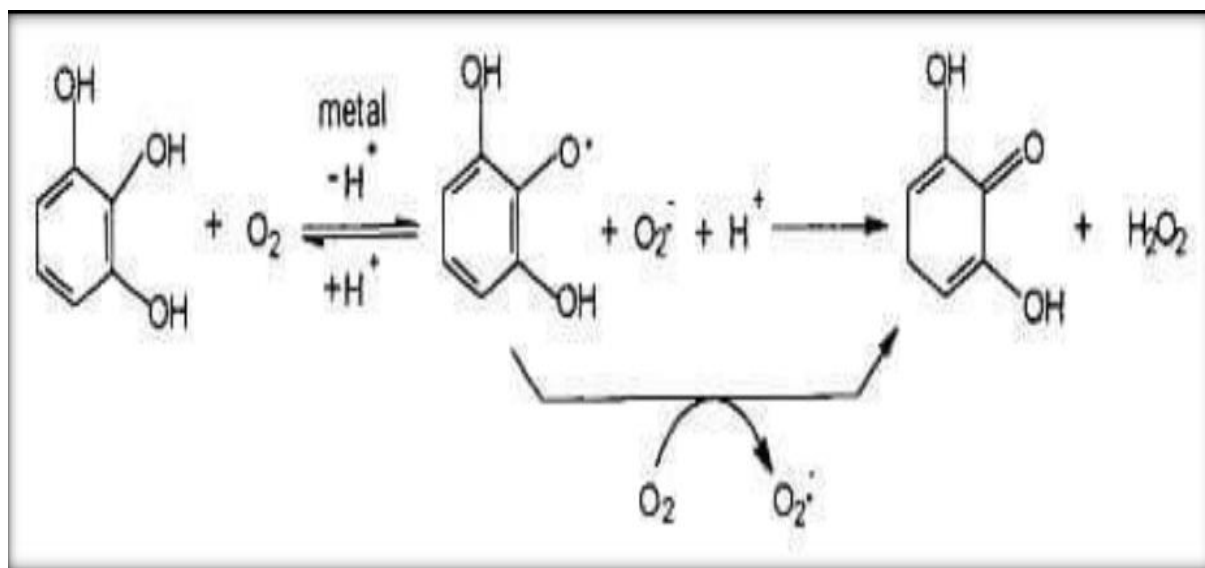


Figure 20 : Quelques étapes de l'auto oxydation de pyrogallol (Kim et *al.*, 1994).

- **Mode opératoire**

Cette autoxydation en présence d'EDTA est inhibée par la SOD jusqu'à 90% avec un pH entre (7.9 à 9.1), ce qui indique la dépendance de l'anion superoxyde dans cette autoxydation (Kim et *al.*, 1994).

Pour la mesure de l'activité de la SOD, dans la cuve de mesure on met : 850µL du tampon tris

HCL (50mM, PH=8.2), 15 µl de la matrice mitochondriale , 100µl de l'EDTA (10mM) et ensuite 50µL de pyrogallol (2.5 mM dans HCL 10mM). La lecture de la DO est effectuée à 420 nm chaque minute pendant 5 minutes.

Les résultats sont exprimés en UIde SOD / mg de protéines, une unité de l'activité de la SOD est définie comme l'enzyme qui causerait l'inhibition de 50% de l'autoxydation du Pyrogallol.

L'activité enzymatique en terme d UI /mg de protéine selon la formule suivante :

- $\% \text{ d'inhibition} = \frac{[(\text{DO contrôle}/\Delta T - \text{DO échantillon} / \Delta T)]}{\Delta T \text{ DO contrôle}} * 100$

$$\text{SOD UI/mg} = \% \text{ d'inhibition} / n * 50.$$

n : quantité de protéine en mg dans le volume de l'échantillons utilisée.

II.2.6.Mesure de l'activité enzymatique de la catalase

- **Principe**

La catalase ou CAT est une enzyme antioxydante qui agit en synergie avec la SOD pour accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.

Le principe est basé sur la disparition de l'H₂O₂ en présence de la source enzymatique à 25° C.(Kebsa, 2019)

- **Mode opératoire**

L'activité de la catalase a été déterminée selon la méthode de (Clairbone,1985). En bref, la cuve de mesure contient 1 ml du tampon phosphate (KH₂PO₄ 0.1M, pH 7.2), 0.975 ml peroxyde d'hydrogène (0.019M) et 0.025 ml de la source enzymatique. La lecture de la DO est effectuée à 230 nm chaque minute pendant 2 minutes. L'activité enzymatique est exprimée en UI/g de protéines selon la relation suivante :

UI/g de protéine = (2,3033/T. Log A1/A2) /g protéines.

Avec : A1 : Absorbance au temps 0 mn. A2 : Absorbance après 1 mn. T : Intervalle de temps mn.

Analyse statistiques

Les résultats sont donnés sous forme de moyenne ± écartype. Nos résultats sont vérifiés par le test de *student* avec un seuil de signification supérieur à 95% ($p < 0.05$).

($P > 0.5$), effet non significatif ns.

($p < 0.05$), désigne effet significatif * ou #.

($p < 0.01$), désigne effet hautement significatif ** ou ##.

($p < 0.001$), désigne effet très hautement significatif *** ou ###.

(* comparaison avec le témoin) ou (# comparaison avec le lot traité par le doxoburacine).

Résultats et Discussions

I. Analyse chimique de l'extrait de *pistacia lentiscus*.

L'extraction des composés phénoliques est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend de la méthode et du solvant d'extraction qui préserve leurs propriétés biologiques. Les résultats de l'extraction, et de l'étude phytochimique de *pistacia lentiscus L* utilisée dans cette étude sont représentés ci-dessous.

I.1. Calcul le rendement :

Après macération, l'évaporation de l'extrait éthanolique de la propolis a été effectuée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le poide sec a été pris afin de calculer le rendement d'extraction du plante , les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 3 ci-dessous.

$$R \% = (M - M_0 / M_t) \times 100$$

Avec :

R% : rendement d'extraction.

M : masse du ballon après l'extraction.

M0: masse de ballon vide (avant l'extraction).

Mt : masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction.

Le taux de la matière extraite est présenté dans le tableau suivant :

Tableau 3: Rendement d'extraction à partir de la matière végétale sèche

	Extrait aqueux	Extrait éthanolique
Rendement (%)	14%	1.31%

On observe que le rendement d'extraction à partir de la matière sèche pour un extrait aqueux est plus élevé que pour un extrait éthanolique.

I.2.Teneur en composés phénoliques

La spectrophotométrie permet de quantifier la teneur en composés phénoliques dans l'extrait éthanolique des fruits de *pistacia lentiscus* exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique, en milligramme équivalent de quercétine et en milligramme équivalent catéchine pour les polyphénols, les flavonoides et les tanins. La quantification a été faite en se référant aux courbes d'étalonnages réalisées dans les mêmes conditions (Annexe 1, 2 et 3 respectivement). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4 : Teneur en composés phénoliques dans les extraits de *Pistacia lentiscus L* utilisé.

	Extrait aqueux	Extrait éthanolique
Teneur en polyphénols (mg EAG / g MS)	29mg EAG/g MS	2.94mg EAG/1g MS
Teneur en Flavonoïdes (mg EAG / g MS)	1.40mg EQ/g MS	0.133mgEAG/1g MS
Teneur en tannins (mg EAG/g MS)	6.5230mgECT/gMS	0.98mg EAG/1g MS

Nos résultats montrent que l'extrait de *Pistacia lentiscus L* de région de Jijel présente un teneur élevé et riche en polyphénols par rapport au flavonoïdes et tanins.

II. Pouvoir antioxydant des extraits de PLL

II.1. Pouvoir réducteur du fer (test de FRAP)

Le pouvoir réducteur de l'extrait brut des fruits de *Pistacia lentiscus* est mesuré par la réduction directe de (Fe^{+3} -TPTZ) en une forme ferreuse (Fe^{+2} -TPTZ) qui est déterminée par la détection spectrophotométrique à 700 nm

Les résultats montrent que les extraits éthanolique et aqueux des fruits de *Pistacia lentiscus* possèdent un pouvoir réducteur important, Nous remarquons aussi que le pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique est légèrement supérieur à celle de l'extrait aqueux, Tandis que l'acide ascorbique présentent une activité réductrice maximal (figure 21)

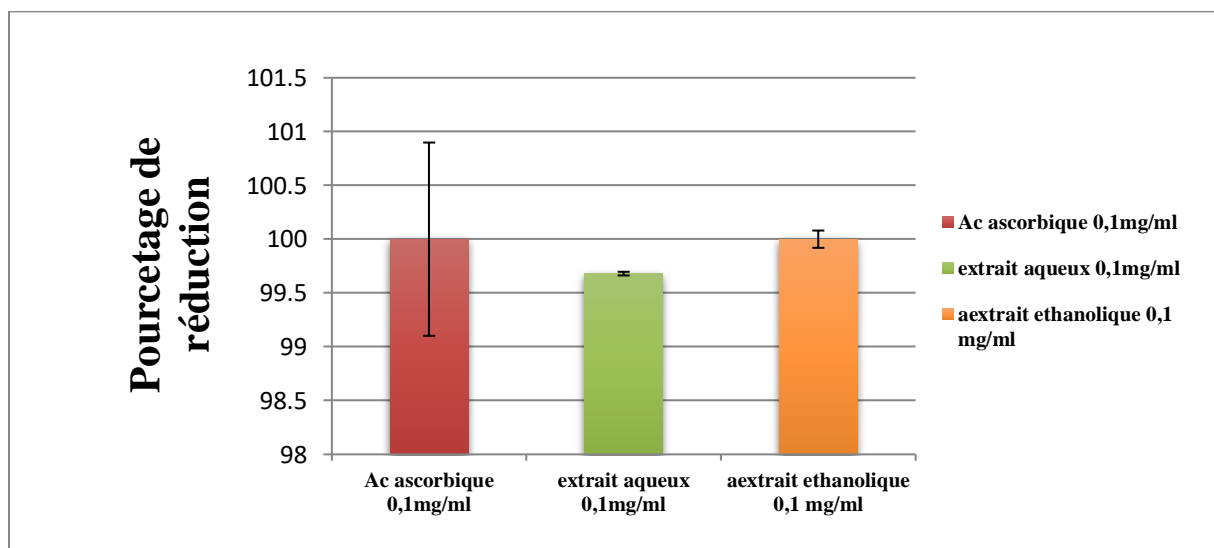


Figure 21 : pourcentage de réduction des extraits des fruits de *Pistacia lentiscus* et de l'acide ascorbique

II.2. L'effet scavanger de peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Nous avons étudié l'activité du piégeage du peroxyde d'hydrogène des extraits éthanolique et aqueux des fruits de *pistacia lentiscus*, A la concentration utilisée (0.1µg/ml) (figure 22).

