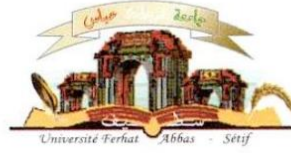


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

N°...../SNV/2014

**Département de Biologie et Écologie Végétale**

## **Mémoire**

Présenter par:

Mlle: **Ziane Nafissa**

Pour l'obtention du diplôme de

Magister en Biologie et Physiologie Végétale

Option: Valorisation des Ressources Végétales

## **THÈME**

**Contribution à l'étude de l'activité hypoglycémiant des extraits de *Pistacia atlantica* Desf de la réserve nationale d'El-Mergueb (M'sila) -Algérie**

Soutenue publiquement le ...../...../2014

**DEVANT LE JURY:**

<b>Président:</b>	<b>Pr.Bouzerzour Hmana</b>	Pr	U.F.A Sétif 1
<b>Rapporteuse:</b>	<b>Pr.Seraiche Dahamna Saliha</b>	Pr	U.F.A Sétif 1
<b>Examineur:</b>	<b>Pr.Khennouf Seddik</b>	Pr	U.F.A Sétif 1
<b>Examineur:</b>	<b>Pr.Laouer Hocine</b>	Pr	U.F.A Sétif 1

*Laboratoire de laboratoire de Phytothérapie appliquée aux maladies chroniques  
(L.P.A.M.C)*

## Remerciement

Merci ALLAH de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

Avant d'aborder l'exposé de mes résultats, qu'il me soit permis de remercier toutes les personnes qui, à des degrés divers, ont contribué à faciliter l'élaboration de ce modeste travail.

En premier lieu mes vifs remerciements s'adressent A Monsieur professeur **Adel Chaker** pour avoir proposé des postes de graduations nous donnant ainsi l'occasion d'y participer et d'arriver jusque là.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Phytothérapie appliquée aux maladies chroniques (L.P.A.M.C) à l'université Ferhat Abbes Sétif 1, sous la direction de madame le professeur **Seraïche née Dahamna Saliha**, à qui je tiens à exprimer toute ma reconnaissance pour m'avoir accueillie au sein de ce laboratoire et particulièrement pour m'avoir accepté de m'encadrer, pour ses conseils précieux, ses efforts et pour le soutien qu'elle m'a témoigné tout au long de ce travail.

Je tiens à remercier Monsieur le professeur **Bouzerzour Hmana**, de m'avoir fait honneur de présider le jury de soutenance. Ainsi que je remercie vivement Monsieur le professeur **Laouer Hocine** d'avoir accepté de juger mon travail de magister.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Monsieur le professeur **Khenouf Seddik**, pour son aide, ses conseils précieux et pour tout ce qu'il m'a appris et d'avoir accepté de juger mon travail. Aux professeurs **Harzallah Daoud**, **Baghiani Abderrahmane**, et **Amira Smain** et au docteur **Amira Fatima** pour leur aide et leur disponibilité.

Un remerciement particulier à M<sup>lle</sup> **Aouachria Sana** qui a vraiment m'aidé tout le temps et pour son support permanent.

Mes remerciements vont également à tout le personnel du laboratoire Central de l'Hôpital Universitaire de Sétif pour leur aide.

Mes sincères remerciements vont également à Monsieur **Amraoui Nacer**, M<sup>lle</sup> **Boussoualim Naouel** et Mm **Krache Imane** pour leurs aides. Ainsi que mes amis et collègues, pour avoir simplement été eux-mêmes et pour les moments inoubliables qu'ils m'ont permis de partager : Chaabna Naila, Cheniti Wafa, Naili Oumaima, Belhamra Zineb, Djidel Saliha, Harkati Zahra, Merghuem Mounira, Nouioua Wafa.

## Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mon défunt père

Qui a été le premier à m'encourager à aller si loin dans mes études. Il m'a inculqué le goût du travail, de la rigueur et de l'ambition. Parce que tu m'avais toujours soutenu, même au plus fort de ta maladie. J'ai voulu mener ce travail à terme pour que tu sois fier de moi.

Merci papa, merci pour tout

À ma très chère mère

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

À ma très chère sœur Fatima.

À mes très chers frères : Hamid, Samir et Said.

À mon marie

À mon neveu Bilel.

À mes chères ami(e)s et mes collègues.

Ainsi qu'à toute ma promotion de Magister 2011.

À Tous mes enseignants tout au long de mes études.

A tous ceux qui souffrent dans leur corps.

## Résumé

La présente étude vise à évaluer l'activité antioxydante des différents extraits, l'effet toxique et antidiabétique de l'extrait brut (EBr) des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf, plante utilisée comme remèdes traditionnels pour le traitement du diabète en Jordanie. Les feuilles ont été soumises à une extraction et fractionnement pour avoir les différents extraits : aqueux (EAq), brut (EBr), éther diéthylique (EEde), acétate d'éthyle (EAe), le n-butanol (ENb) et de fraction résiduel aqueuse (EAq\*). L'analyse quantitative a montré une présence importante des polyphénols et des flavonoïdes dans les feuilles de *Pistacia atlantica*. L'extrait brut (EBr) contient  $340.58 \pm 31.83$  µg équivalent acide gallique (EAG)/mg d'extrait alors que l'EEde contient la teneur la plus élevée en polyphénols ( $967.09 \pm 47.05$  µg EAG/mg d'extrait). L'évaluation de l'activité antioxydante a révélé, non seulement, un effet piègeur significatif du radical DPPH, mais aussi une inhibition élevée de l'oxydation couplée de  $\beta$ -carotène/acide linoléique ( $p < 0.001$ ), comparativement aux antioxydants standards (acide gallique et BHT). De plus, l'étude de la toxicité aiguë a montré que les feuilles de *Pistacia atlantica* est non toxique avec une  $DL_{50}$  égale à 11.380 g/kg du poids corporel. Dans un autre côté, le traitement de diabète de type 1 (induit expérimentalement chez des rats Wistar albinos par une injection unique de la streptozotocine à raison de 60 mg/kg ) pendant trois semaines avec l'EBr de dose de 500 mg/kg, 250 mg/kg, et 125 mg/kg a permis d'établir une diminution remarquable de la glycémie (à dose de 250 mg/kg) accompagnés d'un maintien de profil lipidique (cholestérol et triglycérides) et une augmentation modérée de poids corporel par rapport aux rats témoins normaux, ainsi une diminution non significative de la glycémie pour les doses de 500 mg/kg et 125 mg/kg. L'ensemble de ces résultats suggèrent que l'effet antioxydant important des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf, et l'usage prolongé comme un agent antidiabétique peut constituer une ressource naturelle de nouvelle substance utilisée contre le diabète associé au stress oxydant.

**Mots clés :** *Pistacia atlantica* Desf, diabète, antioxydants.

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمختلف المستخلصات، وكذا التأثير السمي والمضاد للسكري للمستخلص الخام (EBr) لأوراق *Pistacia atlantica*. تستعمل هذه النبتة كدواء تقليدي لعلاج مرض السكري في الأردن. تم استخلاص الأوراق للحصول على مختلف المستخلصات: المستخلص المائي (EAq) و المستخلص الخام (EBr) و مستخلص الإيثري ايثيليك (EEde) و مستخلص الايثيل استات (EAe) و مستخلص البيتانول (ENb) و المستخلص المائي المتبقي (\*EAq). وقد كشف التحليل الكمي عن وجود كمية معتبرة من الفينولات والفلافونويدات في الأوراق. يحوي المستخلص الخام  $31.83 \pm 340.58$  ميكرو غ مكافئ حمض الغاليك /مغ مستخلص، بينما يحوي مستخلص الايثر دي ايثيليك على الكمية الأكبر من الفينولات والتي قدرت بـ  $47.05 \pm 967.09$  ميكرو غ مكافئ حمض الغاليك /مغ مستخلص. من جهة أخرى، لم يكشف تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات *Pistacia atlantica* عن إزاحة جذر DPPH فقط، بل أيضا عن تثبيط عال ( $p < 0.001$ ) للأكسدة المزوجة للبيتا كاروتين وحمض اللينوليك مقارنة مع مضادات الأكسدة النموذجية (حمض الغاليك و BHT). بالإضافة إلى ذلك، فقد بينت دراسة السمية الحادة للمستخلص الخام أن هذه النبتة تعتبر غير سامة حيث قدرت الجرعة القاتلة لـ 50% من الحيوانات المخبرية بـ  $11.380$  غ/كغ من وزن الجسم. من ناحية أخرى، أظهر علاج مرض السكري نوع 1 (المحدث تجريبيا للجرذان البيضاء عن طريق الحقن لمادة ستربتوزوتوسين (STZ) بتركيز 60 مغ/كغ) لمدة ثلاث أسابيع بالمستخلص الخام بجرعات 500 مغ/كغ و 250 مغ/كغ و 125 مغ/كغ انخفاض ملحوظ في نسبة السكر في الدم (بتركيز 250 مغ/كغ)، مرفوقا بالحفاظ على نسبة المؤشر الدهني (الكولسترول والجليسيريدات الثلاثية)، مع ارتفاع بسيط ومتواضع في وزن الجرذان وذلك بالمقارنة مع الجرذان المرجعية الطبيعية. بالإضافة الى انخفاض غير محسوس في نسبة السكر بالدم بتركيز 500 مغ/كغ و 125 مغ/كغ. وفي الاخير يشير مجموع هذه النتائج الى أن التأثير المعتبر المضاد للأكسدة لأوراق *Pistacia atlantica* والاستعمال المطول كمضاد للسكري قد يشكل مورد طبيعي لمواد جديدة يمكن استخدامها ضد الاجهاد التأكسدي المرتبط بمرض السكري .

**الكلمات المفتاح:** *Pistacia atlantica* Desf، مرض السكري، مضادات الأكسدة.

## Summary

The current study aims to evaluate the antioxidant activity of the various extracts, as well as the toxic and antidiabetic effects of the crude extract (EBr) of *Pistacia atlantica* Desf leaves, plant used as traditional remedies for diabetes in Jordanie. The leaves were subjected to extraction and fractionation processes to give the different extracts: aqueous (EAq), crude (EBr), diethyl ether (EEde), ethyl acetate (EAe), the n-butanol (ENb), and aqueous fraction (EAq\*). The quantitative analysis showed a significant presence of polyphenols and flavonoïdes in *Pistacia atlantica* leaves. While, EBr contains  $340.58 \pm 31.83$  µg equivalent gallic acid (EAG)/mg of extract, EEde contains the highest amount of polyphénols ( $967.09 \pm 47.05$  µg EAG/mg of extract). The evaluation of the antioxydant activity revealed, not only, a significant scavenging effect of DPPH radical, but also a high inhibition of the coupled oxidation of β-carotène/acide linoleic ( $p < 0.001$ ), compared to standard antioxydants (acid gallic and BHT). Moreover, the study of acute toxicity showed that *Pistacia atlantica* leaves is not toxic with a  $DL_{50}$  equal to 11.380 g/kg of the body weight. On the other hand, the treatment of type 1 diabetes (experimentally induced on albino Wistar rats by a single injection of the streptozotocine at a rate of 60 mg/kg ) for three weeks with EBr of doses 500 mg/kg, 250 mg/kg, and 125 mg/kg showed a remarkable reduction in the glycemia (for dose of 250 mg/kg) accompanied with maintaining lipidic profile (cholesterol and triglycerides), and a moderate increase of body weight compared to the normal rats, in addition to a non-significant reduction in the glycemia for the doses of 500 mg/kg and 125 mg/kg. The obtained results suggest that the significant antioxydant effect of the leaves of *Pistacia atlantica* Desf, and the prolonged use, as an antidiabetic agent, can constitute a natural resource of new substance used against the diabetes associated with oxidative stress.

**Key words:** *Pistacia atlantica* Desf, diabetes, antioxidants.

## Liste des abréviations

<b>BHT</b>	Butylated hydroxytoluène
<b>CHL T</b>	Cholestérol total
<b>DL50</b>	Dose létale qui tue 50% de la population
<b>DPPH</b>	2-2-Diphényl-1-picryl-hydrazyl
<b>EAe</b>	Extrait d'acétate d'éthyle
<b>EAG</b>	Équivalent d'acide gallique
<b>EAq</b>	Extrait aqueux
<b>EAq*</b>	Extrait ou fraction aqueuse résiduelle
<b>EBr</b>	Extrait brut
<b>EDTA</b>	Acide éthylène diamine tétraacétique
<b>EEde</b>	Extrait d'éther diéthylique
<b>EEp</b>	Extrait d'éther de pétrole
<b>ENb</b>	Extrait de n-butanol
<b>EQ</b>	Équivalent quercétine
<b>ER</b>	Équivalent rutine
<b>ERN</b>	Espèces réactives de l'azote
<b>ERO</b>	Espèces réactives de l'azote
<b>GLU</b>	Glucose
<b>GLUT2</b>	Glucose Transporteur
<b>IC50</b>	Concentration de l'inhibiteur causant 50% d'inhibition
<b>LDL</b>	Lipoprotéine de basse densité
<b>MeOH</b>	Méthanol
<b>NAD<sup>+</sup></b>	Nicotinamide adénine dinucléotide
<b>PARP</b>	Poly (ADP-ribose)-polymerase
<b>RL</b>	Radicaux libres
<b>SD</b>	<i>standard déviation</i> / écart type
<b>SEM</b>	Erreur standard de la moyenne
<b>STZ</b>	Streptozotocine
<b>TRG</b>	Triglycéride

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Schéma de la molécule d'insuline .....	6
<b>Figure 2.</b> Relation entre hyperglycémie et stress oxydant .....	7
<b>Figure 3.</b> Mécanismes d'action de la streptozotocine .....	8
<b>Figure 4.</b> Mécanismes d'action des antioxydants.....	14
<b>Figure 5.</b> Structure générale du noyau des flavonoïdes.....	16
<b>Figure 6.</b> Nouveau plant à l'intérieur de <i>Zizyphus lotus</i> .....	20
<b>Figure 7.</b> <b>A</b> : Arbres centenaires ; <b>B</b> : Feuille ; <b>C</b> : Fruits à différents stades de maturation.....	21
<b>Figure 8.</b> Galle formée par le rabattement du limbe se pigmentent en rouge progressivement.....	22
<b>Figure 9.</b> Protocole préparation de l'extrait aqueux.....	29
<b>Figure 10.</b> Protocole de préparation de l'extrait brut.....	30
<b>Figure 11.</b> Protocole de fractionnement des flavonoïdes.....	32
<b>Figure 12.</b> Forme libre et réduite du DPPH.....	34
<b>Figure 13.</b> Droite d'étalonnage de l'acide gallique.....	43
<b>Figure 14.</b> Droite d'étalonnage de la quercétine et la rutine.....	43
<b>Figure 15.</b> L'effet piègeur du radical DPPH par le BHT, l'acide gallique, quercétine, rutine et les extraits des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	45
<b>Figure 16.</b> L'activité antioxydante des extraits de <i>Pistacia atlantica</i> , du BHT et des contrôles négatifs dans le test du blanchissement de $\beta$ -carotène.....	47
<b>Figure 17.</b> Pourcentage d'inhibition du blanchissement de $\beta$ -carotène après 24 heures par les extraits de <i>Pistacia atlantica</i> , le BHT et les contrôles négatifs.....	48
<b>Figure 18.</b> Coubre exprimant le taux de mortalité dans chaque lot (unités probits) en fonction du logarithme de la dose (g/kg).....	51
<b>Figure 19.</b> Variation de la glycémie (mg/dl) des cinq lots en fonction du temps.....	53
<b>Figure 20.</b> Variation du poids corporel moyen (g) des cinq lots des rats (n=5) en fonction du temps.....	57
<b>Figure 21.</b> Evolution des paramètres sériques : cholestérolémie (A), triglycéridémie, (B) durant les quatre semaines .....	57