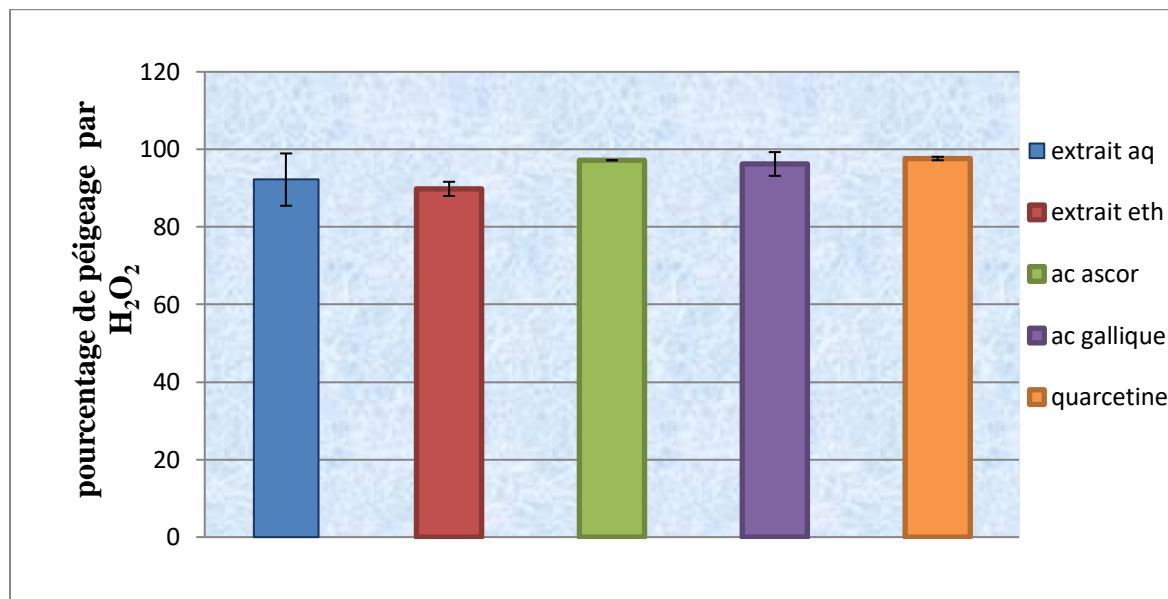


Figure 22 : pouvoir piégeur du H₂O₂ par les extrait des fruits de *pistacia lentiscus* L

Nous remarquons que parmi les références testées la quercétine présente un pourcentage de piégeage maximal de 97.63%, puis vient l'acide ascorbique et l'acide gallique avec des pourcentages de 97.19 % et 96.24 % respectivement, en ce qui concerne les extraits testés, l'extrait aqueux exerce un effet piégeur remarquable avec un pourcentage de 92.20%, suivi par l'extrait éthanolique avec un pourcentage de 89.81 %

D'après nos résultats, nous remarquons que les extraits des fruits de *pistacia lentiscus* ont présenté une activité moyenne par rapport à l'antioxydant de référence qui présentent un pourcentage de piégeage maximal (la quercétine).

II.3. Variation de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase mitochondriale

Parmi les systèmes antioxydants enzymatiques mitochondriaux, figure en première ligne la superoxyde dismutase (MnSOD). L'anion superoxyde O₂⁻, première espèce toxique formé à partir de l'oxygène, est éliminé ou au moins maintenu à un niveau de concentration assez bas par la (Mn SOD) qui catalyse sa disparition par dismutation. Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ainsi formé est dismuté en oxygène et en eau par la catalase (Andreyev *et al.*, 2005).

La SOD est essentiellement une enzyme protectrice qui élimine les ions superoxydes produits sous la forme de sous-produits cellulaires pendant le stress oxydatif (Pushpakiran *et al.*, 2004). Son activité réduite peut entraîner des effets indésirables, car les anions

superoxydes sont extrêmement toxiques et peuvent s'accumuler dans l'organisme. La détermination du statut antioxydant enzymatique dans le cadre de notre étude comprend la mesure de l'activité de Mn SOD, qui est une sorte d'enzyme antioxydante endogène qui peut éliminer les radicaux libres et avoir un effet protecteur sur les cellules (Leadon et al, 1988).

Les variations de l'activité enzymatique de la (Mn SOD) *in vitro* après un traitement par la Doxorubicine (1 μ M) seule et avec l'extait aqueux ou éthanolique des fruits de PLL (0.1mg/ml) sont présentées dans la figure 23 ci-dessous :

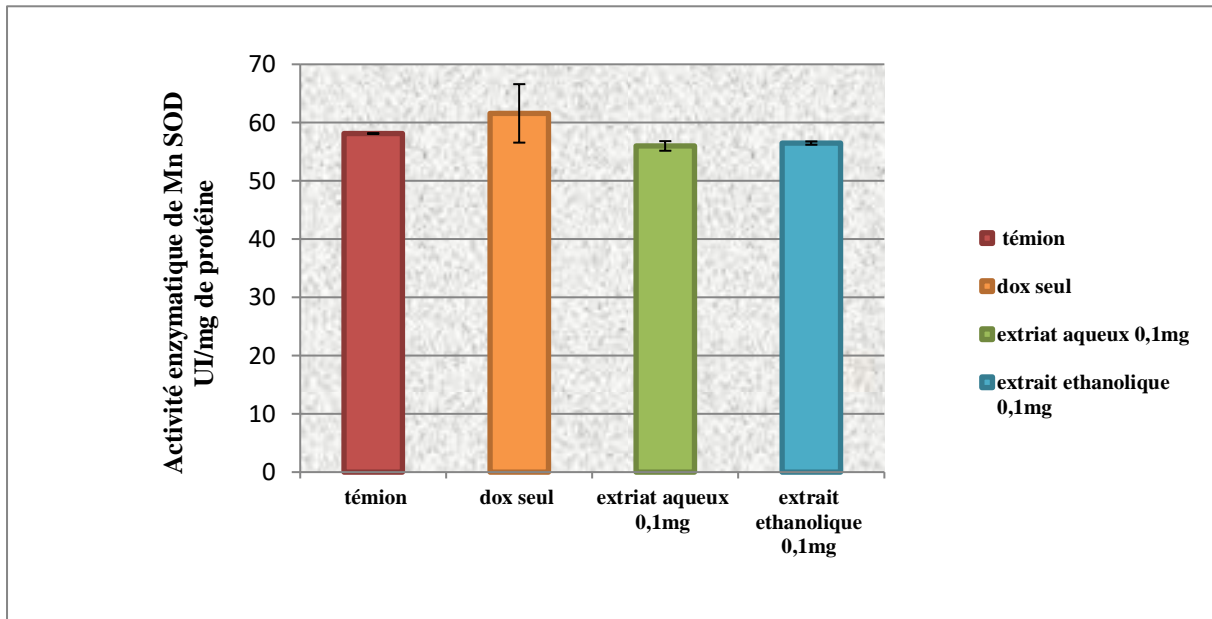


Figure 23 : Variation de l'activité enzymatique de la SOD dans la matrice mitochondriale hépatique, après un traitement par le DOXO seul (1 μ m), et en cas de la combinaison l'extrait + DOXO.

(* : Significative relatif au témoin, ** : hautement significative, *** : très hautement significative)

(# : Significative relatif au doxorubicine, ## : hautement significative, ### : très hautement significative).

Selon la figure 23 une augmentation non significative ($p > 0.05$) de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase mitochondriale en présence de la DOX.

Le traitement *in vitro* des mitochondries hépatique par les deux extraits de fruits de PLL conduit à une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique de la SOD par rapport au témoin et au produits de référence (l'acide ascorbique). La MnSOD mitochondriale et impliquée dans le piégeage de l' O_2° par les deux extraits de *pistacia lentiscus*.

En comparaison avec la DOXO, les deux extraits de *pistacia lentiscus* ont montré une diminution de l'activité enzymatique de la SOD qui est significative ($p < 0.05$) pour l'extrait éthanolique.

II.4. Variation de l'activité enzymatique de la catalase mitochondriale :

La catalase est l'un des antioxydants enzymatiques et éléments qui permettent le maintien de l'état normal dans la cellule, elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en H₂O et en O₂ moléculaire (Marfa k., 2003). Elle joue un rôle important dans la protection contre les effets délétères de la peroxydation lipidique, des ROS et des radicaux hydroxyles suite l'administration des anthracyclines (Vardi et al, 2010).

Les variations de l'activité enzymatique de la CAT mitochondriale traité par DOXO seul (1 μ M), et avec l'extrait aqueux ou éthanolique de *pistacia lentiscus* (0.1mg/ml) sont présentées dans la figure 24 ci-dessous

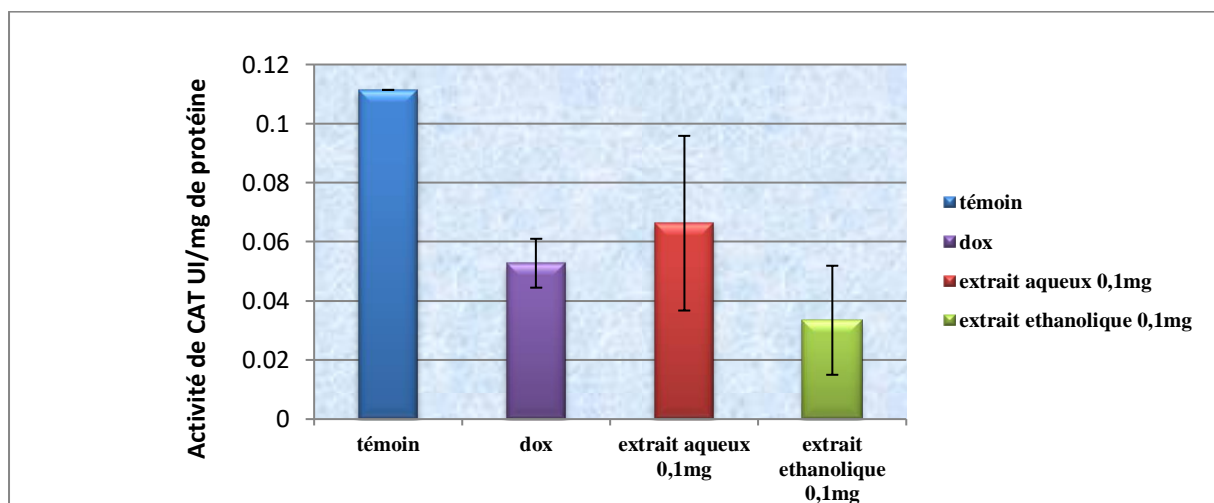


Figure 24 : Variation de l'activité enzymatique de la CAT dans la matrice mitochondriale hépatique, après un traitement par la DOXO seul (1 μ M), ou associée à l'extrait de *pistacia lentiscus L.*

(Comparaison au témoin : * : Significative, ** : hautement significative, *** : très hautement significative)

Coparaison à la DOXO # :Significative, ## : hautement significative, ### : très hautement significative).

Selon les résultats on constate une diminution très significative de la CAT ($p < 0.01$) par rapport au témoin et au DOXO et l'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus L.* Dans la matrice mitochondriale qui traités par DOXO et extrait de *pistacia lentiscus L.* on observe une augmentation de l'activité de la CAT été bien claire arrivant par rapport au groupe de DOXO seule.

Le travail de ce mémoire s'est consacré d'abord à l'étude phytochimique des deux extraits de la plante de *Pistacia lentiscus L* (de la région de Jijel) puis à l'évaluation des activités antioxydantes de cette plante.

Concernant l'étude phytochimique de la plante, nous avons réalisé des extractions des polyphénols responsables de son éventuelle activité antioxydante. L'extraction des composés actifs est basée sur leurs solubilités différentielles dans différents solvants organiques. Dans cette étude, l'extraction est réalisée à partir d'échantillon de plante dans l'éthanol et l'eau comme des solvants. Plusieurs phases ont été préparées suite à l'épuisement de l'extrait brut de l'échantillon par différents solvants. Un dosage des polyphénols a été réalisé afin de choisir l'extrait le plus riche en polyphénols.

À la fin des affrontements, les rendements obtenus se sont avérés complètement différents d'un extrait à l'autre et d'une phase à l'autre. Le meilleur rendement est obtenu avec l'eau (14%), le plus bas est enregistré avec l'éthanol (1.3%).

Le rendement est influencé également par la méthode d'extraction, la taille des particules formant l'échantillon, le solvant d'extraction, le temps et les conditions d'extraction dépendent de la méthode de la macération par exemple la macération à l'eau chaud aide à l'extraction et cette méthode est la plus utilisée en phytochimie.

De plus, ce taux croit avec l'augmentation du temps de macération, cependant la composition qualitative reste la même (Silva *et al.*, 2006). L'extrait peut contenir des quantités variables d'acides phénoliques, flavonoïdes et tanins. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols (Koffi *et al.*, 2010). La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Elle est donc affectée par la polarité du solvant utilisé. Par conséquent, il est très difficile de développer un procédé d'extraction approprié pour extraire tous les composés phénoliques et augmenter de ce fait le rendement d'extraction (Jokić *et al.*, 2010).

Les résultats de l'analyse phytochimique de la teneur en polyphénols et flavonoïdes et en tanins effectuée sur l'extrait éthanolique et aqueux de *Pistacia lentiscus L* de la plante ont montré la présence des phénols, de flavonoïdes et de tanins. Les composés phénoliques sont bien connus comme des agents antioxydants et dirigés contre les radicaux libres associés aux dommages oxydatifs. Cette différence dans les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dépend essentiellement de l'origine de la plante, la saison de la récolte, les conditions

climatiques et environnementales, la localisation géographique, et les conditions de conservation.

Les concentrations de ces composés bio actifs peut contribuer de manière synergique dans le pouvoir antioxydant important de la plante et peut ainsi soutenir l'usage local pour le traitement des maladies liées par des radicaux libres (Awoyinka *et al.*, 2007) ainsi que la composition chimique de la plante varie essentiellement avec la région de collection et par conséquent l'activité biologique (Lahouel *et al.*, 2010).

Le pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP), Mesure la capacité des antioxydants à réduire le complexe ferrique 2,3,6-Tripéridyl-S-Triazine à complexe ferreux de couleur bleu intense dans le milieu acide (Hemma,2018). La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle. Beaucoup de publications ont indiqué qu'il y a une corrélation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants de quelques plantes(Yang *et al.*, 2008).

Notre résultats montrent que les extraits des fruits de PLL présentent un pouvoir réducteur important par rapport au produit de référence (acide ascorbique), cela peut s'expliquer par la présence des composés chélateurs dans les extraits

D'autre part, et dans une étude rapportée par Bougandoura et Bendimerad(2013) montrant que le pouvoir réducteur des extraits peut-être dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électrons. De même, une étude qui a porté sur dix espèces de plantes médicinales méditerranéennes, a découvert que les résultats qui ont un pouvoir de réduction plus important étaient ceux de *Pistacia Lentiscus* (Gnoclaves *et al.*, 2012) ce qui confirme nos résultats.

Les polyphénols ont été démontrés pour avoir une action protectrice chez les mammifères et les cellules bactériennes contre la cytotoxicité induite par le peroxyde d'hydrogène, avec notamment des composés phénoliques de type flavonoïdes, tels que la quercétine, la catéchine, et d'autres polyphénols comme les esters d'acide gallique et d'acide caféique (Kumaran et Karunakaran, 2007).

Nos résultats montrent que les extraits de fruits de *Pistacia lentiscus* L ont présenté une activité antioxydante de réduction du H₂O₂ comparable à celle des produits de référence (la quercétine), cela est dû à la présence des composés phénoliques dans les extraits de PLL. Confirmant ainsi le pouvoir antioxydant des extraits de *Pistacia lentiscus* L.

Dans une autre recherche rapportée par Gnoclaves et ses collaborateurs(2012) qui a porté sur dix espèces de plantes médicinales méditerranéennes, a montré que *Pistacia lentiscus L* présente le pourcentage de piégeage le plus important parmi les dix espèces étudiées ce qui est en accord avec les résultats de la présente étude (Gnoclaves *et al.*, 2012).

Dans un modèle physiologique d'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* nous avons utilisé la mitochondrie en tant qu'entité afin d'apprécier le système enzymatique antioxydant.

Plusieurs agents endogènes ou exogènes peuvent provoquer l'état de stress oxydatif. C'est un syndrome au cours duquel les éléments prooxydants dépassent la capacité antioxydante de l'organisme. Il en résulte un déséquilibre entre prooxydants et antioxydants. Le métabolisme des médicaments anticancéreux constitue un facteur exogène type conduisant à ces déséquilibres à différents niveaux de l'organisme par la production des espèces réactives de l'oxygène (Coogh *et al.*, 1990).

Des études ont rapporté que les métabolites réactifs aglycone issus de la biotransformation de la doxorubicine peuvent s'accumuler dans la membrane mitochondriale interne où ils interfèrent avec les transporteurs d'électrons de la chaîne respiratoire et sont de ce fait la cause première de la libération du cytochrome *c* (Clementi *et al.*, 2003).

Pour cela, les activités enzymatiques de la MnSOD et de la Catalase dans la matrice des mitochondries isolées de foie de poulet, ont été mesurées après stimulation par la DOX et les extraits de PLL. Nous avons relevé une augmentation des activités de la MnSOD chez les mitochondries traités par la DOX. La DOX est associée à l'augmentation des dommages oxydatifs de l'ADN et des protéines *via* la surproduction des RL (Alyane *et al.*, 2008). Une autre étude a rapporté que l'augmentation du taux de RL par rapport au témoins est inhérente à l'effet prooxydant de la DOX sur les mitochondries hépatiques et cardiaques (Benguedouar *et al.*, 2008). Dans un autre études dans le même axe de notre étude rapportée par Berthain, (2000) a montré que la SOD est le premier mécanisme de défense contre l'effet des ions superoxydes sur la mitochondrie et d'autres organes cellulaires (Berthain, 2000).

D'autre part, et dans un étude rapportée par Huang et ses collaborateurs (1997) ont remarqués une réduction de l'activité enzymatique chez la matrice traité par la Dox seule. Et ont expliqués cette réduction par la destruction de la SOD suite au stress oxydatif induit par les métabolites toxiques du médicament ou encore à son oxydation par les ROS (Huang *et al.*, 1997).

Des études ont rapporté que les métabolites réactifs aglycone issus de la biotransformation de la doxorubicine peuvent s'accumuler dans la membrane mitochondriale interne où ils interfèrent avec les transporteurs d'électrons de la chaîne respiratoire et sont de ce fait la cause première de la libération du cytochrome *c* (Clementi *et al.*, 2003).

La doxorubicine interfère avec la respiration mitochondriale à plusieurs niveaux de la chaîne de transport d'électrons et ce en déviant les électrons du complexe I de la chaîne respiratoire pour générer des radicaux libres semiquinone, initier un cycle d'oxydo-réduction conduisant à une stimulation de la production de ROS (Davies et Doroshow, 1986 ; Doroshow et Davies, 1986 ; Nohl *et al.*, 1986).

Dans la présente étude, le traitement des mitochondries hépatiques par les deux extraits de PLL a conduit à une diminution de l'activité de la MnSOD mitochondriale ce qui montre un effet piègeur supplémentaire des extraits réduisant ainsi le taux de RL.

La catalase est l'un des antioxydants enzymatiques, elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en H_2O et en O_2 moléculaire (Marfak, 2003).

D'après nos résultats, on observe une diminution de l'activité de la catalase chez les mitochondries traitées par la DOX, qui est associée à une attaque radicalaire induisant des dommages aux macromolécules de l'organite, on constate qu'il y a une corrélation (relation) entre l'activité du SOD et de la Catalase. L'étude a montré que le H_2O_2 n'est pas formé seulement à partir de la dismutation de l'anion superoxyde puisqu'il peut aussi être produit par différentes oxydases incluant les aminoacides oxydases, la glycolate oxydase et l'urate oxydase (Gardès-Albert *et al.*, 2003). L'activité de la catalase présente une augmentation chez les mitochondries traitées par Dox et PLL. Cette activation de la Catalase est forcément due à une forte production de peroxyde d'hydrogène principal substrat de la Catalase (Marfak, 2003).

Conformément à nos résultats, il a été rapporté que les flavonoïdes qui constituent d'importants composants de la plante peuvent maintenir les niveaux de CAT dans les mitochondries et peuvent montrer aussi une augmentation de l'activité SOD (Kamaraj *et al.*, 2009). Les composés phénoliques possèdent aussi un effet régulateur sur les activités enzymatiques antioxydantes telles que la catalase, la SOD et la glutathion peroxydase (Akyol *et al.*, 2016).

*Conclusion et
Perspectives*

Le stress oxydatif est un processus qui aboutit à la production d'espèces réactives de l'oxygène, entraînant l'oxydation de différentes molécules, ce qui finit par une altération parfois irréversible des organes.