## Liste des Tableaux

<b>Tableau I.</b> Principales ERO et de ERN avec leurs caractéristiques.....	13
<b>Tableau II.</b> Classification botanique de <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	23
<b>Tableau III.</b> Rendement d'extraction des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	41
<b>Tableau IV.</b> Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes dans les extrais des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	43
<b>Tableau V.</b> Symptômes observés de toxicité aigue des extraits <i>Pistacia atlantica</i> Desf. basant sur l'ordre de gravité.....	50
<b>Tableau.VI.</b> La conversion en unités probits du pourcentage de mortalité et la correction des pourcentages.....	51

# Sommaire

Page de garde	
Remerciements	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	

## Synthèse bibliographique

<b>Introduction</b> .....	1
<b>1. Le diabète sucré</b> .....	4
1.1. Classification du diabète sucré.....	4
1.1.1. Le diabète de type 1.....	4
1.1.2. Le diabète de type 2.....	4
1.1.3. Les diabètes dits "spécifiques".....	4
1.1.4. Le diabète gestationnel.....	4
1.2. La régulation de la glycémie.....	5
1.2.1. Le pancréas.....	5
1.2.1.1. L'insuline.....	5
1.3. Impact du stress oxydant sur les cellules $\beta$ et sur l'action de l'insuline.....	6
1.4. Impact de la streptozotocine sur les cellules $\beta$ .....	7
1.5. Les antidiabétiques : de l'efficacité à la toxicité.....	9
1.6. La phytothérapie du diabète.....	9
<b>2. Stress oxydant</b> .....	10
2.1. Définition du stress oxydant.....	10
2.2. Le système prooxydant.....	10
2.2.1. Qu'est ce qu'un radical libre ? .....	11
2.2.2. Sources d'ERO et ERN.....	11
2.2.2.1. Les sources exogènes.....	11
2.2.2.2. Les sources endogènes.....	12
2.3. Les systèmes antioxydants.....	14
2.3.1. Les antioxydants endogènes.....	14

2.3.1.1. Antioxydants enzymatiques.....	14
2.3.1.2. Antioxydants non enzymatiques.....	15
2.3.2. Les antioxydants exogènes.....	15
2.4. Stress oxydant et diabète sucré.....	17
<b>3. La toxicité.....</b>	<b>17</b>
3.1. La toxicité aiguë.....	17
3.1.1. La détermination de la dose létale (DL <sub>50</sub> ) .....	17
<b>4. Notion sur la plante et la zone étudié.....</b>	<b>18</b>
4.1. Présentation de la zone d'étude : El Mergueb.....	18
4.2. Caractéristique botanique du genre <i>Pistacia</i> .....	19
4.3. L'espèce de <i>Pistacia atlantica</i> Desf. ....	19
4.3.1. Aire du pistachier de l'Atlas.....	20
4.3.2. Caractères botaniques du pistachier de l'Atlas.....	21
4.3.3. Facteurs ayant contribué à la dégradation du pistachier de l'Atlas.....	22
4.3.4. Position taxonomique de la plante.....	23
4.3.5. Propriétés d'utilisation traditionnelles et médicales.....	24
4.3.6. Travaux antérieurs de <i>Pistacia atlantica</i> .....	24
<b>Matériels et méthodes</b>	
<b>1. Matériels .....</b>	<b>27</b>
1.1. Matériel végétal.....	27
1.2. Matériel animal.....	27
1.3. Produits chimiques et appareillage.....	27
<b>2. Méthodes.....</b>	<b>28</b>
2.1. Préparation des extraits et dosages.....	28
2.1.1. Préparation des extraits de <i>Pistacia atlantica</i> Desf. ....	28
2.1.2. Calcul du rendement.....	33
2.1.3. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes des extraits de <i>Pistacia atlantica</i> Desf... ..	33
2.1.3.1. Dosage des polyphénols.....	33
2.1.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	33
2.1.4. Évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits.....	34
2.1.4.1. Effet piègeur des extraits contre le radical DPPH.....	34
2.1.4.2. Test du blanchissement de β-carotène.....	35

2.2. Partie biologique .....	36
2.2.1. Toxicité de l'extrait brute.....	36
2.2.2. Évaluation de l'effet antidiabétique de l'extrait brut de <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	37
2.2.2.1. Induction du diabète expérimentale.....	37
2.2.2.2. L'évolution du poids des rats.....	38
2.2.2.3. Prélèvement du sang.....	38
2.2.2.4. Examens biochimiques.....	38
2.2.2.5. Le sacrifice des animaux.....	38
2.3. Analyse statistique.....	39
<b>Résultats et discussion</b>	
<b>1. Partie phytochimique.....</b>	<b>41</b>
1.1. Rendement.....	41
1.2. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes.....	42
1.3. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de <i>Pistacia atlantica</i> Desf... ..	44
1.3.1. Effet piègeur du radical DPPH .....	44
1.3.2. Test du blanchissement de $\beta$ -carotène.....	46
<b>2. Partie biologique.....</b>	<b>49</b>
2.1. Evaluation de l'effet toxique de l'extrait brut des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	49
2.1.1. Observations cliniques et de survie.....	49
2.1.2. Détermination de la DL <sub>50</sub> .....	51
2.2. Évaluation de l'effet antidiabétique de l'extrait brut de <i>Pistacia atlantica</i> Desf. ....	52
2.2.1. Variation de la glycémie pendant quatre semaines.....	53
2.2.2.Évolution du poids corporel des animaux pendant quatre semaines....	55
2.2.3. Evolution des paramètres lipidiques.....	55
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>58</b>
<b>Références.....</b>	<b>59</b>

## Introduction

Le diabète est une maladie considérée par l'OMS comme une épidémie dont la prévalence a augmenté de façon très importante au cours de ces dernières années. Actuellement, près de 285 millions de personnes dans le monde sont atteintes de diabète (Lefebvre, 2008) dont 5 millions en Algérie tout diabète confondu (OMS). C'est une maladie potentiellement mortelle responsable chaque année dans le monde de près de 4 millions de décès.

Il constitue un exemple des maladies associées au stress oxydant. Sa prévalence à travers le monde, et ses complications s'ajoutent à la nouvelle notion du stress oxydant et constituent un sujet d'actualité. Il est maintenant admis que des concentrations élevées en glucose dans les milieux extra et intracellulaires induisent un stress oxydant défini comme un déséquilibre de la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants et qui est considéré comme le moteur mobilisant des différents facteurs pathologiques vers les complications du diabète.

Dans ce contexte plusieurs recherches s'orientent vers les plantes médicinales considérées comme source énorme de multiples substances phytothérapeutiques douées d'activités à la fois antidiabétiques et antioxydantes et qui peuvent être l'arme permettant de faire face au stress oxydant et ses dégâts au niveau des organes de l'être vivant.

La présente étude a été réalisée pour évaluer l'effet de certains antioxydants, sur quelques paramètres du stress oxydant (*in vitro*) d'une part et d'autre part l'effet sur le diabète sucré (*in vivo*). Nous avons utilisé comme source d'antioxydants, une plante utilisée dans la médecine traditionnelle Jordanienne selon Hamdan et Afifi (2004) pour le traitement du diabète, c'est le pistachier d'Atlas (*Pistacia atlantica*), très répandue dans l'Algérie sous le nom de "Bétoum". Cette plante n'a été jamais étudiée en Algérie pour traiter cette maladie raison pour la quelle nous avons fixé les objectifs suivants dans le but de trouver nouveau agent antidiabétique :

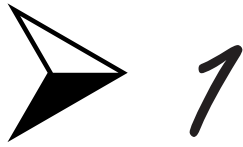
1-Détermination de la teneur en composées phénoliques et de flavonoïdes de la plante.

2- Des tests préliminaires concernant son activité antioxydante *in vitro*.

3- Des tests biologiques nécessaires concernant la toxicité de cette plante et la détermination de la DL<sub>50</sub>.

4- L'étude de son activité antidiabétique *in vivo* en utilisant un modèle animal rendu diabétique par la streptozotocine.

5- L'évaluation de deux paramètres lipidiques (triglycérides et cholestérol total) concernant les perturbations du diabète.



*Synthèse*

*Bibliographique*

# **1. Le diabète sucré**

Le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit. L'insuline est une hormone qui régule la concentration de sucre dans le sang. L'hyperglycémie, ou concentration sanguine élevée de sucre, est un effet fréquent du diabète non contrôlé qui conduit avec le temps à des atteintes graves de nombreux systèmes organiques et plus particulièrement des nerfs et des vaisseaux sanguins (Kambouche *et al.*, 2009).

## **1.1. Classification du diabète sucré**

Depuis 1997, une nouvelle classification du diabète sucré a été proposée par un groupe d'experts sous la responsabilité de l'Association Américaine du Diabète (ADA) remplace celle élaborée en 1979 par le "National Diabetes Data group" et entérinée en 1980 par l'OMS (Rodier, 2001).

### **1.1.1. Le diabète de type 1**

L'hyperglycémie est due à une carence absolue en insuline, Cette forme de diabète comprend les cas attribuables à un processus auto-immun conduisant à la destruction auto-immune des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans (Boumaza, 2009).

### **1.1.2. Le diabète de type 2**

La carence en insuline est relative et l'hyperglycémie est liée à l'association, à des degrés divers, d'une insulino-résistance hépatique et périphérique et d'une insulino-pénie (Boumaza, 2009).

### **1.1.3. Les diabètes dits "spécifiques"**

Ou secondaires à une maladie pancréatique, à une endocrinopathie, iatrogène ou encore liés à des anomalies génétiques (Boumaza, 2009).

### **1.1.4. Le diabète gestationnel**

Correspond à un trouble ou à une intolérance au glucose apparaissant entre la 24<sup>ème</sup> et la 28<sup>ème</sup> semaine de grossesse et disparaissant après l'accouchement (Boumaza, 2009).



## 1.2. La régulation de la glycémie

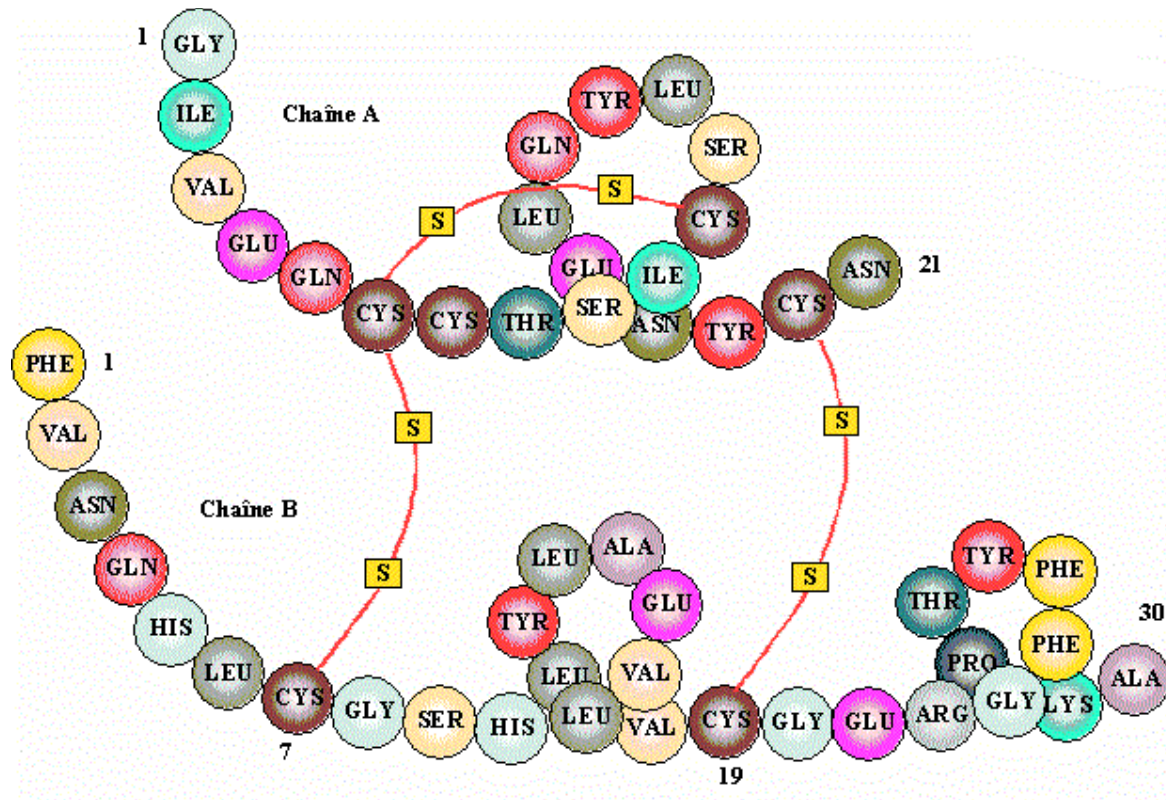
La régulation de la glycémie met en jeu le système hormonal, ainsi que plusieurs organes (foie et pancréas principalement). Cette régulation fait partie des processus de maintien de l'homéostasie du glucose au sein de l'organisme. L'augmentation de la glycémie stimule la sécrétion d'insuline par les endocrinocytes béta des îlots pancréatiques. L'insuline accroît la capacité des tissus insulino-dépendants de transporter le glucose à travers leur membrane plasmique. Une fois à l'intérieur des cellules, le glucose est oxydé pour fournir de l'énergie ou alors il est converti en glycogène (glycogénogenèse) qui est ensuite emmagasiné. Lorsque la glycémie diminue, le stimulus qui déclenche la libération d'insuline cesse. Un grand nombre d'hormones sont hyperglycémiantes (le glucagon, les glucocorticoïdes et l'adrénaline pour n'en nommer que quelques unes) mais l'insuline est la seule hormone hypoglycémiante, celle-ci est absolument essentielle à l'utilisation du glucose par les cellules de l'organisme. Sans insuline, il est à peu près impossible au glucose de pénétrer dans les cellules pour fournir de l'énergie (Freychet, 1978).

### 1.2.1. Le pancréas

Le pancréas est une glande mixte, sa portion endocrine (îlots de Langerhans) ne constitue qu'environ 1% du poids total (environ 70g chez un homme adulte) de l'organe chez les mammifères adultes. Les îlots endocrines sont disséminés au sein du pancréas exocrine. Chez l'homme et les autres mammifères, les îlots comportent quatre types cellulaires, chacun spécialisé dans la production d'une hormone : A, B, D et F (PP). Les cellules A sécrètent le glucagon et les cellules B l'insuline, tandis que les cellules D sécrètent la somatostatine et les cellules PP quant à elles sécrètent le polypeptide pancréatique (Freychet, 1978).