Le présent travail portant sur deux axes dont le premier concerne l'analyse phytochimique de extraits des fruits de *Pistacia Lentiscus L* de la région de Jijel, par le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes et des tanins, le deuxième axe porte sur l'évaluation de l'activité antioxydant des extraits des fruits de *Pistacia Lentiscus L*.

Les résultats obtenus dans cette étude ont montré que les extraits des fruits de *Pistacia Lentiscus L* présentent une activité antioxydant par leur pouvoir réductrice de fer, avec un pourcentage piègeur de H₂O₂ important.

Afin de confirmer les résultats à un niveau plus approfondie une étude *In vitro* a été réalisé sur des mitochondrie hépatique du poulet, De cette étude nous pouvons ressortir les points suivants :

- Le traitement par la DOX provoque une augmentation de l'activité de MnSOD ce qui confirme la toxicité de la DOX comme agent producteur des RL.
- La diminution de l'activité de la MnSOD et l'augmentation de l'activité de CAT après traitement par les extraits de *Pistacia Lentiscus L*, confirme le pouvoir scavanger contre les espèces réactives de l'oxygène des extraits de fruits de *Pistacia Lentiscus L*.

Perspectives

Cette recherche nécessite d'autres études plus approfondies pour mieux se concentrer sur les effets révélés. Il serait souhaitable de développer cette étude en mesurant d'autres paramètres du statut antioxydant et pro-oxydant comme l'activité enzymatique de GSH, et les dégâts d'un stress oxydant comme la peroxydation lipidique en mesurant le taux de MDA

Références
Bibliographiques

- **Ait Said S.**, (2011), Stratégies adaptatives de deux espèces du genre *Pistacia* (*P. Lentiscus* L. et *P. Atlantica* Desf.) aux conditions d'altitude, de salinité et d'aridité : approches morpho anatomiques, phytochimiques et écophysiologiques, Doctorat en sciences biologiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, Algérie, p.160.
- **Alberts B, Alexander J, Julian L, Martin R, Keith R, Peter W** (2002). *Molecular biology of the cell*, 4th. New York, Garland Science, p.1616
- **Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., et Watson JD.**, (1994), Energy conversion : Mitochondria and chloroplasts, *Molecular biology of the cell*, p. 653-720.
- **Alcaraz M J., Gualillo O., Sánchez-Pernaute O.**, (2013), Studies on Arthritis and Joint Disorders, *Springer New York*, p.3-31
- **Ali-Shtayeh M S., Yaghmour R.M.R., Faidi Y.R., Salem K.A.L., Al Nuri M.A.**, (1998), Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area, *Journal of Ethnopharmacology* ,60, p.265-271.
- **Ali-Shtayeh M S., Yaniv Z., Mahajna J.**, (2000), Ethnobotanical survey in the Palestinian area : classification of the healing potential of medicinal plants, *Journal of Ethnopharmacology*, 73, p. 221-232
- **Arab K., Bouchenak O., Yahiaoui K.**, (2014), Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle et des composés phénoliques du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.), *Journal of Fundamental and Applied Science*,6,(1),p.79-93
- **Assis S H. C., & Mela., M.**, (2014), Fish neurotoxic pollutants. In E. A. de Almeida & C. A. de O. Ribeiro (Éd.), *Pollution and Fish Health in Tropical Ecosystems*,(CRC Press), p. 51-83.
- **Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, k., Loumis H., Boudaoud H.**, (2009), Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants, *Food Chemistry*,112(2), p.303-309.
- **Awoyinka T, Huang Z, Jiang S.**(2007). Apoptose dans l'hypertrophie cardiaque induite par la surcharge de pression est médiée, en partie, par adénine nucléotide translocator-1. *Science et analyse clinique de laboratory.*; 36 (1): 88-95.
- **Bahorum T.**, (1996), Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Centrafricaine. Paris : ACCT, *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*,10, (2017), p.273-285.

- **Balasundram N., Sundram K., et Samman S.,** (2006), Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chemistry*, 99, p.191–203.
- **Barnabé N, Zastre JA, Venkataram S, Hasinoff BB** (2002). Deferiprone protects againstdoxorubicin-induced myocyte cytotoxicity. *Free radical biology and Medicine*, 33,(2), p.266-275
- **Bartosz G.,** (2003), Generation of reactive oxygen species in biological systems, *Comments on Toxicology*, 9, p.5-21.
- **Baudoux D.,** (2003), L'aromathérapie : Se soigner par les Huiles Essentielles, édition Amyris, p.145-146.
- **Beckman j., Beckman T., Chen j., Marshall P., et Freeman B.,** (1990),Apparent hydroxylradical production by Peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide andsuperoxyde, *Proceeding of the National Academy Science, USA*, 87p.1620-1624.
- **Belfadel F Z.,** (2009), Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* –Caractéristiques physicochimiques et effets biologiques, Mémoire présenté pour obtenir le diplôme de Magister en chimie organique, Université Mentouri Constantine, p.139
- **Belli N., Masbeh L., Chabab S., Tekouk M., Laghouchi E.,** (2010), Stress oxydant induit par la coexposition au plomb et au cadmium : deux contaminations des eaux souterraines d'oued nil (Jijel Algérie) SIC de l'eau, Université de Jijel ,23, p.289-301
- **Ben Douissa F.,** (2004), Etude Chimique et Biologique de *Pistacia lentiscus*, Grenoble 1, p330-331
- **Bensalem G.,** (2015), L'huile de lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) dans l'est Algérien : caractéristiques physico-chimiques et composition en acides gras, Thèse de magister, Université de Constantine 1, p.117.
- **Berthain K.,** (2000). Thèse de doctorat. Etude de la toxicité hépatique de la cocaïne associée a de l'alcool : effet de l'éthanol sur le métabolisme de la cocaïne dans l'hépetocyte de rat en suspension et dans un model enzymatique p : 10. Cité dans le mémoire de Magister : Kbsa W, (2006). Université de Jijel.
- **Boelsterli UA.,** (2007), *Mechanistic toxicology: the molecular basis of how chemicals disrupt biological targets*, CRC Press, p.12.

- **Bougandoura N., Bendimerad N.,** (2013), Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp.Nepeta* (L.) Briq, *Revue Nature & Technologie*,(9) ,p.17
- **Bougherara-Merzougui I.,** (2015), Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait de *Pistacia Lentiscus* et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques, Thèse de doctorat, Université d'Annaba, p.136.
- **Boullard B.,** (2001), Plantes médicinales du monde : croyances et réalités, *De boeck secundair*.
- **Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Goran A., Igc R.,** (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), *Food Chemistry*, 111, p. 925-929
- **Bozorgi M., Memariani Z., Mobli M., Surmogh M. H. S., Shams-Ardekani M. R. Rahimi R.,** (2013), Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology; *Scientific world journal*, 2013, p.33.
- **Bradford M M.,** (1976), A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein-dye binding, *Analytical biochemistry*, 72,(1-2), p.248-254.
- **Bravo L.,** (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56 (11),p 317-333.
- **Bruneton J.,**(1999), Phytochimie, Plantes médicinales, Pharmacognosie. 3eme édition, Paris, France,P. 125-165.
- **Bruneton J.,**(2008), Acides phénols. In : Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. *Edition Tec & Doc, Lavoisier, Paris*, p. 198-260
- **Bruyne T., Pieters L., Deelstra H., et Vlietink A.,** (1999). Condensed vegetable tannins: Biodiversity in structure and biological activities, *Biochemical Systematic and Ecology*, 27, p 445-459.
- **Bumrela S B., Naik S R.,** (2011), Identification of 3-carotene and 3-sitosterol in méthanolique extract of *dipteracanthus patulus* (Jacq) nees and their role in antimicrobial and antioxidant activity, *International Journal of Phytomedicine*, 3(2), p.204
- .
- **Chaabani E.,** (2019), *Eco-extraction et valorisation des métabolites primaires et secondaires des différentes parties de Pistacia lentiscus*, Doctoral dissertation, Université d'Avignon ; Université de Carthage (Tunisie). p.21, p.31
- **Chaib A,** (2015), Guide des plantes phytothérapeutiques, Ed,Thala, El-Biar, Alger.

- **Chandrasekara A.**, (2019), Phenolic Acids, *Encyclopedia of Food Chemistry*, p.535-545.
- **Chen Y., Jungsuwadee P., Vore M., Butterfield DA., Clair DKS** (2007), Collateral Damage in cancer Chemotherapy: Oxidative stress in Nontargeted Tissues, *Molecular interventions*; 7, (3), p.147-156
- **Claiborne A.**, (1985), Catalase activity , *Handbook of Methods for oxygen Radical Research*, p.283-284
- **Clementi ME, Giardina B., Di Stasio E., Mordente A & Misiti F.**, (2003), Doxorubicin-derived metabolites induce release of cytochrome c and inhibition of respiration on cardiac isolated mitochondria. *Anticancer Res.* 23, p.2445–2450
- **Congiu R., Falconieri D., Bruno M., Alessandra P., Silvia P.**, (2002), Extraction and isolation of *Pistacia lentiscus* L. essential oil by supercritical CO₂. *Flavour and Fragrance Journal*, 17, (4), p.239-244
- **Cooper G M.**, (1999), La cellule une approche moléculaire, *Sinaver Associates Inc*, 10, p.390.
- **Cowan M.M.**, (1999), Plant products as antimicrobial agents, *Clinical microbiology reviews*, 12, (4), 564 -582.
- **Crozier A.**, (2003), Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants' Diet and Health*". Ed. *Goldberg*, p. 27- 48.
- **Csiszár J., Horváth E., Bela K., Gallé Á.**, (2016), Glutathione-related enzyme system : glutathione reductase (GR), glutathione transferases (GSTs) and glutathione peroxidases (GPXs), *Redox State as a Central Regulator of Plant-Cell Stress Responses*, p.137-158.
- **Davies KJ & Doroshov JH.**, (1986), Redox cycling of anthracyclines by cardiac mitochondria. I Anthracycline radical formation by NADH dehydrogenase. *J Biol Chem*, 261:3060–3067.
- **De Lanfranchi F., Mai B T., Girard M.**, (1999), La fabrication d'huile de lentisque (Linsticu ou chessa) en Sardaigne, *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 41, p. 81-100
- **Delemasure S., Vergely C., Zeller M., Cottin Y., Rochette L.**, (2006), Prévention de la cardiotoxicité des anthracyclines , approche fondamentale des mécanismes mis en jeu ; relations avec les données cliniques, *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 55p.104-112.

- **Derbel S., Ghedira K.**, (2005), Phytothérapie et nutrition : Les phytonutriments et leur impact sur la santé, *Phytothérapie*, 1, p. 28-34
- **Descamps E., Gelé P, Bordet R., Vamecq J.**, (2006), Modulation pharmacologique du stress oxydatif, *la lettre du pharmacologue*, 20, (4), p.107-118
- **Djedaia M S.**, (2017), Etude physico-chimique et caractérisation du fruit de la plante lentisque (*Pistacia Lentiscus L.*), Université Badji Mokhtar Annaba, p.8
- **Doroshov JH & Davies KJ.**, (1986), Redox cycling of anthracyclines by cardiac mitochondria. II Formation of superoxide anion, hydrogen peroxide, and hydroxyl radical. *J Biol Chem*, 261:3068–3074.
- **Duncan K R., Suzuki Y J.**, (2018), Vitamin E nicotinate, *Antioxidants*, 6,(1), p.20.
- **Druzyńska B., Stepnińska A., Wolosiak R.**, (2007), The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts, *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6, p.27-36.
- **Dob T., Dahmane D., Chelghoum C.**, (2006), Chemical Composition of the essential oils of *Pistacia lentiscus L.* from Algeria, *Journal of Essential Oil Research*, 17, p.642-644
- **Dogan Y., 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), p.73–88.
- **Duchen M R.**, (1999), Contributions of mitochondria to animal physiology: from homeostatic sensor to calcium signaling and cell death, *Journal Physiology*, 516, p.1-17.
- **Ece A., Gurkan F., Celik F., Boşnak M., Yel S., Balik H., Erel O.**, (2007), Paraoxonase: total antioxidant activity and peroxide levels in marasmic children: relationships with leptin., *Clinical Biochemistry*, 40, (9-10), p. 634-9.
- **Etienne H M.**, (2004), La voie de reduction dans la maturation des cytochromes de type c mitochondriaux : etude de la protein CCMH d'arabidopsis thaliana, Doctorat dissertation p.1-3.
- **Favier A.**, (2003), Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, p.108-115.
- **Ferradji A.**, (2011) Activités antioxydante et antiinflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. Mémoire de Magister en Biochimie, option : biochimie appliquée, Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie, p.68.

- **Fleury C., Mignotte B., et Vayssière J L.,** (2002), Mitochondrial reactive oxygen species in cell death signaling, *Biochimie*, 84, (2), 131-141.
- **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 p153-162.
- **Fraga C.J., Oteiza P.I.,** (2011),Dietary flavonoids: role of epicatechin and related procyanidins in cell signaling, *Free Radical Biology and Medicine*, 51(4),p. 813-823.
- **Gambliel H.A., Burke B.E., Cusack B.J., Walsh G.M., Zhang Y.L., Mushlin P.S., Olson R.D.,**(2002),Doxorubicin and C-13 Deoxydoxorubicin Effects on Ryanodine Receptor GeneExpression, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 291 ,p. 433-438.
- **Gammella E, Maccarinelli F, Buratti P, Recalcatti S, Cairo G** (2014). The role of iron inanthracycline cardiotoxicity. *Frontiers in Pharmacology*, 5,p.25.
- **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.
- **Goncalves S., Gomes D., Costa P., & Romano A.,** (2013), The phenolic content and antioxidant activity of infusions from Mediterranean medicinal plant, *Journal of Industrial Crops and Products*,43, p.468– 469
- **Gardès A., Dominique B., Zohreh A.,et Daniel J.,**(2003). Espèces réactives de l’oxygène Comment l’oxygène peut-il devenir toxique ,Mécanismes biochimiques ,p91-96.
- **Gascon S .,** (2015),Développement d’un modèle de suivi en imagerie TEP de la cardiotoxicitéinduite par chimiothérapie chez la souris,Mémoire du grade de maître en sciences desRadiations et imagerie biomédicale,Université de Sherbrooke p. 1-15
- **Géorgé S., Brat P., Alter P., Amiot J.M.,** (2005), Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products, *Journal agriculture and food chemistry* ,53, p.1370-1373
- **Ghedira K.,** (2005), Les flavonoïdes : structures, propriétés biologiques, rôles prophylactiques et emplois en thérapeutique, *Phytothérapie*, 04, 162-169.

- **Gilkerson RW., Selker J M L., Capaldi R A.,** (2003), The crystal membrane of mitochondria is the principal site of oxidative phosphorylation, *FEBS Lettre*, 546, p.355-358.
- **Giuseppe P., Francesca M., and Giuseppe P.,** (2003), Role of reactive oxygen species and cardiolipin in the release of cytochrome c from mitochondria, *The FASEB Journal*, 17, p.2202-2208.
- **Grant wyllie S., Joseph J B., Vassilios S., Hobbs T.,** (1990), Volatile components of the fruit of *Pistacia Lentiscus*, *Journal of food science*, 55 (5), p.1325-1326
- **Green PS, Leeuwenburgh C.,** (2002), Mitochondrial dysfunction is an early indicator ofdoxorubicin- induced apoptosis, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1588 ,p.94-101
- **Grimm M O., Mett J., Hartmann T.,** (2016), The impact of vitamin E and other fat-soluble vitamins on alzheimer’s disease, *international journal of molecular sciences*,17, (11), p.1785.
- **Goudable J., Favier A.,** (1997),Radicaux libres oxygénés etantioxydants, 11,p.115-20
- **Grosjean N.,** (2007), L'Aromathérapie, Edition Eyrolles, p.163
- **Guignard J L.,** (2000), Les composés aromatiques In : Biochimie végétal, *Ed : Dunod*, p. 161-217.
- **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.
- **Halliwaell B.,** (1994), Free radicals and antioxidants: a personal view, *Nutrition reviews*, 52, (8), p. 253-265.
- **Halliwell B., Gutteridge J M.,** (1991). Free radicals in biology and medicine, *Price: \$98 US hardcover; \$39.95 US softbound; \$50£ Outside US*, p.540
- **Hamad H., Habib I H., Gonaid M H., Mojahidul M.,** (2011), Comparative phytochemical and antimicrobial investigation of some plants growing in al jabal al-akhdar, *Journal notion product plant resour*, 1, (1), p.15-23.
- **Hande K.R.,** (1998), Clinical applications of anticancer drugs targeted to topoisomerase II, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1400,(1-3),p. 173-184.
- **Hemma R., Belhadj S., Ouahchia C., & Saidi F.,** (2018), Antioxidant activity of *pistacia lentiscus* méthanolique extract, *Journal Agrobilologia*,8, (1),p.850

- **He Z., Xia W., Chen J.**, (2008), Isolation and structure elucidation of phenolics compounds in Chinese olive (*Cnarium album L.*) fruit, *European Food Research and Technology*, 226, p.1191-1196
- **Hortobàgyi G N.**, (1997), Anthracyclines in the treatment of cancer, *Drugs*, 54, p.1-4.
- **Hsiu-Chuan Y., Oberley T.D., Vchitbandha S., Ye-Shih H.O., et StClair D.K.**, (1996), The protective role of manganese superoxide dismutase against adriamycin-induced acute cardiotoxicity in transgenic mice, *Journal of clinical Investigation*, 98, p.1253-1260.
- **Huang MT, Xie J C & wang Z.y.**, (1997). Effect of tea, decaffeinated tea, caffeine on VVB light - induced complete caecemogenesis in SHK-1 mice demonstration of caffeine as a biologically important constituent of tea. *Biol Res*, 13: 2623 -2629. Cité dans le mémoire de Magister : Kessa W, (2006). Université de Jijel.
- **Ibn Bitar.**, (1989), Les médicaments explication du livre Diaciko Didos, La maison du Magreb islamique, Beyrouth.
- **Ibn Sina.**, (1965), La guérison Comité générale des affaires des imprimeries el Oumaouia, Egypte.
- **Isaacs R J., Davies S., Wells N J., Harris A.**, (1995), Topoisomerase Ha and 13 as therapy targets in breast cancer, *Anticancer Drugs*, 6, p. 195-211.
- **Iarussi DP., Indolfi F., Casale P., Coppolino M.A.**, (2001), Recent advances in the prevention of anthracycline cardiotoxicity in childhood, *Current Medicinal Chemistry*, 8,(13),p.1649-1660.
- **Iserin P.**, (2001), Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soin 2^{ème} édition Ed Larousse/VUEF, p.13-16, p. 250, p.291-296.
- **Iwata S., Lee J W., Okada K., Lee J K., Iwata M., Rasmussen B., Link T A., Ramaswany S., et Jap B K.**, (1998), Complete structure of the 11-subunit bovine mitochondrial cytochrome bcl complex, *Science*, 281, p.64-71.
- **Jain D.**, (2000), Cardiotoxicity of doxorubicin and other anthracycline derivatives. *Nuclearcardiology*, 7, p.53-62
- **Jain M., Barthwal S K., Barthwal R., Govil G.**, (2005), Restrained molecular dynamics studies on complex of adriamycin with DNA hexamer sequence d-CGATCG, *Archemie Biochemistry Biophysiology* 1,439, (1), p.12-24.

- Jokić S., Velić D., Bilić M., Bucić-Kojić A., Plan inić M. and Tomas S.,(2010),Modelling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans. *Jornal Food Science .*, 28,p. 206-212.
- **Jonhson D., Lardy H.A.**, (1967), Isolation of liver kidney mitochondria, Methods, *In Enzymology*,10, p.94-96
- **Julkunen-Titto R.**, (1985), Phenolic constituents in the leaves of northern Willows methods for the analysis of certain phenolics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 33, p. 213– 217.
- **Kebsa W.**, (2019), Etude des mécanismes de cytotoxicité et de réversion de la Multi Drug Résistance (MDR) à la doxorubicine par la propolis et l'acide gallique dans le cas du cancer de poumon *in vivo* et *in vitro*, Université de Jijel, p.72.
- **Kim J.S., Han D., Moon DK., Rhee J.S.**, (1994), Measurement of superoxyde dismutase- like Activity of naturel antioxydants. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 59, (5), p.826-882
- **Kirkwood J S., Lebold K M., Miranda C L., Wright C L., Miller G W., Tanguay R., Stevens J F.**, (2012), Vitamin C deficiency activates the purine nucleotide cycle in zebrafish. *Journal of Biological Chemistry*, 287, (6), p.3833-3841
- **Koechlin R C.**, (2006), Oxygène, stress oxydant et supplémentations, antioxydant ou un aspet différent de la nutrition dans les maladies respiratoire ,*Nutrition Clinique et Métabolisme* ,20,(4),p.165-177
- Koffi E., Sea T., Dodehe Y and Soro S.,(**2010**),Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *Journal Animal & Plant Scientific*,5p. 550-558.
- **Koutsoudaki C., Krsek M., Rodger A.**, (2005), Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus var. chia*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,53, p.7681-7685.
- **Krimat S., Dob T., Lamari L., Boumeridja S., Chelghoum C., Metidji H.**, (2014), Antioxidant and antimicrobial activities of selected medicinal plants from Algeria. *Journal of Coastal Life Medicine*,2, P.478-483
- **Kroemer G., Reed C.**, (2000), Mitochondrial control of cell death, *Nature medecine*, 6, p.513-519.