#### 1.2.1.1. L'insuline

L'insuline est composée de 2 chaînes peptidiques, une chaîne A de 21 acides aminés et une chaîne B de 30 acides aminés. Ces deux chaînes sont reliées entre elles par deux ponts disulfures et un pont disulfure intrachaîne dans la chaîne A (**Figure 1**) (Malardé, 2012).



**Figure 1.** Schéma de la molécule d'insuline (Malardé, 2012).

ALA: alanine; ARG: arginine; ASN: acide aspartique; ASP: asparagine; CYS: cystéine; GLN: glutamine; GLU: acide glutamique; GLY: glycine ; HIS histidine ; ILE: isoleucine; LEU: leucine; LYS: lysine; MET: méthionine; PHE: phénylalanine; PRO: proline; SER: sérine; THR: thréonine; TRP: tryptophane; TYR: tyrosine; VAL: valine.

### 1.3. Impact du stress oxydant sur les cellules $\beta$ et sur l'action de l'insuline

Le rôle pathogène des radicaux libres sur les cellules  $\beta$  a souvent été évoqué car ces cellules ont des défenses limitées face au stress oxydant (Rigalleau *et al.*, 2007). En effet les espèces réactives de l'oxygène perturbe la sécrétion de l'insuline stimulée par le glucose par la diminution du rapport ATP/ADP intracytosolique, par l'hyperpolarisation anormale de la membrane mitochondriale et une surexpression du complexe I de la chaîne respiratoire se qui conduit à l'apoptose des cellules  $\beta$  et pourrait expliquer la réduction de la masse des cellules  $\beta$  observée dans le DT2 (Guillausseau *et al.*, 2008). Et selon certains auteurs (Bonfont-Rousselot, 2004) ces radicaux libres pourrait être aussi à l'origine du diabète de type 1. Il semble aussi que les radicaux libres produits excessivement et insuffisamment dégradés au cours du diabète, participe dans l'instauration et l'aggravation de l'insulinorésistance par

activation de voies de signalisation qui mènent à l'inhibition de la cascade de signalisation de l'insuline (**Figure 2**) (Barquissau *et al.*, 2011).



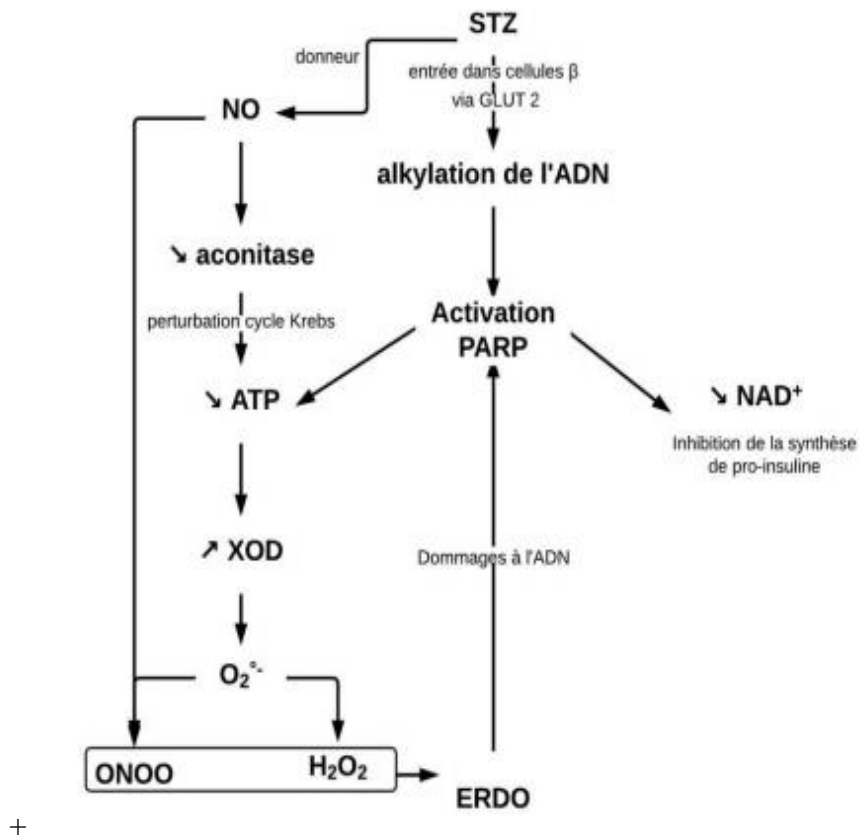
**Figure 2.** Relation entre hyperglycémie et stress oxydant (Bonnefont-Rousselot, 2004).

#### 1.4. Impact de la streptozotocine sur les cellules $\beta$

La streptozotocine (ou 2-deoxy-2-(3-méthyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose) est un antibiotique produit à partir de la souche bactérienne streptomycètes achromogènes. Elle est utilisée pour induire un diabète de type 1 ou de type 2, selon les caractéristiques d'injections. Celles-ci sont réalisées en intra-péritonéale, ou en intraveineuse au niveau de la veine de la queue. Pour induire un diabète de type 1, une injection unique de 40 à 60 mg/kg de poids est généralement réalisée (Szkudelski, 2001). Cette dose peut être supérieure, notamment dans le cas d'animaux âgés, dont la sensibilité à l'effet diabétogène de la streptozotocine est diminuée (Masiello *et al.*, 1979). Elle peut également être inférieure, et dans ce cas, l'induction du

diabète se fait par répétition d'injections à faible dose, en faisant intervenir essentiellement des processus immunitaires (Szkudelski, 2001).

Lorsqu'une seule injection de streptozotocine à forte dose est réalisée, celle-ci s'accumule au niveau du pancréas et entre, via les transporteurs du glucose (GLUT2), dans les cellules bêta, où elle va causer une alkylation de l'ADN. Les dommages ainsi créés activent les PARP, étape déterminante dans l'action de la streptozotocine, puisque les PARP consomment du  $\text{NAD}^+$  et de l'ATP. La déplétion cytosolique en  $\text{NAD}^+$  inhibe la synthèse de proinsuline, alors que la déplétion en ATP active la voie de la xanthine oxydase (Ohkuwa *et al.*, 1995). Par ailleurs, la streptozotocine se comporte comme un donneur de NO, qui inhibe l'activité de l'aconitase, perturbe le cycle de Krebs, et donc renforce la déplétion en ATP. De grandes quantités d'anion superoxyde sont alors produites par la voie de la xanthine oxydase, aboutissant à la génération de différentes espèces réactives, et notamment du peroxy-nitrite (produit de la réaction entre l'anion superoxyde et le NO apporté par la streptozotocine) (Figure 3) (Matkovics *et al.*, 1997). C'est l'ensemble de ces phénomènes qui va aboutir à la nécrose des cellules bêta.



**Figure 3.** Mécanismes d'action de la streptozotocine (Szkudelski, 2001).

Quel que soit le protocole d'injection, les conséquences métaboliques sont similaires. Les travaux de Kim et ses collaborateurs (2006) montrent une baisse de l'insulinémie et une élévation de glycémie identiques au bout de trois semaines, que le diabète ait été induit par une seule injection de streptozotocine à 80 mg/kg, ou par cinq injections successives à 20 mg/kg.

### **1.5. Les antidiabétiques : de l'efficacité à la toxicité**

Généralement, tous ces agents antidiabétiques causent différents effets secondaires qui varient selon la classe et la génération du médicament (Marles et Farnsworth, 1994). Précisément, les sulfamides provoquent un état d'hypoglycémie. Cet effet est considéré comme principal (Dey *et al.*, 2002) à côté de l'hyponatrémie, l'hépatite, les atteintes hématologiques, l'éventuelle réaction dermatologique (Marles et Farnsworth, 1994) ainsi qu'un gain de poids dû à l'hyperinsulinémie (Dey *et al.*, 2002). A cause de leurs effets secondaires très graves, certains Biguanides ont été éliminés du marché. La metformine, le biguanide le plus commercialisé dans le monde, n'est plus disponible aux Etats Unies car il provoque des états d'acidose lactique (Marles et Farnsworth, 1994), fatigues, nausées ainsi qu'une toxicité rénale (Dey *et al.*, 2002).

Similairement, les autres antidiabétiques oraux ne sont pas sans effets secondaires. L'acarbose, un médicament de la classe des inhibiteurs des alpha-glucosidases présente divers effets secondaires, principalement : les gaz, le ballonnement et la diarrhée (Dey *et al.*, 2002). Effectivement, tous les antidiabétiques oraux provoquent des effets secondaires néfastes pour le patient diabétique, ce qui complique le traitement et accroît la souffrance des malades.

Pour diminuer la souffrance des diabétiques, de nouvelles solutions font l'objet de recherches, à savoir: la transplantation des Ilots (Barrou *et al.*, 2004), l'insuline administrée par voie nasale ou à travers l'oeil, les analogues de l'insuline pouvant être pris par voie orale et les agents bloquant les dommages de l'auto-immunité (Dirckx, 1998).

En parallèle, la recherche de nouvelles substances à partir des plantes attire actuellement tous les regards et constitue une étape substantielle dans le développement de nouveaux médicaments.

### **1.6. La phytothérapie du diabète**

Depuis longtemps, la phytothérapie du diabète a pris sa part que ce soit dans la médecine traditionnelle ou la recherche scientifique. Citons à titre d'exemple quelques plantes

médicinales traditionnellement utilisées et scientifiquement évaluées pour leur activité antidiabétique : *Zygophyllum cornutum* , *Centaurea corcubionensis* (Chucla, 1987), *Juniperus communis* (Sanchez *et al.*, 1993), *Trigonella foenum* (Shani *et al.*, 1974) et plusieurs d'autres.

Actuellement, avec l'émergence de la notion du stress oxydant qui semble jouer un rôle primordial dans les complications et les lésions des organes associées au diabète (Gupta *et al.*, 2008), les plantes antidiabétiques ont pris un grand intérêt comme source énorme d'antioxydant (Halliwell, 2009). Des études faites sur des plantes médicinales ont révélé leur effet antidiabétique accompagné de leur effet.

## **2. Stress oxydant**

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du "Stress Oxydant", que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines. Qu'en est-il exactement ? Est-ce une mode ou une réalité, et dans ce cas, pouvons-nous trouver de nouvelles armes médicamenteuses pour lutter contre ce phénomène ?

### **2.1. Définition du stress oxydant**

Le Stress Oxydant (SO) est actuellement défini comme "un déséquilibre de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers, conduisant à une perturbation du contrôle et de la signalisation redox des cellules et/ou à des dommages moléculaires" (Sies et Jones, 2007).

### **2.2. Le système prooxydant**

Le système prooxydant comprend les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN). Celles-ci sont composées en grande partie de radicaux libres (RL), et de molécules non-radicalaires mais néanmoins oxydantes, qui comme les RL sont hautement réactives (**Tableau I**). Une augmentation de la présence des ERO et ERN est le résultat d'une augmentation de leur production ou d'une diminution du système antioxydant chargé de les neutraliser (Malardé, 2012).

### 2.2.1. Qu'est ce qu'un radical libre ?

L'oxygène est un élément indispensable à la vie de tous les organismes aérobies, parce qu'il permet de produire la majorité de l'énergie chimique en oxydant les substances organiques dans leurs mitochondrie. Cependant, l'oxygène peut être une source d'agression pour ces organismes qui convertissent une partie de cet élément en métabolites hautement réactifs elles peuvent être d'origine endogène ou encore exogène (Kalam *et al.*, 2012).

Les radicaux libres sont des atomes molécules ou des partis de molécules contenant un ou plusieurs électrons non appariés dans leur orbite extrême tels que l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ), et le monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ) (Wu et Cederbaum, 2003). Du fait de leur instabilité chimique, les radicaux libres ont une tendance à revenir vers un état plus stable en donnant un électron ou en prenant un autre à partir d'une autre molécule. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour des radicaux libres et initient ainsi une chaîne de réaction (Lev *et al.*, 2007).

Par ailleurs, il existe d'autres dérivées oxygénés réactives dont leur toxicité est très importante tel que l'oxygène singlet, l'ozone, le peroxyde d'hydrogène, et le peroxydinitrite, qui ne sont pas des radicaux libres, mais peuvent être des précurseurs des radicaux. De point de vue terminologique, l'ensemble des radicaux libres et des espèces réactives non radicalaires est souvent connue sous le nom des espèces réactives de l'oxygène ou ERO (Lev *et al.*, 2007).

### 2.2.2. Sources d'ERO et ERN

Les ERO et ERN sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes. Certaines de ces productions sont volontairement programmées par l'organisme à des fins de défense ou d'envoi des signaux (Halliwell, 2006).

#### 2.2.2.1. Les sources exogènes

Les sources exogènes sont surtout d'origines physique et chimique provient de l'exposition aux rayons ionisants (UV, visible, gamma, X, les UV (315-400 nm)), aux métaux de transition, à l'oxygène en quantité excessive, à certains médicaments et à la radiolyse de l'eau. Peuvent être, aussi d'origine des xénobiotiques prooxydants, cytokines pro inflammatoires, tabagisme, chimiothérapie, champs électriques, ozone et les toxiques environnementaux (Kalam *et al.*, 2012).

#### 2.2.2.2. *Les sources endogènes*

Concernant les sources endogènes, le principal précurseur des ERO et ERN, l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), provient de différentes sources cellulaires. Ces principales sources sont la mitochondrie (chaîne de transport des électrons), et différentes enzymes comme la NADPH-oxydase (NADPHox ou NOX), la xanthine oxydase (XO), les NO-synthases (NOS), la cyclo-oxygénase et les lipoxygénases, ainsi que les enzymes du réticulum endoplasmique (cytochrome P450) (Cai et Harrison, 2008). Leur ordre d'importance varie selon le tissu étudié et les conditions physiologiques ou pathologiques. De part leur nature instable, les ERO et ERN en excès interagissent avec des molécules cibles comme les protéines, les lipides et l'ADN, et génèrent des dommages oxydatifs importants pouvant menacer l'intégrité de l'organisme.