- **Krumova K., & Cosa G.,** (2016), Overview of Reactive Oxygen Species; Wang, P., Lu, X., Schneider, H. J., Jin, J., Shahinpoor, M., Ngai, T., Vollmer, D., Smart materials for advanced environmental applications, *Royal Society of Chemistry*, p. 252.
- **Kumaran A., Karuna Karan R.J.,**(2007), *In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of 5 Phyllanthus species from India, *LWT-food science and technology* ,40, p.344-345.
- **Lahouel M, Boautabet K, Kebsa W, Alyan M.**(2010). Polyphenolic fractions of Algerian propolis reverses doxorubicin induced acute renal oxidative stress. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*,; 4,(10),p.712-720.
- **Laliberte J., Labbe S.** (2008). The molecular bases for copper uptake and distribution: lessons from yeast. *Medecine Sciences*, 24 ,(3),p. 277-283.
- **Lev E., Amar Z.,** (2000), Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in Israel at the end of the 20th century. *Journal of ethnopharmacologie*, 72, p.191-205.
- **Liguori I., Russo G., Curcio F., Bulli G., Aran L. Della M.,** (2018), Oxidative stress, aging, and diseases, *Clinical Interview Aging* ,13,p.757-772.
- **Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F., Tian Y.,** (2007), Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae, *Food Chemistry*,102,p.771-776
- **Lin Y T., Vattem D., Labbe R G., et Shetty K.,** (2005), Enhancement of antioxidant activity and inhibition of Helicobacter pylori by phenolic phytochemical-enriched alcoholic beverage. *Process Biochemistry*, 40, (06), p.2059-2065.
- **Li T., Singal P.K.,** (2000), Adriamycin induced early changes in myocardial antioxidant enzymes and their modulation by probucol, *Circulation*, 102,p.2105–2010.
- **Liu X.,** (2003), Protection of Pifithrin- α and Melatonin against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Thesis of doctor of philosophy, East Tennessee State University*, p.13-24.
- **Loft S., Møller P., Cooke M.S., Rozalski R., Olinski R.** (2008), Antioxidant vitamins and cancer risk: is oxidative damage to DNA a relevant biomarker, *European Journal of Nutrition*, 47, (2): 19-28
- **Lu S.C.,** (2013), Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*,1830,(5),p. 3143-3153.

- **Magalhaes L M., Segundo M A., Reis S., Lima J L,** (2008), Methodologie al aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties, *Analytica chimica acta* ,613, (1), p.1-19.
- **Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L.,** (2004), Polyphenols: food sources and bioavailability, *American Journal of Clinical Nutrition*,79, 727-747.
- **Manthey J A.,** (2000), Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation, *Microcirculation*, 7,p.29-34
- **Maluf F.C., Spriggs D.,** (2002), Anthracyclines in the Treatment of Gynecologic Malignancies,*Gynecologic Oncology*, 85, p. 18-31
- **Marcot I., Migeon C., Parache R.M, Marchal S., Virion J.M.,** (1997),Comparative evaluationof quantitative immunocytochemical and biochemical assays for hormone receptors in breastcancer, *Bulletin du Cancer*, 84p.613-18
- **Marreiro D., Cruz K., Morais J., Beserra J., Severo J., de Oliveira A.** (2017). Zinc and Oxidative Stress: Current Mechanisms. *Antioxidants*, 6,(2),p.24
- **Martini N D.,** (2003), The isolation and characterization of antibacterial compounds from Combretum erythrophyllum (Burch.) Sond, University of Pretoria
- **Martin S., Andriantsitohaina R.,** (2002), Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de Cardiologie et d'Angiologie*, 51, 304-315.
- **Marfak A.**(2003). Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: Formation de Depsides. Thèse de Doctorat Université de Limoges. Spécialité: Biophysique,; pp: 6-34.
- **Mélissa F.,** (2009) Métabolisme énergétique mitochondriale dans le développement de la stéatose hépatique,Université d'Angers, p5-6
- **Micol V., Caturia N., Perez-Fons L., Mas V., Perez L., Estepa A.,** (2005), The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia Rhadovirus (VHSV). *Antiviral Research*, 66, p. 12 9-136.
- **Michayewicz N.,** (2013), L'Aloe vera, plante médicinale traditionnellement et largement utilisée depuis des millénaires aux propriétés thérapeutique, Plante miracle (Doctoral dissertation, Université de lorraine), p.44
- **Mompon B., Lemaire B., Mengal P. et Surbel D.,** (1996), Extraction des polyphénols: du laboratoire à la production industrielle. IN « Polyphénols 96 ». *Ed INRA*. 31-35.

- **Mross K., Mayer V., Hamm K., Burk K., Hossfeld D.K., (1990).** Pharmacokinetics and metabolism of iodo- doxorubicin and doxorubicin in humans, *European Journal of Clinical Pharmacology*, 39, p. 507-513.
- **Mussett S., (2002),** Etude bibliographique de l'expression du phénotype MDR dans les espèces humaine et canine, Thèse de doctorat de vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire de Lyon p.19-152
- **Nikinmaa M., (2014),** An introduction to aquatic toxicology, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53,
- **Nohl H, Gille L, Staniek K., (1998),** The exogenous NADH dehydrogenase of heart mitochondria is the key enzyme responsible for selective cardiotoxicity of anthracyclines. *Z Naturforsch C* 53, p279–285.
- **Nshimiyimana D S., He Q., (2010),** Radical scavenging capacity of Rwandan CTC Tea Polyphenols Extracted Using Microwave Assisted Extraction, Pakistan, *Journal of Nutrition*.9, (6) p.589-593
- **O'Connell J E., Fox P F.,(2001),** Signification and applications of phénolic compounds in the production and quality of milk dairy products: a review, *International Dairy Journal*, 11, (3), p. 103-120
- **Ojeil A., ElDarr N., ElHajj Y., Mouncef P B., Rizk T., Maroun, R.G., (2010),** Identification et caractérisation de composés phénoliques extraits du raisin château Ksara, *Lebanese Science Journal*,11, (2), p.117-131.
- **Omodanisi E., Aboua Y., Oguntibeju O., (2017),** Assessment of the anti-hyperglycaemic, antiinflammatory and antioxidant activities of the methanol extract of *Moringa oleifera* in diabetes-induced nephrotoxic male Wistar rats, *Molecules*, 22, (4), p. 439.
- **OMS., (2013),** Organisation mondiale de la santé. www.who.int
- **Oueslati K., (2017),** Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de fenton dans un milieu mimétique de la viande, Université de Clermont.
- **Outomuro D., Grana D.R., Azzato F., Milei J., (2007),** Adriamycin-induced myocardial toxicity: New solutions for an old problem, *International journal of cardiology*, 117, p. 6-15.
- **Palevitch D., Yaniv Z, (2000),** Medicinal plants of the Holy Land, *Modan Publishing House*, p.9-88.

- **Pan Y., Wang K., Huang S., Wang H., Mu X., He C., Ji X., Zhang J., Huang F.,** (2008), Antioxydant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel, *Food Chemistry*, 106, p. 1264-1270.
- **Paris M., Hurabeillen M,** (1981), Abrégé de Matière médicale, pharmacognosie. Ed : *Masson*, p. 210-215
- **Peña-Llopis S., Ferrando M. D., & Peña J. B.,** (2003), Fish tolerance to organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by N-acetylcysteine. *Aquatic Toxicology*, 65(4), 337-360.
- **Paolo B., Luca S., Raffaele C., Valeria P., and Fabio DL,** (1999) Mitochondria and cell death, *Eurution Journal Biochemistry*; 264, p. 687-701.
- **Pieme C.A., Tatangmo J.A., Sismo G., Nya P.C.B., Moor V.J.A., Moukette B. M., Sobngwi E.** (2017). Relationship between hyperglycemia, antioxidant capacity and some enzymatic and nonenzymatic antioxidants in African patients with type 2 diabetes. *BMC Research Notes*, 10,(1),p.141
- **Psotová J., Lasovský J. and Vičar J.,** (2003). Metal-chelating properties, electrochemical behavior, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolics. *Biomed. Papers*, 147(2): 147–153.
- **Powers S.K., Jackson M.J.,** (2008), Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production, *Physiological Reviews*, 88, (4),p. 1243-1276.
- **Quezel P.S,** (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No. 581.965 Q8).
- **Quiles J.L., Huerta J.R., Battino M., Mataix J., Ramirez-Tortosa M.C.,** (2002),Antioxydant nutrients and adriamycin toxicity. *Toxicology*, 180 ,p.79-95.
- **Rajendran P., Nandakumar N., Rengarajan T., Palaniswami R., Gnanadhas E.N., Lakshminarasaiiah U., Gopas J., Nishigaki I.** (2014). Antioxidants and human diseases. *Clinical chemical acta*, 436,p. 332-347.
- **Rauf A., Patelb S., Uddin G., Siddiqui, Bina S., Ahmad, B., Muhammad N., Mabkhotg Y., Ben Haddah T.,** (2017), Phytochemical ethnomedicinal uses and pharmacological profile of genus *Pistacia*, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 86, p. 393-404.

- **Regoli F., Giuliani M E., Benedetti, M., Arukwe A.,** (2011), Molecular and biochemical biomarkers in environmental monitoring: A comparison of biotransformation and antioxidant defense systems in multiple tissues, *Aquatic Toxicology*, 105, (3-4.), p. 56-66.
- **Revilla E., Garcia-Beneyter E., Gabello F., MartiOrtega M., Ryan J M.,** (2001), Value of high-performance liquid chromatography analysis of anthocyanins in the differentiation of red grape cultivars and redwines made from them, *Journal of chromatography* ,915, p.53-60.
- **Ribéreau-Gayon P,** (1968). Les composés phénoliques des végétaux. *Edition Dunod. Paris*, P. 173-201
- **Rizutto R., Printon P., Carrington W., Fay F.S, Fogarty K.E., Lifshitz L.M., Fuft R., Pozzan T.,** (1998), Close contact with the endoplasmic reticulum as determinant of mitochondrial calcium responses, 280, p .1763-1766.
- **Robert J., Gianni L.,** (1993),Pharmacokinetics and metabolism of anthracyclines, *CancerSurveys*, 17p. 219-51
- **Rolfe D.F., Brown G.C.,** (1997), Cellular energy utilization and molecular origin of standard,Physiological review,77,(3);p.731-758
- **Romani P., Pinelli C., Galardi N., Mulinacci M.,** (2002), Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia Lentiscus L*, *Phytochemical Analysis*, 13, (2), p.79-86.
- **Roussel A.M.** (2009). Qui manque d'antioxydants, et comment le savoir ? *Cahiers de nutrition et de diététique*, 44 ,(5),p. 230-236.
- **Ruch R J., Cheng S J., Klaunig J E,** (1989), Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea, *Carcinogenesis*, 10, (6), p.1003-1008.
- **Rudneva I,** (2014), *Biomarkers for Stress in Fish Embryos and Larvae*, *CRCPress*.
- **Shakeri F., Boskabady M.H.,** (2015), A review of the relaxant effect of various medicinal plants on tracheal smooth muscle, their possible mechanism (s) and potency. *Journal of Ethnopharmacology*, 175, p.528-548.
- **Sakagami H., Kishino K., Kobayashi M., Hashimoto K., Iida S., Shimetani A., Satoh K.,** (2009), Selective antibacterial and apoptosis-modulating activities of mastic. *In vivo*, 23, (2), p.215-223
- **Seigue A.,** (1985), La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes, Edition G.P. Maisonneuve & Larose, Paris, p.502

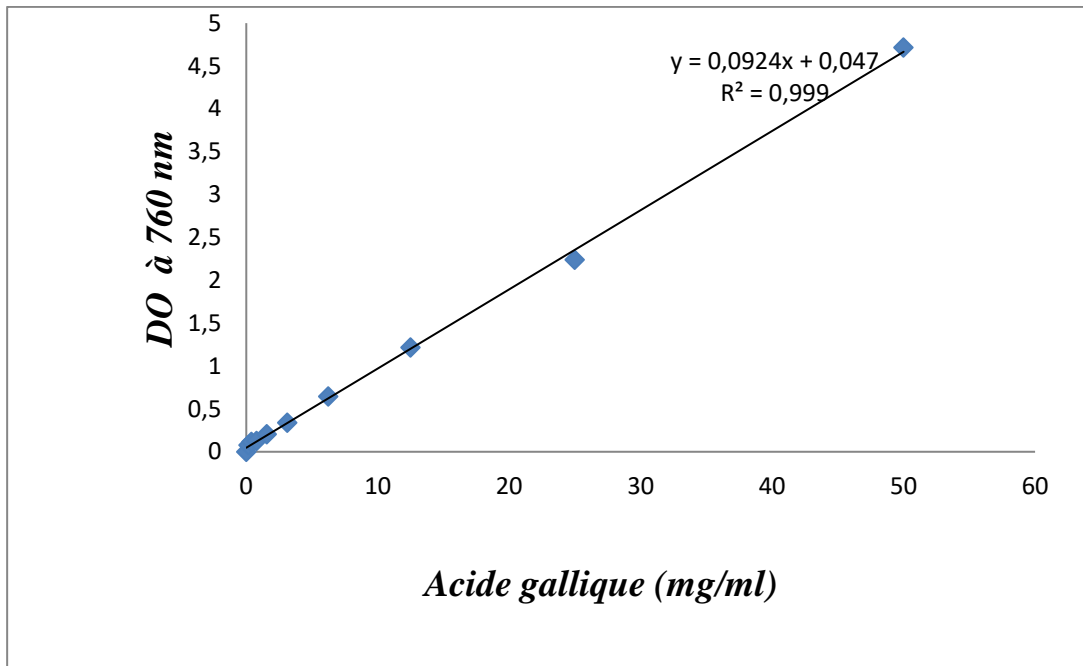
- **Sies H.**, (2019), Oxidative Stress: Eustress and Distress in Redox Homeostasis. In *Stress: Physiology, Biochemistry and Pathology*, p. 153-163, Academic Press.
- **Silva S., Gomes L., Leitao F., Bronse M., Caelho A V., Boas V.**, (2010), Secoiridoïde in olive seed: characterization of nüzhenide and 11-methyl oleosides by liquid chromatography with diode array and mass spectrometry, *Grassasy Aceittes*, 61(02), p. 157-164.
- **Siti H.N., Kamisah Y., Kamsiah J.**, (2015), The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review), *Vascular pharmacology*, 71, p.40-56.
- **Skerget M., Kotnik P., Hadolin B., Hras A R., Simonic M., Knez Z.**, (2005), Phenols, proanthocyanidines, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities, *Food Chemistry*, 89, p. 191-198.
- **Tacar O., Sriamornsak P., et Dass CR.**, (2013), Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 65,(2):157-170
- **Tauchen J., Duskocil I., Caffi C., Lulekal E., Marsik P., Havlik J., Van Damme P., Kokoska L.**, (2015), In vitro antioxidant and anti-proliferative activity of Ethiopian medicinal plant extracts, *Industrial Crops and Products*, 74, p. 671-679.
- **Tannock., Ian., et Richard P. Hill.**, (1998), *The basic science of oncology*, 3éd. New York: McGraw-Hill Health Professions Division, p.539.
- **Teuffel O., Leibundgut K., Lehrnbecher T., Alonzo T.A., Beyene J and Sung L.**, (2013), Anthracyclines during induction therapy in acute myeloid leukaemia, a systematic review and meta-analysis, *British Journal of Haematology*, 161,(2), p.192-203.
- **Tokarska-Schlattner M., Zaugg M., Zuppinger C., Wallimann T., Schlattner U** ., (2006), New insights into doxorubicin-induced cardiotoxicity: The critical role of cellular energetic, *Journal of Molecular and Cellular cardiology*, 41, p.389-405.
- **Toure D.**, (2015), Etudes Chimique Et Biologique Des Huiles Essentielles De Quatre Plantes Aromatiques Médicinales De Côte D’ivoire, Thèse pour le Docteur En Biochimie, Université Félix HOUPHOUËT- BOIGNY, p. 20 -21
- **Trabelsi H., Cherif O. A., Sakouhi F., Villeneuve P., Renaud J., Barouh N., Boukhchina S and Mayer P.**, (2011), Total lipid content, fatty acids and 4-

desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L growing wild in Tunisia, *Food Chemistry*, 131, (2), p. 434-440.

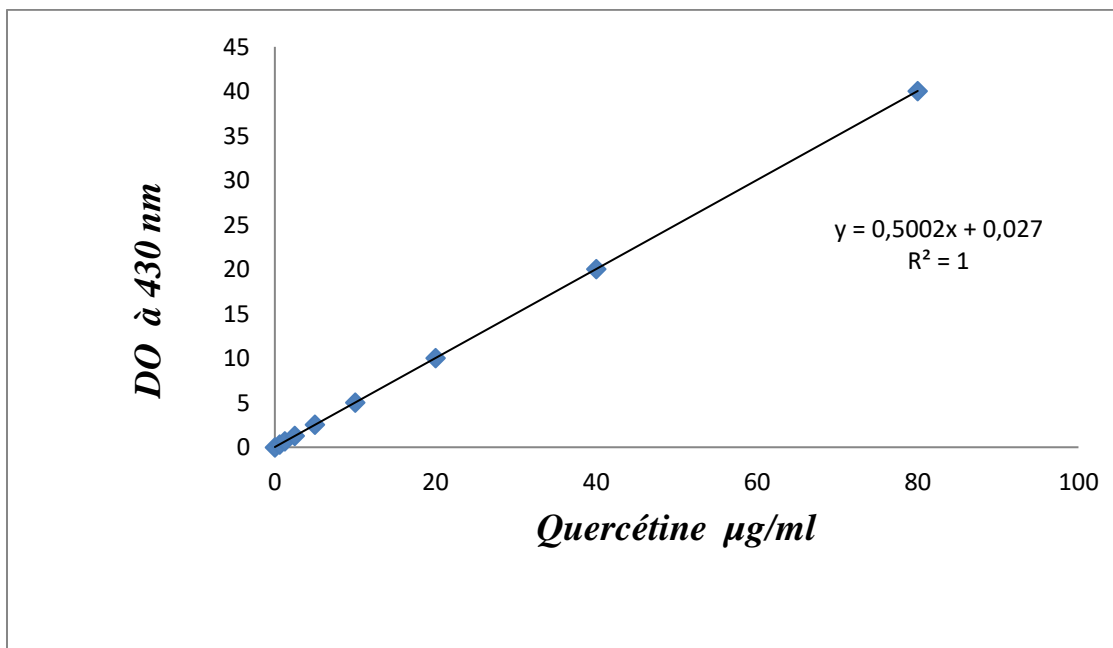
- **Trabelsi H., Renaud J., Herchi W., Boukhchina S., Mayer P.**, (2015), Triacylglycerols and aliphatic alcohols from fruits of three Tunisian *Pistacia lentiscus* populations, *Journal Scientifique Food Agric*, 95, p.2028-2032.
- **Trabelsi H., Cherif O. A., Sakouhi F., Villeneuve P., Renaud J., Barouh N., Boukhchina S., Mayer P.**, (2012), Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. *Food Chemistry*, 131, p. 2-6.
- **Silva JFM., Souza MC., Matta SR., Andrade MR., Vidal FVN.** Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chemistry*, **2006**; 99, 431-435.
- **Smietink J., van den Heuvel L., and DiMauro S.**, (2001) the genetics and pathology of oxidative phosphorylation. *Naturel Review Genet*, 2, p. 342-352.
- **Spector R., Johanson C.E.**, (2014), The nexus of vitamin, homeostasis and DNA synthesis and modification in mammalian brain, *Molecular Brain*, 7, (1), p. 3.
- **Stocker R., Keaney J.F.**, (2004), Role of oxidative modifications in atherosclerosis, *Physiological reviews*, 84, (4), p.1381-1478.
- **Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M.**, (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chemico-Biological interaction*, 160 p. 1-40.
- **Van der Oost R., Beyer J., Vermeulen N P E.**, (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment; a review *Enviironmental Toxicology and Pharmacology*, 13, (2), p.57-149.
- **Vander Heide R.S, L'Ecuyer T.J** ,(2007),Molecular basis of anthracycline-inducedcardiotoxicity,*Heart Metab*, 35,p.1-4.
- **Vasquez-Vivar j., Martasek P., Hogg N., Masters B.S., Pritchard K.A et Kalyanaraman B.**,(1997), Endothelial nitric oxide synthetase dependent superoxyde generation fromadriamycin, *Biochemistry*, 36,p.11293-7.
- **Vaya J., Mahmood S.**, (2006), Flavonoid content in leaf extracts of the fig (*Ficus carica* L.), carob (*Ceratonia siliqua* L.) and pistachio (*Pistacia lentiscus* L.), *Biofactors*, 28, (3, 4), p. 169-175.