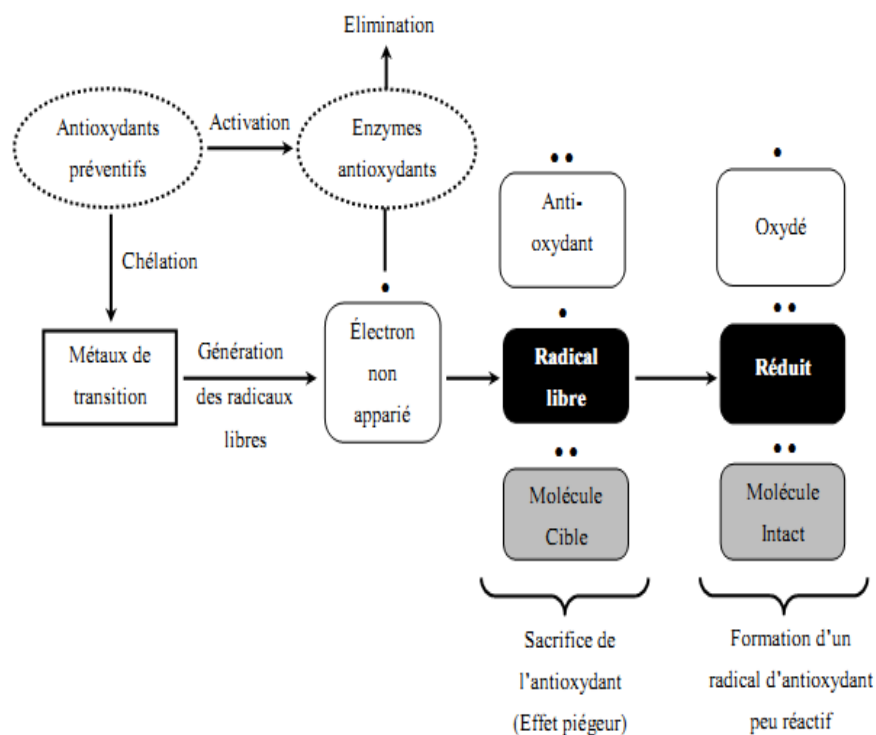
**Tableau I.** ERO et de ERN Principales avec leurs caractéristiques (Devasagayam *et al.*, 2004).

<b>Espèces Réactives dérivées de l'Oxygène (ERO)</b>		
<b>Espèces réactives</b>	<b>Symbole</b>	<b>Réactivité/Remarques</b>
<b>Anion superoxyde</b>	$O_2^{\bullet -}$	➤ Produit dans les mitochondries et le système cardiovasculaire.
<b>Radical hydroxyle</b>	$OH^{\bullet}$	➤ Très réactif, produit lors d'une surcharge en fer ou dans des conditions similaires pour l'organisme.
<b>Peroxyde d'hydrogène</b>	$H_2O_2$	➤ Formé par de nombreuses réactions, il conduit à des ERO puissants comme le radical hydroxyle.
<b>Radical peroxyde</b>	$ROO^{\bullet}$	➤ Formé à partir des lipides, des protéines, de l'ADN, des sucres lors des dommages oxydatifs.
<b>Hydroperoxyde</b>	$ROOH$	➤ Réagit avec les métaux de transition pour conduire à des espèces réactives.
<b>Oxygène singulet</b>	$^1O_2$	➤ Très réactif Formé par la photosensibilisation et des réactions chimique.
<b>Espèces Réactives dérivées de l'Azote (ERN)</b>		
<b>Ozone</b>	$O_3$	➤ polluant atmosphérique, il peut réagir avec divers composés, conduisant à l'oxygène singulet.
<b>Oxyde nitrique</b>	$NO^{\bullet}$	➤ Neurotransmetteur et régulateur de la pression sanguine, il peut conduire à de puissants oxydants dans les situations pathologiques.
<b>Peroxynitrite</b>	$ONOO^-$	➤ Très réactif, formé à partir de l'anion superoxyde et de l'oxyde nitrique.
<b>Acide peroxynitreux</b>	$ONOOH$	➤ Forme protonée du Peroxynitrite.
<b>Dioxyde de nitrogène</b>	$NO_2$	➤ Formé par la pollution atmosphérique.

## 2.3. Les systèmes antioxydants

L'organisme a développé des systèmes de défense très efficaces contre la production des RL. Les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme "antioxydant".

Du point de vue biologique, les antioxydants sont toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat (Abuja et Albertini, 2001), Ces systèmes peuvent être exogènes ou endogènes et sont réagis synergétiquement afin de protéger les cellules vis-à-vis aux ERO (**Figure 4**).



**Figure 4.** Mécanismes d'action des antioxydants (Kalam *et al.*, 2012).

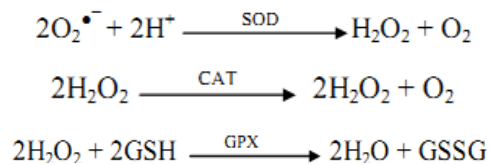
### 2.3.1. Les antioxydants endogènes

La production physiologique des ERO est contrôlée au sein des cellules par les systèmes de défense enzymatiques et non enzymatiques.

#### 2.3.1.1. Antioxydants enzymatiques

Les principaux enzymes antioxydants impliqués dans la neutralisation des ERO dans les cellules sont : le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et le glutathion peroxydase (GPX) (Matés *et al.*, 1999). Ces enzymes forment un système de protection très

efficace puisqu'ils ont la propriété de pouvoir réaliser un travail de façon permanente et permettre l'élimination de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène en catalysant les réactions suivantes :



### 2.3.1.2. Antioxydants non enzymatiques

L'action protectrice enzymatique est renforcée par celle de différents composés réducteurs d'origine métabolique. Ces composés antioxydants sont produits dans les cellules de l'organisme et parmi lesquels on peut citer le glutathion, l'acide lipoïque, L-arginine, ubiquinone, l'acide urique, la mélatonine, la transferrine etc. (Pham-Huy *et al.*, 2008). De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion qui protège, non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le monoxyde d'azote (Favier, 2003).

### 2.3.2. Les antioxydants exogènes

En plus des substances propres à l'organisme, l'alimentation et les plantes sont également d'importantes sources d'antioxydants. L'organisme peut tirer profit de nombreux antioxydants exogènes naturels présents dans son alimentation (Pham-Huy *et al.*, 2008 ; Kalam *et al.*, 2012). Bien que non indispensables à la vie, ces substances jouent un rôle majeur dans la lutte contre le stress oxydant. Les plus importantes parmi eux sont les vitamines (E et C), les caroténoïdes, les polyphénols, les acides gras (oméga-3 et oméga-6) ainsi que des traces des métaux (sélénium, manganèse, et zinc).

#### **Les polyphénols comme des agents antioxydants**

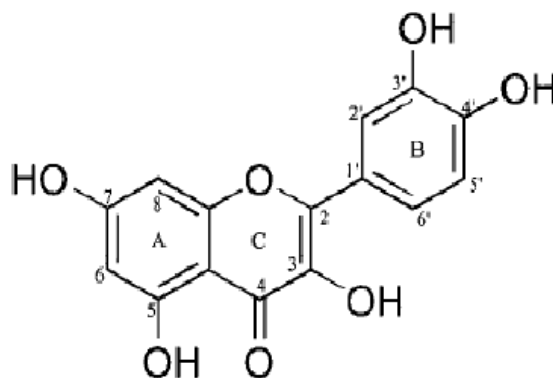
Les polyphénols sont des composés que l'on trouve dans toutes les plantes et renferment plus de 8000 composés naturels dont les flavonoïdes sont la classe majeure et la plus importante (Djeridane *et al.*, 2006). Il est connu que la plupart des effets biologiques à l'origine des flavonoïdes, tels que l'activité anti-inflammatoire et anti-tumorale, sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes de ces composés naturels. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les

radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (Niki, 2010).

### ➤ Structure et classification des flavonoïdes

Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques; deux cycles en C<sub>6</sub> (A et B), reliés par un hétérocycle en C<sub>3</sub> (**Figure 5**) (Bruneton, 1993). Structuralement les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C, 14 groupes différents ont été identifiés dont six groupes sont particulièrement les plus répandus et les mieux caractérisés ; flavones, isoflavones, flavanones, flavanols, flavonols, anthocyanidines (Hein *et al.*, 2002).

Les composés de chaque classe se distinguent entre eux par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres.) sur les deux cycles aromatiques A et B (Hein *et al.*, 2002). Dans les flavonoïdes au sens strict, le deuxième cycle benzène (B) se lie à l'hétérocycle (C) en position 2. Lorsque la liaison s'effectue en position 3, les composés résultants sont appelés isoflavonoïdes. En plus, l'hétérocycle (C) peut être une pyrone (flavone) ou son dihydrodérivé (flavanone). La fixation d'un groupement hydroxyle (OH) sur le carbone 3 dans les deux cas précédents constitue respectivement les flavonols et les flavanonols (Birt *et al.*, 2001). À l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylés. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone ou génine, l'unité glycosidique la plus commune est le glucose mais par fois elle peut être glucorhamnose, galactose, arabinose ou rhamnose (Hein *et al.*, 2002).



**Figure 5.** Structure générale du noyau des flavonoïdes (Hein *et al.*, 2002).

## **2.4. Stress oxydant et diabète sucré**

Il est admis que le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la génération des ERO et le potentiel antioxydant de l'organisme. Différentes études ont montré que le diabète sucré est associé à une augmentation de la production des radicaux libres d'une part, et d'une diminution du potentiel antioxydant d'une autre part (Werstuck, 2006), ce qui conduit à des dommages affectant les composants cellulaires tels que les protéines, les lipides, les acides nucléiques, etc.

## **3. La toxicité**

La toxicologie est une discipline scientifique qui s'occupe des toxiques, de leurs propriétés, de leur devenir dans l'organisme, de leur mode d'action, de leur recherche dans différents milieux et des moyens (préventifs et curatifs) permettant de combattre leur nocivité.

On dit qu'une substance est toxique lorsque, après pénétration dans l'organisme, par quelque voie que ce soit, à une dose relativement élevée en une ou plusieurs fois très rapprochées ou par petites doses longtemps répétées, elle provoque, immédiatement ou à terme, de façon passagère ou durable, des troubles d'une ou plusieurs fonctions de l'organisme pouvant aller jusqu'à leur suppression complète et amener la mort. Cette définition permet déjà de distinguer des phénomènes de toxicité aiguë ou subaiguë et des effets de toxicité à long terme, dite chronique (Alain *et al.*, 2005).

### **3.1. La toxicité aiguë**

La toxicité aiguë peut se définir comme celle qui provoque la mort ou de très graves troubles physiologiques suivant l'absorption par voie transtégumentaire, pulmonaire ou buccale, en une fois ou en plusieurs répétitions d'une dose assez importante d'un composé nocif (Ramade, 1979). Leur effet toxique se produit immédiatement ou dans les premiers jours après l'exposition, habituellement, en moins de deux semaines (LeBlanc, 2010).

#### **3.1.1. La détermination de la dose létale (DL<sub>50</sub>)**

La DL<sub>50</sub> est dans sa forme la plus simple la dose d'un composé qui provoque une mortalité de 50% dans une population d'animaux mis en expérience. C'est-à-dire ayant reçu une administration unique d'un produit dans des conditions expérimentales bien définies. Cette détermination est fondée sur l'évaluation des réponses de tout ou rien: mort ou survie

des animaux. Le protocole expérimental consiste à expérimenter sur 5 à 6 lots de 10 à 20 animaux auxquels sont administrées des doses croissantes de la substance à essayer de manière que le pourcentage de mortalité varie entre 0 et 100 %. Ceci parce qu'il est impossible d'obtenir immédiatement 50 % de morts à partir d'un seul group. (Wallace Hayes, 2008).

On peut déterminer la DL50 par deux méthodes de calcul, la Méthode de Dragstedt et Lang (1957) et la méthode de Karber et Behrens (1935). Ainsi qu'on peut la déterminer par deux méthodes graphiques qui sont la méthode de Miller et Tainter (1944) et la méthode de Litchfield et Wilcoxon (1949).

#### ➤ **Méthode de Miller et Tainter**

Dans cette méthode, les pourcentages de la mortalité des rats doivent être convertis en unités probits, alors que les doses administrées sont exprimées en milligrammes par kilogrammes du poids corporel (Boussahel, 2011). La DL<sub>50</sub> est, donc, déterminée à partir de la courbe de mortalité des rats (en probits) en fonction du logarithme de la dose administrée. La DL<sub>50</sub> représente l'abscisse du point correspondant à 5 unités probits (c'est-à-dire 50% de mortalité). Pour calculer l'écartype de la DL<sub>50</sub>, il suffit de déterminer les doses correspondantes aux 16% et 84% de mortalité, et de faire soustraire la première dose de la deuxième selon l'équation suivante (Boussahel, 2011):

$$\text{Approx. SE de la DL}_{50} = \frac{(DL_{84} - DL_{16})}{\sqrt{2N}}$$

N : Nombre des animaux dans chaque lot.

## **4. Notion sur la plante et la zone étudié**

### **4.1. Présentation de la zone d'étude : El Mergueb**

La réserve naturelle de Mergueb est un espace assez original des Hautes-Plaines du centre, qui sont considérées comme des « terres de parcours», elle fait partie de la plaine du Hodhna et se située à 150 Km au Sud-Est d'Alger. Elle occupe une superficie de 16 481 Ha 42 ares 67 Ca et facilement accessible par route (RN 40, M'sila-Alger et RN 8 Bousaada-Alger). La réserve se trouve au contact avec quatre ensembles structuraux: les Hautes plaines

steppiques, l'Atlas saharien, le Bassin du Hodhna et enfin la plate-forme saharienne (Kaabeche, 2003).

Du point de vue de ses limites géographiques, cette réserve est bordée :

Au Nord, par la RN 40 qui longe l'Oued Laham ; celui-ci se déverse dans la dépression du Chott El-Hodhna;

À l'Est par diverses dépressions, notamment la daya et la zone d'épandage des eaux de Oued El-Guersa;

Au Sud et l'Ouest par une série de reliefs, sans liaison nette entre-eux (Moreau *et al*, 2005).

Selon Kaabeche (2003) et Berrabah (2013), cette région abrite une assez grande diversité d'espèces végétales et animales. Cette diversité biologique (floristique) au sein de la réserve représente 19,1 % de celle de l'ensemble des parcours steppiques d'Algérie, du Maroc et de Tunisie. L'inventaire des ressources végétales de la réserve a permis de recenser 211 taxons de spermaphytes de rang d'espèces appartiennent aux 36 familles botaniques suivantes: Anacardiaceae, Apiaceae, Asclepiadaceae, Asteraceae, Boraginaceae, Brassicaceae, Capparidaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Cistaceae, Convolvulaceae, Cupressaceae, Dipsacaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Fumariaceae, Geraniaceae, Iridaceae, Lamiaceae, Liliaceae, Malvaceae, Papaveraceae, Pinaceae, Plantaginaceae, Plumbaginaceae, Poaceae, Polygonaceae, Primulaceae, Ranunculaceae, Resedaceae, Rhamnaceae, Rubiaceae, Scrofulariaceae, Thymelaeaceae, Valerianaceae et Zygophyllaceae.

## **4.2 .Caractéristique botanique du genre *Pistacia***

Le genre *Pistacia* (les Pistachiers) regroupe 9 espèces d'arbustes appartenant à la famille des Anacardiaceae et à l'ordre des Sapindales. Les pistachiers sont des arbustes dioïques quelque soit l'origine Asiatique ou méditerranéenne. Les fleurs sont de couleur plus ou moins marron et groupées en racèmes, elles sont paripennées persistant en hiver, coriaces et vert sombre. Elles mesurent 20-40 mm de longueur et 8-15 mm de largeur. L'inflorescence est en grappe spiciforme, dense et courte. Les fruits sont des drupes, de formes globuleuses rouges puis noir à la maturité très commune dans toute l'Algérie (Quezel et Santa, 1963).

## **4.3. L'espèce de *Pistacia atlantica* Desf.**

Le pistachier de l'atlas est encore appelé bétoum en arabe ,iggh en berbère à été décrit pour la première fois par Desfontaine en 1789,c'est une essence très ancienne , son fruit

rencontré depuis le crétacé Moyen (Ait Saïd, 2011). Elle appartient à la section *Butemella* et elle est subdivisée en quatre sous espèces: *latifolia*, *kurdica*, *kabulcia* et *atlantica*, cette dernière est la seule présente en Algérie (Yaaqobi, 2009).

#### 4.3.1. Aire du pistachier de l'Atlas

D'après Zohary (1952, 1987) et Quézel et Médail (2003), cette espèce est commune dans deux régions de la méditerranée et de l'irano-touranie. Cependant, Manjauze (1980) et Ozenda (1983) la qualifie d'endémique de l'Afrique du nord (Belhadj *et al.*, 2008). Cette espèce forestière, dite de resquillage, s'accommode à tous les sols, excepté du sable (Yaaqobi, 2009). Elle se contente d'une faible pluviométrie de l'ordre de 150 mm et par fois moins (Benhssaini et Belkhodja, 2004). Elle est essentiellement un arbre de l'étage bioclimatique aride et accessoirement de l'étage semi-aride, il s'étend depuis les îles Canaries à l'ouest jusqu'au proche Orient vers l'est (Ait Saïd, 2011). En Algérie, on les trouve à l'état de groupement isolés d'Oran et Ain Sefra à l'ouest jusqu'à la Tunisie à l'est. Il est présent aussi dans l'Atlas saharien, dans le secteur du Sahara septentrional et dans le Hoggar. Il est associé dans le proche orient à *Quercus Ithaburensis* et en Afrique du Nord à *Ziziphus lotus* (Ait Saïd, 2011). Elle se régénère et pousse toujours à l'intérieur du *Ziziphus lotus* qui constituerait une bonne protection aux jeunes pousses contre les vents et le pâturage. En plus de cela, le sol où les feuilles du *Z. lotus* tombent deviendrait acide et faciliterait la germination des graines (**Figure 6**) (Belhadj, 2007).



**Figure 6.** Nouveau plant à l'intérieur de *Ziziphus lotus*, (2012).

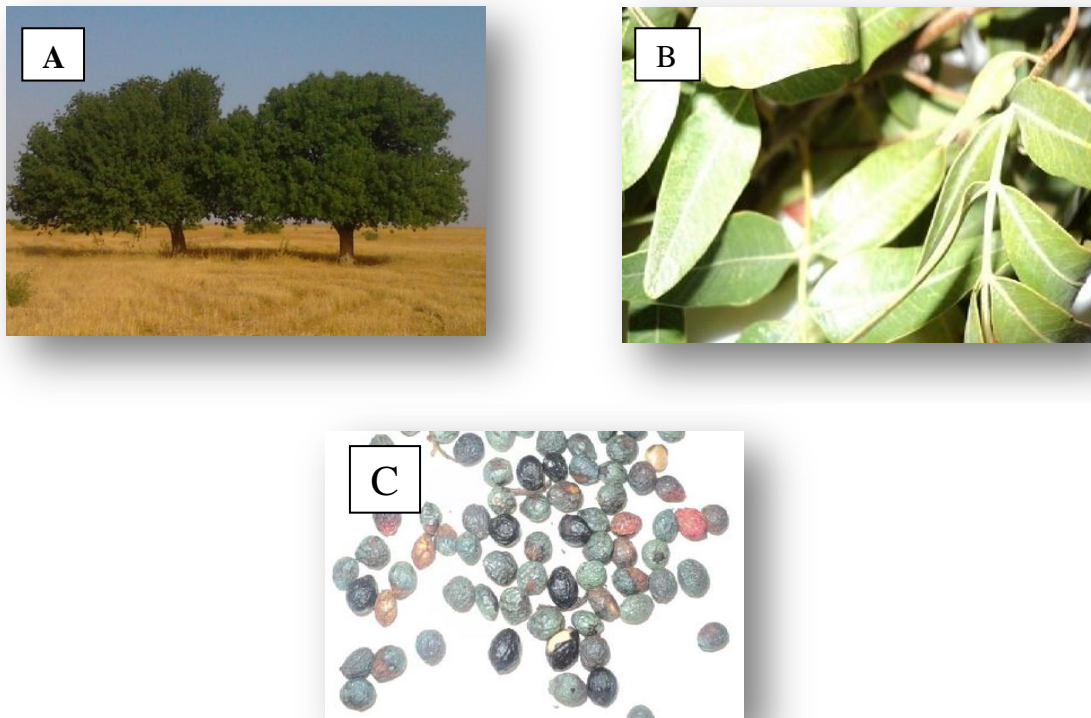


### 4.3.2. Caractères botaniques du pistachier de l'Atlas

*Pistacia atlantica* est un arbre à feuilles caduques, pouvant atteindre 15 à 25 m de haut (Zohary, 1987), ils peuvent atteindre 300 ans (Monjauze, 1968). Ses racines sont très pivotantes pouvant atteindre 5 m de profondeur (Monjauze, 1980).

Cependant leurs feuilles sont imparipennées de 3 à 4 paires de folioles (Monjauze, 1980). Elles ont une forme lancéolée à ovoïdes oblongue (Yaltirik, 1967; Zohary, 1987). Elles ont environ 8 à 20 cm de longueur (Boulos, 2000), leur pétiole est non ailé et mesure 3 à 5 cm de long (Belhadj, 2007).

Leur floraison débute le moins de février, le plus souvent 2 à 4 semaines avant la poussée des bourgeons végétatifs (Grundwag, 1976), le fruit est gros comme un pois d'une taille de 5 à 7 mm de diamètre, il est rougeâtre au début puis virant au bleu à maturité à partir de mois juillet (Alyafi, 1979). Les images de certains caractères botaniques de cette espèce sont rapportées dans la **figure 7**.



**Figure 7.** A: Arbres centenaires; B: Feuille; C: Fruits à différents stades de maturation.

#### 4.3.3. Facteurs ayant contribué à la dégradation du pistachier de l'Atlas

En Algérie, si la régénération de l'espèce avait été protégée depuis longtemps, elle serait traduite par la constitution de populations plus homogènes, plus nombreuses (Monjauze, 1980) et plus productives. Le déclin du pistachier est dû d'abord à des raisons économiques et à des budgets investis très limités dans la production, la régénération et l'entretien des pistacheraies naturelles des dayas. Parmi les facteurs ayant contribué à la dégradation des pistacheraies on peut citer (Belhadj, 2007):

L'exploitation anarchique des pistachiers comme fourrage et bois de chauffage par les bergers et la population locale;

Le pâturage empêchant la régénération naturelle et le développement des jeunes pousses.

Mauvais état sanitaire des arbres attaqués par le puceron doré provoquant des cloques ou des galles au niveau des feuilles (Belhadj, 2008) dans ce cas le Pistachier d'Atlas c'est un hôte primaire (**Figure 8**).

D'autres facteurs tels les ravageurs, les maladies et la sécheresse contribuaient à sa dégradation (Benhssaini et Belkhodja, 2004).



**Figure 8.** Galle formée par le rabattement du limbe se pigmentent en rouge progressivement, Mergueb (2012).

#### 4.3.4. Position taxonomique de la plante

La classification botanique du pistachier de l'Atlas est présentée dans le **Tableau II**.

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

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

#### 4.3.5. Propriétés d'utilisation traditionnelles et médicales

Les fruits sont appelés El Khodiri par les populations locales, appellation due à la prédominance de la couleur vert foncé à maturité. Ce sont des drupes comestibles de la grosseur d'un pois, légèrement ovales et aplaties, riches en huile dense très énergétique. L'huile est souvent mélangée aux dattes écrasées et peut être consommée à toute heure de la journée avec du petit lait. L'huile a un goût très proche de celui du beurre, elle est très appréciée dans la région. Les graines sont séchées, écrasées ou moulues et ramassées avec de l'eau sucrée et consommées en boulettes ou bien séchées et croquées telles quelles comme des cacahuètes (Belhadj, 2007).

L'écorce produit une résine-mastic qui exsude naturellement de façon abondante par temps chaud. Les populations locales s'en servent pour usage médical. L'arbre fournit un bois d'artisanat et toutes les espèces du pistachier constituent un apport en fourrage considérable pour l'alimentation du bétail surtout en automne. Cette essence peut entrer dans le cadre de la lutte contre la désertification utilisée pour la fixation des dunes, comme brise-vents, elle est également source en bois de chauffage dans les régions retranchées. En Algérie, l'utilisation de la culture reste faible malgré son potentiel d'adaptation aux conditions arides du milieu.

Les conditions climatiques de la plupart des régions agricoles montagneuses et semi-arides de notre pays sont favorables à son extension (Belhadj, 2008).

Il existe d'autre utilisation tel que: comme antiseptique, antifongique et dans les maladies abdominales (Baba Aissa, 2000). Le suintement du tronc d'arbre donnant l'encre rouge est utilisé dans la tannerie des peaux. De plus *Pistacia atlantica* est l'un des usines largement recommandées par les herboristes et utilisées pour le leur activité hypoglycémique en Jordanie (Hamdan et Afifi, 2004).

#### **4.3.6. Travaux antérieurs de *Pistacia atlantica***

L'analyse phytochimique de différentes parties de la plante a été l'objet de quelques études. Les potentiels antioxydants des espèces du *Pistacia* sont du en particulier à la présence des flavonoïdes et des flavones (Topçu *et al.*, 2007), des gallotannins (Zhao *et al.*, 2005) et des phénols simples tels que l'acide gallique et l'acide p-coumarique (Benhammou *et al.*, 2008).

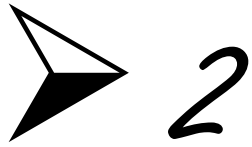
D'autres groupes chimiques caractérisent l'huile des fruits du pistachier de l'Atlas : les triterpénoïdes, les acides gras insaturés tels les acides oléique (46 %), linoléique (27.5 %), palmitique (24 %), palmitoléique (1.23–5.73 %), stéarique (1.48–2.61 %), linoléique (0.95–1.5 %), et les stéroïdes et les triglycérides (Benhassaini *et al.*, 2004; Yousfi *et al.*, 2005). Cependant, la composition chimique de l'huile essentielle d'oléorésine révèle sa richesse en  $\alpha$ -pinène (70 %) et  $\beta$ -pinène (1.94 %) (Delazar *et al.*, 2004; Benhassaini *et al.*, 2008). Les composés de l'huile essentielle de différentes parties de *Pistacia atlantica* du Maroc sont : le terpinen-4-ol (21.7%) et l'elemol (20.0%) comme des principaux constituants dans les feuilles avec des quantités faibles en  $\beta$ -eudesmol (8.4%),  $\gamma$ -eudesmol (7.0%) et en p-cymène (5.0%). Réciproquement, les fruits ont été dominés par le bornyl acétate (21.5%) et l'acide octanoïque (8.2%) d'une part, et le  $\alpha$ -pinène (42.9%),  $\beta$ -pinène (13.2%) et p-cymen-8-ol (8.7%) dans la gomme d'autre part (Barrero *et al.*, 2005). Les monoterpènes hydrocarbonés tels le  $\alpha$ -pinène (32.6–54.7%) et le  $\beta$ -pinène (8.0–20.2%) constituent la classe majoritaire suivie par les sesquiterpènes dans les feuilles, les fruits et les écorches de cette plante (Mecherara-Idjeri *et al.*, 2008). Une étude similaire sur les feuilles permet à Gourine et ses collaborateurs (2010) de confirmer la dominance de ces deux classes.

Peu de travaux ont été consacrés sur l'étude des teneurs en polyphénols et les propriétés antioxydantes de différentes parties de *Pistacia atlantica* (Benhammou *et al.*, 2007; Yousfi *et al.*, 2009). Les résultats de ces travaux ont montré la richesse de cette plante en composés phénoliques et l'identification d'un nouveau antioxydant le 1 (méthyl 5-(3,4-

dihydroxyphényl)-3-hydroxypenta-2,4- dienoate) (Yousfi *et al.*, 2009). Une autre étude réalisée par Adams et ses collaborateurs (2009) a mis en évidence une nouvelle substance anti- *Plasmodium falciparum*, le flavone 3-methoxycarpachromène dans l'extrait d'acétate d'éthyle de *Pistacia atlantica*.

L'analyse phytochimique des différentes parties de l'arbre de pistachier de l'Atlas a été l'objet de quelques études via la composition du fruit en acides gras, en acides aminés, en éléments minéraux et le dosage quantitatif des protéines; des fibres et de l'amidon (Yousfi *et al.*, 2009).

En outre, une étude plus récente sur les extraits phénoliques de cinq différentes parties de l'arbre de Pistachier de l'Atlas à savoir: les feuilles, les écorces, les gales, les fruits et la parties dégradée de l'arbre (champignon). Les résultats ont montré que les différents extraits sont riches en composés phénolique à l'exception des extraits des écorces. L'analyse de l'activité antioxydante de ces derniers et l'application des technique spectrale ont permis de mettre en évidence deux produits à structure phénolique responsable de cette activité (Yousfi *et al.*, 2005).



# *Matériels et Méthodes*

# 1. Matériels

## 1.1. Matériel végétal

Les feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. ont été récoltées au mois d'Aout 2012 dans la région d'Ain El Hadjel (Wilaya de M' sila) au niveau de la réserve national El Mergueb. L'identification de l'espèce a été validée par Dr. Yaici Karima du laboratoire de Phytothérapie appliquée aux maladies chroniques (L.P.A.M.C) à l'université Ferhat Abbes Sétif 1.

## 1.2. Matériel animal

L'étude *in vivo* a été réalisée sur 40 souris Albinos mâles et femelles et de poids moyen de  $25.33 \pm 2.39$  g et  $26.31 \pm 4.08$  g respectivement, sont utilisées pour évaluer l'effet toxique aigu. En plus, 25 rats (*Rattus norvegicus*) variété Wistar adultes de sexe mâle et de poids moyen de  $155.99 \pm 18.25$ g ont été utilisés pour évaluer l'activité antidiabétique. Ces animaux procurés aux prés de l'Institut Pasteur d'Alger. Ils sont hébergés dans des cages munies d'un porte étiquette où est mentionné le nom du lot, le traitement subi et les dates des expérimentations. Les animaux sont utilisés après une période d'adaptation de 7 jours, ils ont accès libre à l'eau et à l'aliment standard fourni par l'Office National des Aliments de Bétails (ONAB) de Bejaia.

L'identification individuelle des expérimentaux se fait au niveau de la queue par des marques colorées. Les souris Albinos sont placées dans des cages en matière plastique ayant un couvercle en acier inoxydable, munies de biberons. Une épaisse couche de sciure est déposée au fond des cages et renouvelée tous les 3 jours. Tous les rats sont aussi placés dans des cages d'aluminium inoxydable avec des biberons. La couche épaisse de sciure renouvelée chaque jour avec un accès libre à la nourriture et à l'eau, avec une température de laboratoire de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ .

## 1.3. Produits chimiques et appareillage

Plusieurs produits chimiques provenant de Sigma, Fluka et Prolab ont été utilisés: acide gallique, acétate éthyle, acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA), acide linoléique,  $\beta$ -carotene, chloroform, 2-2-Diphényl-1-picryl-Hydrazil (DPPH), Folin-Ciocalteu, formaldéhyde, hydroxytoluène butylé (BHT), méthanol, n-butanol, quercetine, trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), rutine, tween 40, streptozitocin (STZ). Parmi les appareils utilisés: rotavapor (Rotavapor Germany, bÜchi461), centrifugeuse (Sigma,3K30), glucomètre.

## 2. Méthodes

### 2.1. Préparation des extraits et dosages

Les tests phytochimique sont réalisés sur les extraits des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. dissous dans l'eau distillée.

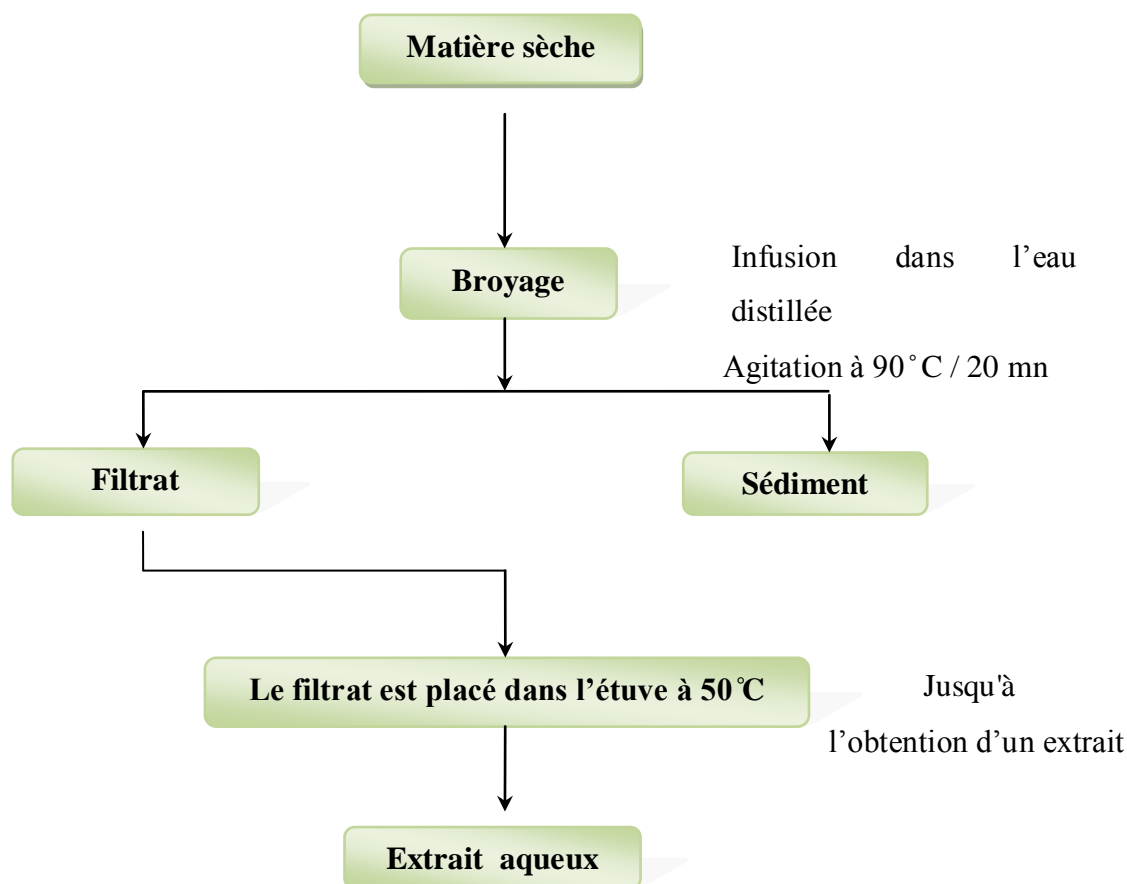
#### 2.1.1. Préparation des extraits de *Pistacia atlantica* Desf.

Les feuilles sont nettoyées avec de l'eau de robinet puis mises à sécher à température ambiante dans un endroit aéré et à l'ombre afin de mieux conserver les molécules sensibles. Puis broyée en poudre à l'aide d'un mortier pour qu'elle soit prête à l'utilisation. La poudre obtenue a été soumise à une extraction et fractionnement pour avoir plusieurs extraits.

##### ➤ **Extrait aqueux**

L'extrait aqueux (EAq) est préparé en suivant la méthode décrite par Ljubuncic et ses collaborateurs (2005) avec quelques modifications. Cet extrait est obtenu à partir de l'infusion de 10 g de poudre des feuilles dans 100 ml d'eau distillée sous agitation magnétique à 90 °C pendant 20 mn à raison de 350 Tr/mn, ensuite une filtration rapide sur compresses stériles, puis sur papier filtre a été effectuée. Le filtrat est placé dans l'étuve à 50°C et, conservé par la suite à - 4°C jusqu'à son utilisation (**Figure 9**).





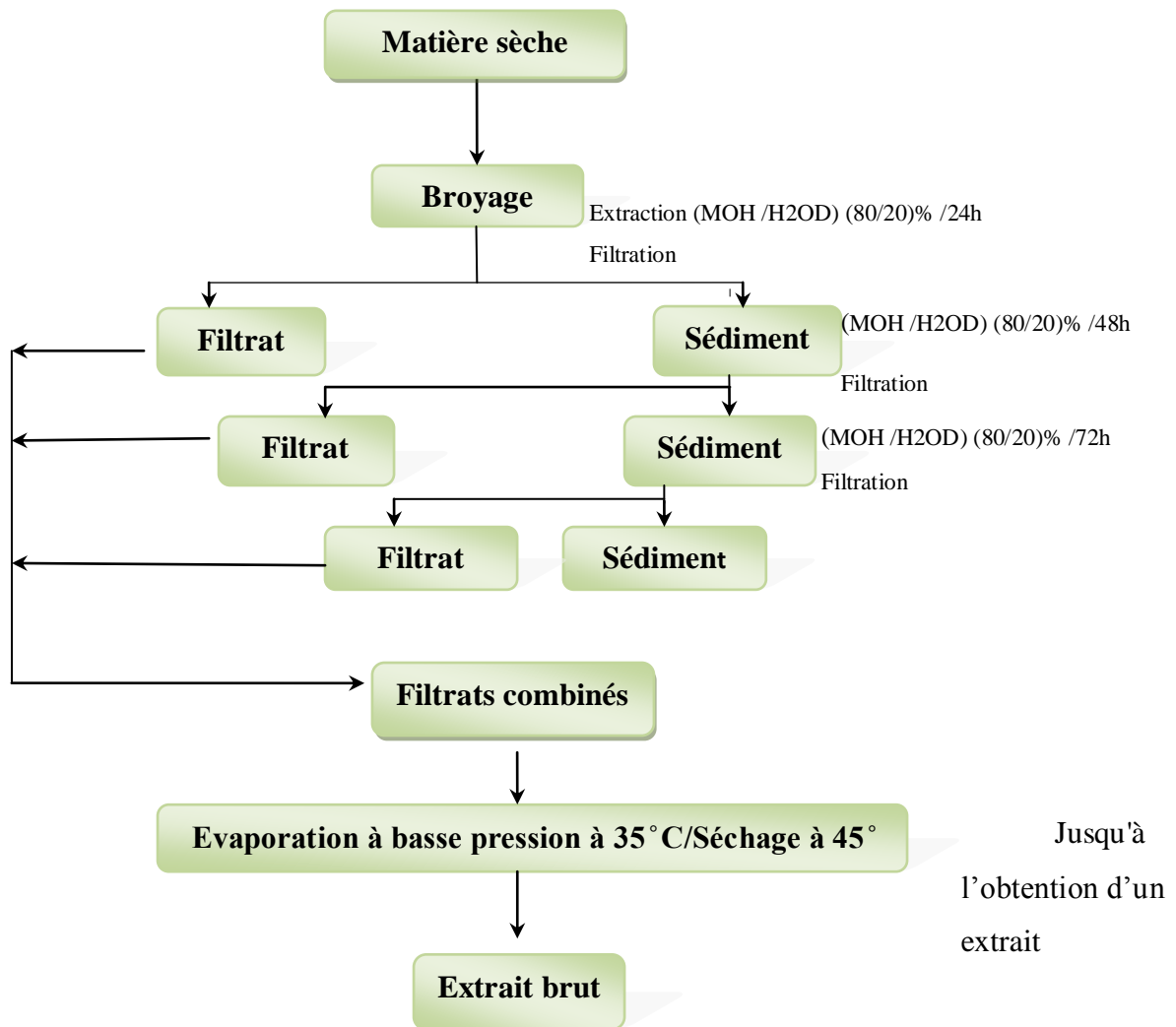
**Figure 9.** Protocole préparation de l'extrait aqueux (Ljubuncic *et al.*, 2005).

### ➤ **Extrait brut**

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante. L'extraction est réalisée selon la méthode de Lakić et ses collaborateurs (2010) avec modification, L'extrait brut (EBr) des feuilles a été préparé à partir de la matière sèche finement broyée à l'aide d'un moulin à café, 100g de poudre de feuille a été mise à macérer dans 1 litre de mélange méthanol/eau distillé (80/20) et à l'ombre pendant 24 heures.

Le macérât est par la suite filtré deux fois sur compresses stériles puis à travers le papier filtre. Une deuxième macération a été réalisée sur le sédiment en respectant les mêmes étapes que la première macération pendant 48 heures. Une troisième macération a été réalisée sur le deuxième sédiment de la même façon mais pendant 72 heures. Les filtrats sont recombinaés

puis évaporés par un rota-vapeur à 35°C et les résidus finals ont été mise à sécher dans une étuve à 45°C, jusqu'au l'obtention d'un extrait sous forme de poudre conservé à moins 4°C jusqu'à son utilisation (**Figure 10**).



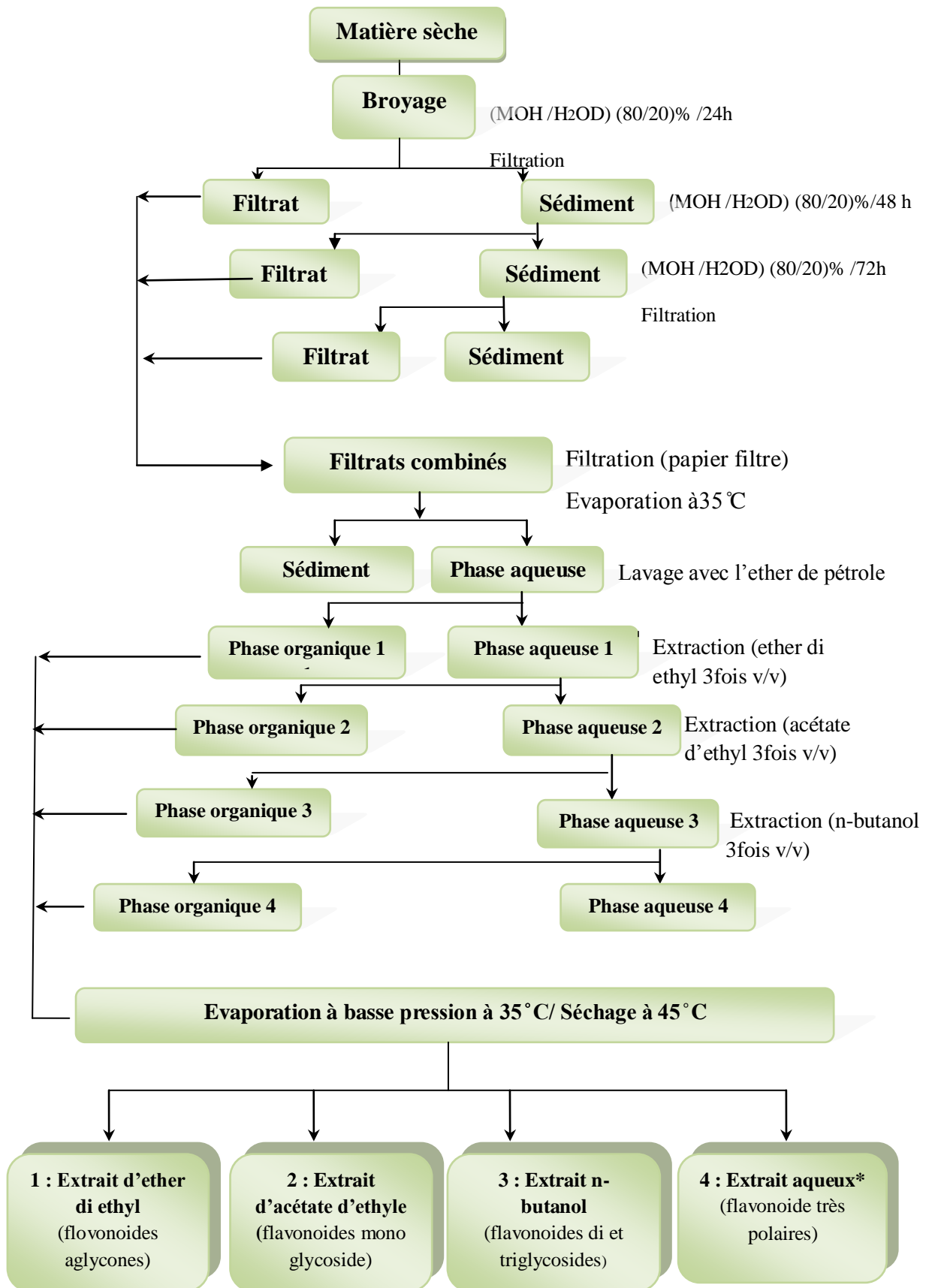
**Figure 10.** Protocole de préparation de l'extrait brut (Lakić *et al.*, 2010).

### ➤ Fractionnement de l'extrait brut

L'extraction des flavonoïdes est réalisée selon la méthode de Markham (1982), avec modification inspirée selon la méthode de Bruneton (1993). Elle est basée sur le degré de solubilité des flavonoïdes dans les solvants organiques (**Figure 11**). Cette méthode comprend deux grandes étapes : la première phase d'extraction se fait avec le mélange méthanol/eau distillé pour solubiliser les flavonoïdes et la deuxième est réalisée avec l'éther diéthylique (extraction des génines libres) et l'acétate d'éthyle (extraction des monoglycosides) et le n-butanol (pour solubiliser les di et les triglycosides).