- **Villar A., Sanz M.J., Payo M.,** (1987), Hypotensive effect of Pistacia lentiscus L, *International Journal Crude Drug Res*,25, p.1-3.
- **Watson R.R., Preedy V.R., Zibadi S.,** (2018), Polyphenols: Prevention and Treatment of Human Disease, 2 Ed., Academic press, p.484
- **Xu X., Persson H.L., Richardson D.R.,** (2005), Molecular pharmacology of the interaction of anthracyclines with iron, *Molecular Pharmacology*, 68 ,(2);p.261-271.
- **Yang J., Guo J., Yuan J.,** (2008). In vitro antioxidant properties of rutin, *Food Science and Technology*, 41, p.1063
- **Yu CA., Xia D., Kim H., Deisenhoefer J., Zhang L., Kachurin A.M,** (1998), Structural basis of functions of mitochondrial cytochrome bcl complex. *Biochimie biology Acta*,1365 p. 151-158.
- **Zachary S., Clayton P.D ., Vienna E., Brunt P.D.,** (2020), Doxorubicine-induced oxidative and endothelial dysfunction in conduit Arterie is prévented by mitochondrial specific antioxidant traitement , 2,(3),p.485
- **Zian N,** (2014), Contribution à l'étude de l'activité hypoglycémiant des extraits de *Pistacia atlantica* Desf de la réserve nationale d'El-Mergueb (M'sila) –Algérie, Université Ferhat Abas Sétif, p.42.
- **Zangar R. C., Davydov D. R., Verma, S,** (2004), Mechanisms that regulate production of reactive oxygen species by cytochrome P450,*Toxicology and Applied Pharmacology*, 199,(3), 316-331.
- **Zhou Q., Chowbay B.,** (2002), Determination of doxorubicin and its metabolites in rat serum and bile by LC: application to preclinical pharmacokinetic studies, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 30, 1063-1074.
- **Zucchi R., Danesi R .,** (2003), Cardiac toxicity of antineoplastic anthracyclines, *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*, 3,p. 151-71.

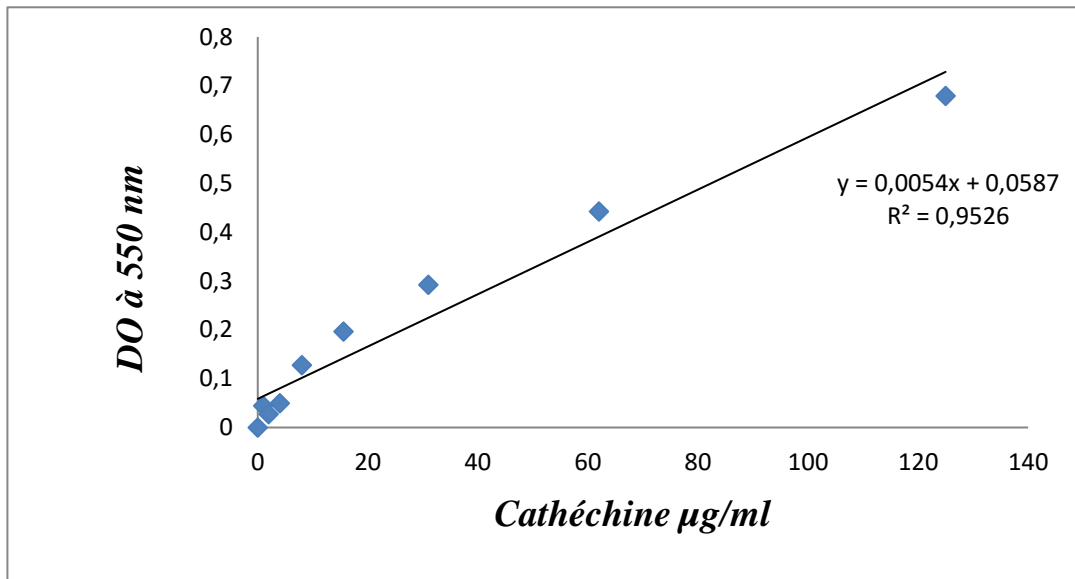
Annexes



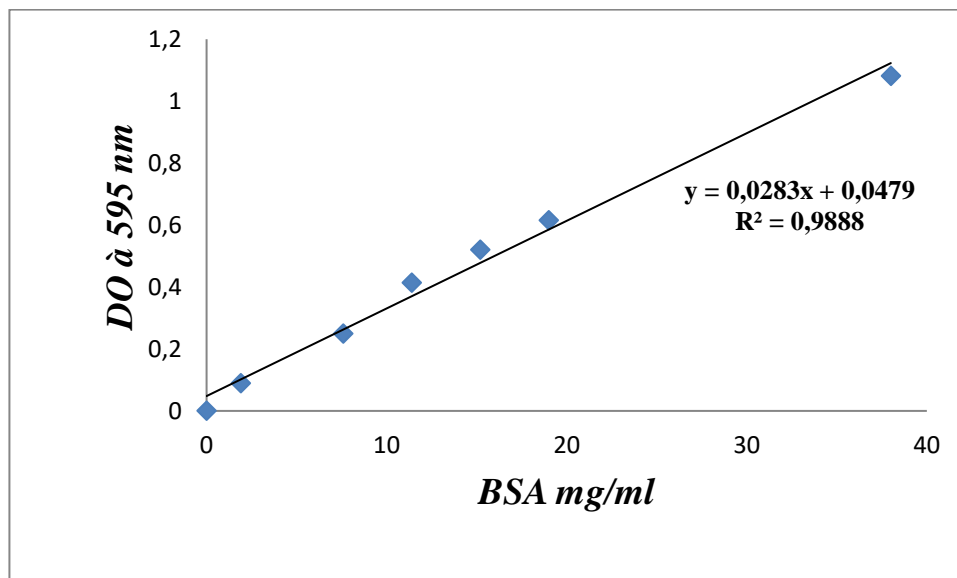
Annexe 1. Courbe d'étalonnage du dosage des polyphénols (acide gallique comme standard).



Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de dosage des flavonoïdes en µg/ml (quercétine comme standard), (moyennes de 3 essais).



Annexe 3. Courbe d'étalonnage du dosage des tanins (cathéchine comme standard).



Annexe 4. Courbe d'étalonnage des protéines (BSA comme standard).

Réalisée par :

Bouamoucha Hanane
Beltas Chahrazed

Encadré par :

Dr :Benguedouar.L

Investigation *in vitro* de l'activité antioxydant des extraits des fruits de pistachier lentisque de la région de Jijel dans un modèle mitochondrie hépatique

Résumé

Pistacia lentiscus L est une plante qui compte parmi la flore algérienne. C'est une source potentielle d'antioxydants naturels tels que les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins. L'objectif de notre étude est d'évaluer l'effet protecteur des extraits de *Pistacia lentiscus L* contre le stress oxydatif provoqué par la doxorubicine qui est un médicament anticancéreux largement utilisé en chimiothérapie. A cet effet, Les activités antioxydantes des extraits aqueux et éthanolique des fruits de la plante ont été évaluées par le test de FRAP et réduction de l'H₂O₂, ainsi que la mesure *in vitro* des activités de la SOD et la Catalase des mitochondries hépatiques sous le stimulus prooxydant de la DOX. Notre étude a abouti aux résultats montrant que l'extrait de *Pistacia lentiscus L* présente un effet réducteur du peroxyde d'hydrogène et du Fer ferrique. De plus, l'extrait a induit une augmentation des activités des enzymes antioxydantes SOD et CAT mitochondriales. L'effet, antioxydant, et protecteur de l'extrait de *Pistacia lentiscus L* contre les altérations provoquées par la DOX permet de suggérer son utilisation pour améliorer la santé du grand public et pour la prévention de plusieurs maladies telles que l'inflammation et le cancer.

Mots clés : Stress oxydant, l'extrait de *Pistacia lentiscus L*, Doxorubicine.

Abstract

Pistacia lentiscus is a plant that counts among the Algerian flora. It is a potential source of natural antioxidants such as flavonoids, polyphenols and tannins. The objective of our study is to evaluate the protective effect of extracts of *Pistacia lentiscus L* against oxidative stress caused by doxorubicin which is an anticancer drug widely used in chemotherapy. For this purpose, the antioxidant capacity of aqueous and ethanolic extracts from *pistacia lentiscus L* fruits have been assessed by FRAP method and reduction of H₂O₂ as well as the *in vitro* measurement of liver mitochondria SOD and Catalase activities under DOX prooxydant stimulus. Our study led to the results showing that the extract of *Pistacia lentiscus L* exhibits a reducing effect of hydrogen peroxide and ferric iron. In addition, the extract induced an increase in the activities of the mitochondrial antioxidant enzymes SOD and CAT. The antioxidant and protective effect of *Pistacia lentiscus L* extract against the alterations caused by DOX suggests its use to improve the health of the general public and for the prevention of several diseases such as inflammation and cancer. .

Key words: Oxidative stress, *Pistacia lentiscus L* extract, Doxorubicin

المخلص

Pistacia Lentiscus L هو نبات يُعد من بين النباتات الجزائرية. إنه مصدر محتمل لمضادات الأكسدة الطبيعية مثل الفلافونويد والبوليفينول والعفص. الهدف من دراستنا هو تقييم التأثير الوقائي لمستخلصات *Pistacia lentiscus L* ضد الإجهاد التأكسدي الناجم عن دوكتوروبيسين، وهو دواء مضاد للسرطان يستخدم على نطاق واسع في العلاج الكيميائي. تحقيقاً لهذه الغاية، تم تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة للمستخلصات المائية والإيثانولية لثمار النبات من خلال اختبار FRAP وتعديل H₂O₂، وكذلك القياس في المختبر لأنشطة SOD و Catalase للميتوكوندريا الكبدية تحت الحافز المؤكسد DOX. أدت دراستنا إلى النتائج التي أظهرت أن مستخلص *Pistacia lentiscus L* له تأثير مخفض لبيروكسيد الهيدروجين وحديد الحديد، بالإضافة إلى أن المستخلص تسبب في زيادة نشاط أنزيمات مضادات الأكسدة الميتوكوندريا SOD و CAT. يقترح التأثير المضاد للأكسدة والوقائي لمستخلص *Pistacia lentiscus L* ضد التغيرات التي يسببها DOX ويقترح استخدامه لتحسين الصحة العامة والوقاية من العديد من الأمراض مثل الالتهاب والسرطان.

الكلمات المفتاحية: الإجهاد التأكسدي، مستخلص *Pistacia lentiscus L*، دوكتوروبيسين