L'extraction des flavonoïdes est effectuée à partir de la matière sèche finement broyée par le mélange méthanol/eau distillé (80/20)% en suivant le même protocole d'extraction de l'extrait brut. Les filtrats combinés sont filtré sur Büchner sous pression réduite puis soumis à une évaporation à basse pression à 35°C (Rota Vapor). La phase aqueuse est débarrassée des cires, des lipides et de la chlorophylle par quatre lavages successifs avec l'éther de pétrole (v/v) pour donner une phase aqueuse. Afin de séparer les flavonoïdes en fractions aglycones, monoglycosides et di et triglycosides, la phase aqueuse est mélangée avec l'éther diéthylique (v/v) pour obtenir une phase organique contenant les flavonoïdes aglycones et les aglycones méthoxylés. La phase aqueuse restante subit à son tour trois extractions avec l'acétate d'éthyle afin de récupérer dans la phase organique certains flavonoïdes aglycones mais surtout les monoglycosides. La phase aqueuse restante est mélangée avec le n-butanol pour récupérer notamment les flavonoïdes di et triglycosides. La phase aqueuse finale contient surtout les flavonoïdes glycosylés plus polaires.

Les quatre fractions récoltées sont concentrées par évaporation à basse pression à 35°C puis sécher dans une étuve pendant 72h heures à 45°C. Le séchage permet d'obtenir un produit facilement soluble dans l'eau et qui, après addition d'eau, présente les mêmes caractéristiques que le produit d'origine. Chaque extrait est pesé pour calculer le rendement de l'extraction, exprimé en gramme de d'extrait par 100 g de matière sèche.



**Figure 11.** Protocole de fractionnement des flavonoïdes (Bruneton,1993 ; Lakić *et al.*, 2010).

### 2.1.2. Calcul du rendement

Le rendement de la plante en extraits est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la plante à traiter (Carré, 1953). Le rendement qui est exprimé en pourcentage a été calculé par la formule suivante:

$$R = \frac{PE}{PA} * 100$$

Où

**R:** rendement de l'extrait en pourcentage;

**PE:** poids de l'extrait en gramme;

**PA:** poids de la plante en gramme.

### 2.1.3. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes des extraits de *Pistacia atlantica* Desf.

#### 2.1.3.1. Dosage des polyphénols

La teneur en composés phénoliques des différents extraits de *Pistacia atlantica* Desf. a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu (Li *et al.*, 2007) basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) du réactif de Folin-Ciocalteu par les groupement oxydables des composés polyphénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleu. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (Georgé *et al.*, 2005).

Brièvement, 500 µl du réactif Folin-Ciocalteu (dilué 1: 10 dans de l'eau distillé) sont ajoutés à 100µl d'extrait avec des concentrations bien déterminées. Quatre minutes après, 400µl de la solution de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) d'une concentration de 75 mg/ml sont additionnées au mélange réactionnel. Après incubation de 2 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 765 nm.

La courbe d'étalonnage est réalisée par l'acide gallique (0-160 µg/ml). Les concentrations des composés phénoliques sont déterminées à partir de la courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG/ g).

#### 2.1.3.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée selon Bahorun et ses collaborateurs (1996) pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait de *Pistacia atlantica* Desf. 1 ml

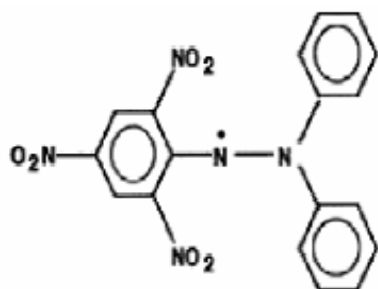
d'échantillon ou de standard (préparés dans le méthanol avec dilutions convenables) est ajouté 1 ml de la solution d'AlCl<sub>3</sub> (2% dans le méthanol). Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir la gamme d'étalonnage établie avec la quercetine et la rutine (0-40 µg/ml) et est exprimée en mg d'équivalent de quercetine et/ou rutine par mg d'extrait.

#### 2.1.4. Évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits

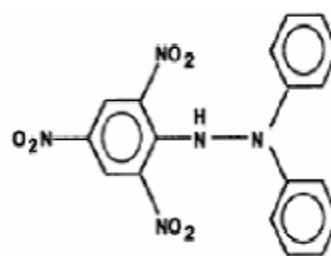
Deux tests différents ont été utilisés pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Pistacia atlantica*: le test de piégeage du radical DPPH (2,2-Diphényl-1-Picryl-Hydrazil) et le test du blanchissement de β-carotène.

##### 2.1.4.1. Effet piègeur des extraits contre le radical DPPH

Le pouvoir antioxydant des extraits qui s'exprime par la donation d'un électron ou d'un atome d'hydrogène a été mesuré par une méthode spectrophotométrique (Burits et Bucar, 2000). Le radical libre 2,2-Diphényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH) est utilisé comme un réactif (Figure 12).



Diphenylpicrylhydrazyl (Radical libre)



Diphenylpicrylhydrazyl (forme réduite)

**Figure 12.** Forme libre et réduite du DPPH (Molyneux, 2004).

L'expérience a été effectuée selon la méthode décrite par Aslan ses collaborateurs (2006). 50 µl de différentes concentrations des extraits est ajouté à 5 ml de la solution méthanolique du DPPH d'une concentration de 4 mg/ml. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante et dans l'obscurité, l'absorbance est lue à une longueur d'onde de 517 nm.

- Le contrôle négatif est représenté par la solution méthanolique du DPPH.
- Le contrôle positif est représenté par le BHT et l'acide gallique, quercetine et rutine.

La concentration des extraits dans le milieu réactionnel est comprise entre 0-3,5. Alors que celles des antioxydants standards (acide gallique, quercétine, rutine et BHT) sont comprises entre 0 à 10 µg/ml.

L'activité antioxydant qui exprime les capacités de piéger le radicale libre est estimé par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol (Inhibition % ou I%) suivant la formule:

$$\text{Inhibition \%} = \frac{(\text{Abs control} - \text{Abs test})}{\text{Abs control}} \times 100$$

Où:

Abs control : Absorbance du contrôle à la longueur d'onde 517nm;

Abs test : Absorbance de l'échantillon à la longueur d'onde 517nm.

La valeur IC<sub>50</sub> est définie comme étant la concentration d'extrait qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH (couleur), ou encore, c'est la concentration de extrait exigée pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constitué de méthanol et de DPPH. Les valeurs IC<sub>50</sub> ont été calculées par la régression linéaire où l'abscisse est représenté par la concentration des composés testés et l'ordonné par le pourcentage d'inhibition (I%) (Mensor *et al*, 2001).

#### 2.1.4.2. Test du blanchissement de β-carotène

Dans cette méthode, l'activité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition des composées organiques volatiles et des hydroperoxydes à doubles liaisons conjuguées qui apparaissent lors de l'oxydation de l'acide linoléique (Dapkevicius *et al*, 1998).

Le test du blanchissement de β-carotène a été effectué selon la méthode d'Aslan ses collaborateurs (2006). Un mélange en solution a été préparé comprenant 0,5mg de β-carotène (dissous dans 1 ml de chloroforme), 25µl d'acide linoléique et 200mg de tween 40. Le chloroforme de la solution a été évaporé dans une rotavapor à 40°C, ensuite 100 ml d'eau distillée saturée d'oxygène est ajoutée avec une agitation vigoureuse de l'émulsion résultante. 350 µl d'extraits concentration constante de 2 g/l ont été ajouté à 2500µl de la solution, même procédure pour contrôles (2 g/l). Les absorbance ont été lue à 490 nm, après 0 heure, 1 h, 2h, 3h, 4h, 6h, 24h, et 48h d'incubation à température ambiante et dans l'obscurité.

- Le contrôle négatif est représenté par le méthanol et l'eau distillée;
- Le contrôle positif est représenté par le BHT.

Le pourcentage d'inhibition des extraits antioxydant est mesuré comme suit:

$$AA\% = \frac{\text{Abs test}}{\text{Abs BHT}} \times 100$$

Où:

**AA%:** Le pourcentage de l'activité antioxydante;

**Abs test:** Absorbance en présence de l'extrait (test);

**Abs BHT:** Absorbance en présence du contrôle positif BHT.

## **2.2. Partie biologique**

### **2.2.1. Toxicité de l'extrait brute**

Afin d'éviter tout éventuel risque de toxicité lors des tests biologiques, il était nécessaire de réaliser des essais de toxicité, pour cela on a administré aux souris des deux sexes différentes concentrations de l'EBr solubilisé dans l'eau physiologique, et bien sur il est impératif d'ajouter un lot témoin auquel on administre l'eau physiologique.

#### **A. Administration**

L'administration de différentes concentrations de l'EBr, solubilisé dans l'eau physiologique à raison de 500 ml de solution par 100 g de poids des souris, a été effectuée par gavage oral à l'aide d'une sonde de gavage suivant le protocole expérimentale décrit par Tshikosa (2005) avec modification. Les souris utilisées ont initialement été soumises à un jeun hydrique de 16 heures, puis elles ont été pesées et réparties en cinq groupes de huit souris pour chacun (4 males et 4 femelles).

Les groupes ont été traités ainsi qu'il suit :

- Groupe 1 (témoin) : 500 ml d'eau physiologique/souris;
- Groupe 2 : 3000 mg/kg de poids corporel;
- Groupe 3 : 6000 mg/kg de poids corporel;
- Groupe 4 : 9000 mg/kg de poids corporel;
- Groupe 5 : 12000 mg/kg de poids corporel.

#### **B. Observation**

Après l'administration de l'extrait, les souris sont surveillées en permanence pendant deux heures avec prise de notes sur les signes de toxicité apparents. Pour le reste de la période de l'expérience (14 jours), les souris sont surveillées quotidiennement pour signaler s'il y a eu des morts ou des changements dans l'alimentation et la consommation d'eau ou encore des



signes comportementaux ou cliniques supplémentaires de toxicité. A la fin de l'étude (le 14<sup>ème</sup> jour) ( $J_{14}$ ), toutes les souris restant sont sacrifiées et le nombre des souris déjà morts est exprimé en pourcentage.

### **C. Expression des résultats**

La  $DL_{50}$  exprimée en mg/kg de poids corporel est déterminée par la méthode graphique de Miller et Tainter (1944) décrite par Randhawa en 2009.

En général il se trouve dans chaque série d'essai une dose assez faible pour laisser en survie tous les animaux et une dose assez élevée pour tuer tous les animaux. Les pourcentages des souris morts dans chaque lot sont relevés et convertis en unités probits. Les doses correspondant à ces pourcentages sont déterminées en milligrammes par kilogramme de poids corporel.

La courbe exprimant la mortalité des souris (en unités probits) en fonction du logarithme de la dose administrée (en milligrammes par kilogramme de poids corporel) est tracée. La linéarisation de cette courbe semi-logarithmique permet de déterminer la  $DL_{50}$  qui est l'abscisse du point correspondant à 50 % de mortalité.

Pour l'estimation de l'écart type de la  $DL_{50}$ , on lit sur le graphique les doses correspondant respectivement à 16% et 84% de mortalité (probits 4 et 6); en soustrayant le premier du second, on obtient la valeur SE.

## **2.2.2. Évaluation de l'effet antidiabétique de l'extrait brut de *Pistacia atlantica* Desf.**

### **2.2.2.1. Induction du diabète expérimentale**

Pour cette expérience, 20 rats Wistar subissent une injection unique intrapéritonéale, voie privilégiée car elle est facile à pratiquer et véhiculant de manière homogène le traitement (STZ) via la vascularisation du péritoine. La dose administrée de (STZ) à raison de 60 mg/kg de poids corporel (Sedaghat *et al.*, 2011), s'avère optimale pour produire une intolérance au glucose et des désordres métaboliques et endocrinologiques. Le STZ a été préparé juste avant l'administration dans une solution physiologique (NaCl 0.9%) pour avoir la concentration injecté décrite précédemment. Les sept rats témoins subissent également une injection unique d'eau physiologique afin de rester dans les mêmes conditions d'expérimentation.

Deux jours après l'injection, une évaluation de glucose sanguin est effectuée à l'aide d'un glucomètre et les rats ayant présenté une glycémie supérieure à 250 mg/dl ont été déclarés diabétiques et ont ainsi été sélectionnés pour le protocole expérimental.

Après l'installation du diabète chez les rats, ces derniers sont repartis en quatre lots:

- lot 1 : Diabétiques traités (Métformine Standard à raison de 500 mg/kg);
- lot 2 : Diabétiques traités (*Pistacia atlantica* EBr à raison de 500 mg/kg);
- lot 3: Diabétiques traités (*Pistacia atlantica* EBr à raison de 250 mg/kg);
- lot 4: Diabétiques traités (*Pistacia atlantica* EBr à raison de 125mg/kg).

Les lots sont traités pendant 3 semaines (Dimo *et al.*, 2007) en monoprise journalière . Le traitement se fait par gavage intragastrique.

#### 2.2.2.2. L'évolution du poids des rats

L'évolution du poids des rats des différents groupes est contrôlée dès le premier jour de l'expérience et hebdomadairement jusqu'à la fin du traitement. Il est impératif d'ajuster les doses de traitement pour les lots chaque semaine selon le changement du poids afin de maintenir la même dose par kilogramme du poids corporel.

#### 2.2.2.3. Prélèvement du sang

Les animaux ont été anesthésiés avec un coton imbibé d'ether di ethyl , puis environ 2 ml de sang ont été prélevés pour chaque animal au niveau de la veine rétro-orbitale à l'aide d'un tube capillaire hématocrite. Le sang prélevé a été recueilli dans des tubes étiquetés de 4 ml contenant un anticoagulant. Les tubes contenant l'EDTA sont centrifugés pendant 5 minutes à 3500 Trs/mn et puis, à l'aide d'une pipette pasteur, le plasma a été délicatement prélevé et introduit dans des tubes éppendorfs préalablement étiquetés.

Les échantillons de plasma ainsi obtenus ont été conservés dans un congélateur avec les tubes qui contiennent l'héparine en vue de l'analyse des paramètres biochimiques et paramètres hématologiques.

#### 2.2.2.4. Examens biochimiques

Les analyses biochimiques ont été réalisées au niveau du laboratoire centrale de l'hôpital universitaire de Sétif à l'aide d'un appareil automatique de type TECHNICON, RA-1000. Les paramètres dosés sont: Glucose (GLU), Cholestérol total (CHL T), Triglycérides (TRG).

#### 2.2.2.5. Le sacrifice des animaux

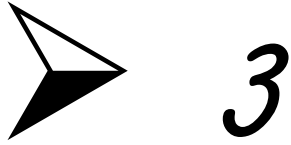
A la fin de la période du traitement, les animaux sont mis à jeun pendant une nuit. La glycémie à jeun et le poids des rats après le dernier jour du traitement sont notés avant le

sacrifice. Après le prélèvement sanguin, les rats sont sacrifiés par une forte dose d'anesthésiés, puis on passe rapidement à la dissection et au prélèvement des organes (pancréas, foie et reins).

### **2.3. Analyse statistique**

Pour les tests antioxydants, les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SD et les mesures ont été répétées trois fois (n=3). Les résultats sont analysés par le test-t de Student pour les comparaisons simples en utilisant GraphPad (version 5). La différence a été considérée statistiquement significative lorsque la valeur de p est  $< 0.001$ .

Pour les études de la activité antidiabétique, la comparaison des moyennes et des variances est déterminée grâce au même logiciel .Les valeurs (n=5) sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. Les résultats sont analysés par l'analyse de la variance à un critère de classification (One-way ANOVA) suivi du test de Dunnett pour la comparaison multiple des résultats. Les valeurs de  $p \leq 0.05$  sont considérées statistiquement significatives.



## *Résultats et Discussion*

# 1. Préparation des extraits et dosages

## 1.1. Rendement

Après l'extraction des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf., les extraits ont été obtenus suivant trois protocoles. Le rendement est calculé et les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau III**.

**Tableau III.** Rendement d'extraction des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf.

<b>Les extraits</b>	<b>Rendement</b>
<b>EAq</b>	27,41 %
<b>EBr</b>	46,57 %
<b>EEp</b>	1,13 %
<b>EEde</b>	8,25 %
<b>EAc</b>	12,00 %
<b>ENb</b>	11,74 %
<b>EAq*</b>	1,76 %

**EAq:** Extrait aqueux; **EBr:** extrait brut; **EEp:** Extrait d'éther de pétrole; **EEde:** Extrait d'éther diéthylique;  
**EAc:** Extrait d'acétate d'éthyle ; **ENb:** Extrait de n-butanol; **EAq\*:** la fraction aqueuse résiduelle.

Les résultats obtenus montrent que parmi les différents extraits de *Pistacia atlantica* Desf., l'extrait EBr représente le rendement le plus élevé (46,57%) par rapport au poids total des feuilles, suivi par l' EAq (27,41 %), l' EAc (12,00 %), l' ENb (11,74 %) et l' EEde (8,25%), de plus le rendement le plus faible est obtenu par la fraction aqueuse l' EAq\* (1,76 %) et par l'extrait d'éther de pétrole (EEp1,13 %). Le rendement de l'EBr est de l'ordre de 46,578% du poids total des feuilles, ce dernier est supérieur à 7.21% rapporté par Lakić et ses collaborateurs (2010) ayant utilisé la même technique d'extraction pour les feuilles de *Galium verum L.*

En comparaison avec les résultats de Kebieche (2009), il apparaît que le rendement de l'EBr et de ses fractions par rapport au poids total des feuilles est supérieur dans ce présent travail à l'exception du rendement de l'extrait de n-butanol(ENb) qui est légèrement inférieur.

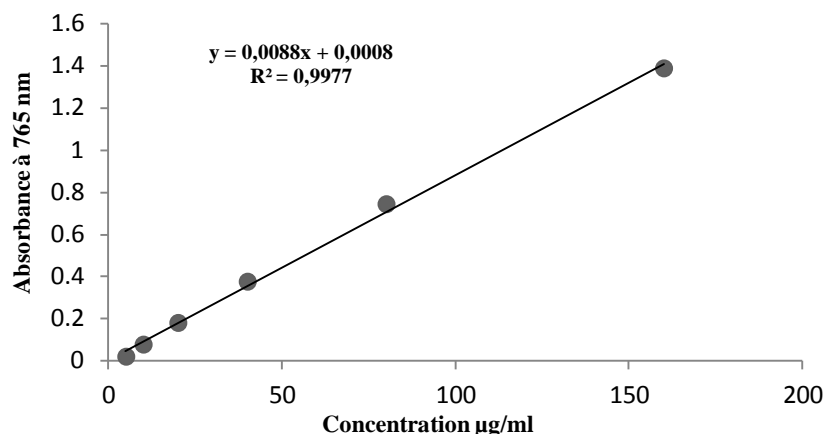
Ces résultats indiquent que cette plante contient une teneur remarquable de composés extractibles.

Afin d'utiliser les extraits pour des essais pharmacologiques et toxicologiques, la conservation de l'état bioactif des molécules extraites semble importante. L'épuisement complet du solvant s'avère nécessaire. La présence même des traces du méthanol dans l'extrait peut entraîner des effets secondaires indésirables. De ce fait, l'effet positif ou curatif de la substance pharmacologique peut être masqué par l'action du solvant (Boussahel, 2011)

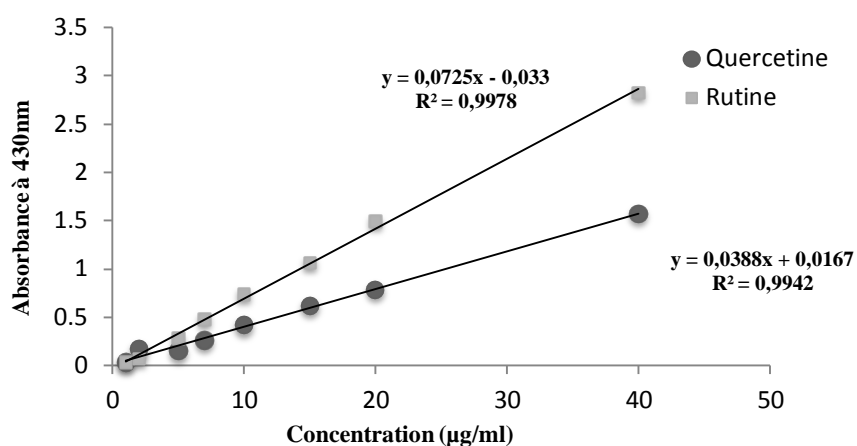
## 1.2. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

Afin de caractériser les extraits préparés à partir des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf., un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydante des plantes leur sont attribués (Meziti, 2009) La méthode de dosages des polyphénols totaux est celle de Folin-Ciocalteu (Li *et al.*, 2007). L'acide gallique a été utilisé comme standard. Alors que, le dosage de flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (Bahorun *et al.*, 1996) en utilisant comme standard la quercétine et la rutine. Les résultats sont représentés dans le **tableau IV** et les gammes d'étalonnages dans les **Figures 13 et 14**.

Les résultats du dosage des polyphénols montrent que l'EBr contient  $340.58 \pm 31.83$   $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait. Cependant, l'EEd présente la fraction contenant la valeur la plus élevée en polyphénols ( $967.09 \pm 47.05$   $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait) suivi par EAq\* ( $377.18 \pm 17.00$   $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait) et EAe ( $360.41 \pm 18.83$  EAG/mg d'extrait). L'EAq contient  $266.50 \pm 41.33$   $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait, alors que l'ENb ne contient que ( $176.77 \pm 12.30$   $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait).



**Figure 13.** Droite d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne  $\pm$  SD de trois essais).



**Figure 14.** Droite d'étalonnage de la quercétine et la rutine (moyenne  $\pm$  SD de trois essais).

**Tableau IV.** Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes dans les extrais des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf.

Les extraits de la Plante	Teneur en polyphénols ( $\mu\text{g EAG/mg}$ )	Teneur en flavonoïdes	
		Quercétine ( $\mu\text{g EQ/mg}$ )	Rutin ( $\mu\text{g ER/mg}$ )
EAq	266.50 $\pm$ 41.33	12.11 $\pm$ 0.55	9.90 $\pm$ 3.20
EBr	340.58 $\pm$ 31.83	14.52 $\pm$ 0.94	12.47 $\pm$ 0.15
EEde	967.09 $\pm$ 47.05	22.11 $\pm$ 0.95	16.09 $\pm$ 1.43
E Ae	360.41 $\pm$ 18.83	20.43 $\pm$ 1.06	15.37 $\pm$ 1.97
ENb	176.77 $\pm$ 12.30	19.68 $\pm$ 0.02	14.70 $\pm$ 2.14
EAq*	377.18 $\pm$ 17.00	0.435 $\pm$ 0.35	3.094 $\pm$ 1.91

Les valeurs représentent la moyenne  $\pm$  SD (n=3) ;  $\mu\text{g EAG}$  :  $\mu\text{g}$  d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ;  $\mu\text{g EQ/mg}$  :  $\mu\text{g}$  d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ;  $\mu\text{g ER/mg}$  :  $\mu\text{g}$  d'équivalent de rutine par milligramme d'extrait.

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle que l'EEd est le plus riche en flavonoïdes avec une teneur de  $22.10 \pm 0.95 \mu\text{g EQ/mg}$  et  $16.09 \pm 1.43 \mu\text{g ER/mg}$  d'extrait, suivi par l'EAE ( $20.43 \pm 1.06 \mu\text{g EQ/mg}$  et  $15.37 \pm 1.97 \mu\text{g ER/mg}$  d'extrait) et l'ENb ( $19.68 \pm 0.02 \mu\text{g EQ/mg}$  et  $14.70 \pm 2.14 \mu\text{g ER/mg}$  d'extrait) Cependant seulement  $0.435 \pm 0.35 \mu\text{g EQ/mg}$  et  $3.094 \pm 1.91 \mu\text{g ER/mg}$  d'extrait) sont trouvés dans l'EAg\*.

Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes indique la présence de ces deux métabolites secondaires dans tous les extraits. Différemment, les mêmes fractions donnent une teneur en polyphénols et flavonoïdes relativement supérieur à celle rapporté par Kebieche (2009), à l'exception de l'EAg\* qui présente une teneur plus faible ( $0.435 \pm 0.35 \mu\text{g EQ/mg}$  et  $3.094 \pm 1.91 \mu\text{g ER/mg}$ ).

### **1.3. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Pistacia atlantica* Desf.**

Plusieurs méthodes ont été utilisées, dans des travaux précédents, pour déterminer l'activité antioxydante des plantes. Dans ce travail, deux méthodes différentes ont été impliquées pour évaluer l'activité antioxydante des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. Ces deux méthodes sont basées sur deux mécanismes antioxydants différents : l'effet piègeur des radicaux libres, évalué par le test du piégeage du radical DPPH, et l'inhibition d'auto-oxydation des lipides en utilisant le test du blanchissement de  $\beta$ -carotène.

#### **1.3.1. Effet piègeur du radical DPPH**

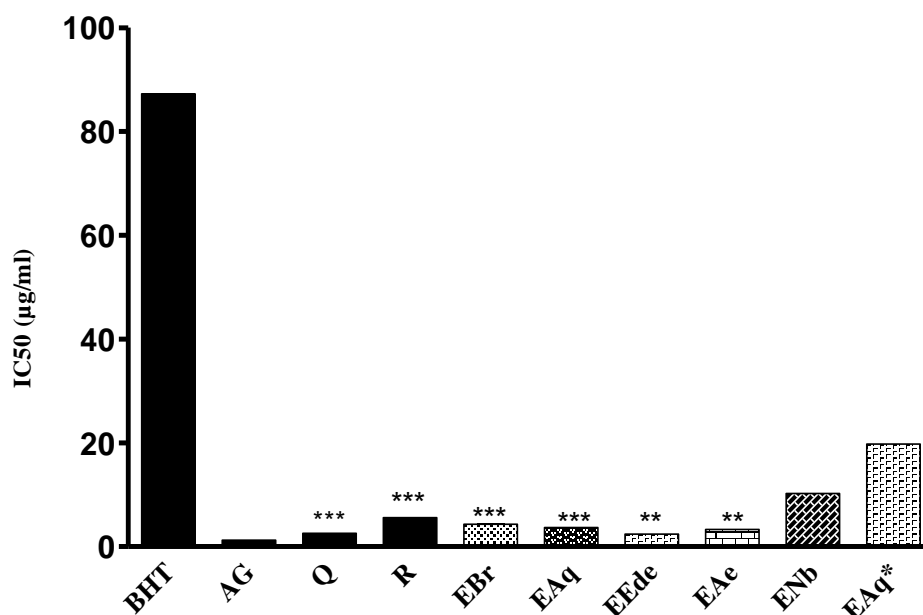
Le radical DPPH a une coloration violette foncée qui va se transformer en jaune pâle lorsqu'il est réduit par les composés antioxydants en lui donnant un proton ou un électron, ce qui diminue son absorbance à 517nm (Guessan *et al.*, 2007). Les résultats indiqués dans la **figure 15** représentent les  $IC_{50}$  des différents extraits. Plus cette concentration est faible plus l'effet antioxydant est très élevé (Atoui *et al.*, 2005).

Les résultats montrent que les composés phénoliques (acide galliques, quercétine et rutine) possèdent une activité anti-radicalaire très élevée et supérieure à celle du BHT ( $87.26 \pm 0.001 \mu\text{g/ml}$ ). L'acide gallique est le plus actif avec une  $IC_{50} = 1.26 \pm 0.001 \mu\text{g/ml}$ , ensuite la quercétine et la rutine ( $2.5 \pm 0.0001 \mu\text{g/ml}$  et  $5.82 \pm 0.0004 \mu\text{g/ml}$ , respectivement). Cependant l'Ede qui a montré une plus grande quantité en polyphénols et flavonoïdes indique un effet plus élevé ( $IC_{50} = 2.42 \pm 0.002 \mu\text{g/ml}$ ) que celui de l'EAE, l'EAg et l'EBr, avec des  $IC_{50}$  de



3.33 ± 0.0001 µg/ml, 3.66 ± 0.003 µg/ml et 4.30 ± 0.087 µg/ml, respectivement. Un résultat qui est proche trouvé par Peksel et ses collaborateurs (2013), qui ont travaillé sur *Pistacia atlantica* Desf. Par contre, l'activité antiradicalaire la plus faible a été exprimée par l'ENb et l'EAq\* avec une IC<sub>50</sub>=10.23 ± 0.0001 µg/ml et 19.75 ± 0.0007 µg/ml peut être due à la teneur élevée en flavonoïdes dans ces extraits. Ces résultats étaient très hautement significatif (p < 0.001, comparant avec le contrôle).

D'après ces résultats, on conclue que l'effet piègeur augmente avec l'augmentation de la concentration des polyphénols dans l'extrait, ce qui mène à suggérer que l'effet antioxydant d'un extrait de plante est en relation avec la quantité des polyphénols y présents. L'effet antioxydant d'un extrait peut aussi différer selon la qualité des polyphénols y présents tel les flavonoïdes qui ont montrés des activités antioxydantes (Wang et Mazza, 2002). Ce mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le radical DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant (Kouri *et al.*, 2007). Quelque composés réagissent très vite avec le DPPH en réduisant un nombre de DPPH égale à celui des groupements hydroxyles de l'antioxydant (Bondet *et al.*, 1997). La configuration spatiale et le nombre de groupement OH des structures flavonoïdiques peuvent avoir une influence sur les différents mécanismes antioxydants (Hein *et al.*, 2002).



**Figure 15.** L'effet piègeur du radical DPPH par le BHT, l'acide gallique, quercetine, rutine et les extraits des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. Chaque valeur de l'IC<sub>50</sub> représente la moyenne ± SD (n=3); \*\*\* : p < 0.001, \*\* : p < 0.01 ; en comparant avec l'acide gallique.

En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène, l'effet scavenger des flavonoïdes (FLOH) est attribué à leur faible potentiel redox qui les rend thermodynamiquement capable de réduire les radicaux libres ( $R^{\bullet}$ ) par un transfert d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyle. Cette réaction donne naissance au radical aroxyde ( $FLO^{\bullet}$ ) et à la molécule radicalaire rendu stable (RH), le  $FLO^{\bullet}$  subira par la suite un réarrangement structurale permettant la redistribution de l'électron célibataire sur le cycle aromatique et la stabilisation de radicaux aroxyde (Javanovic *et al.*, 1994).

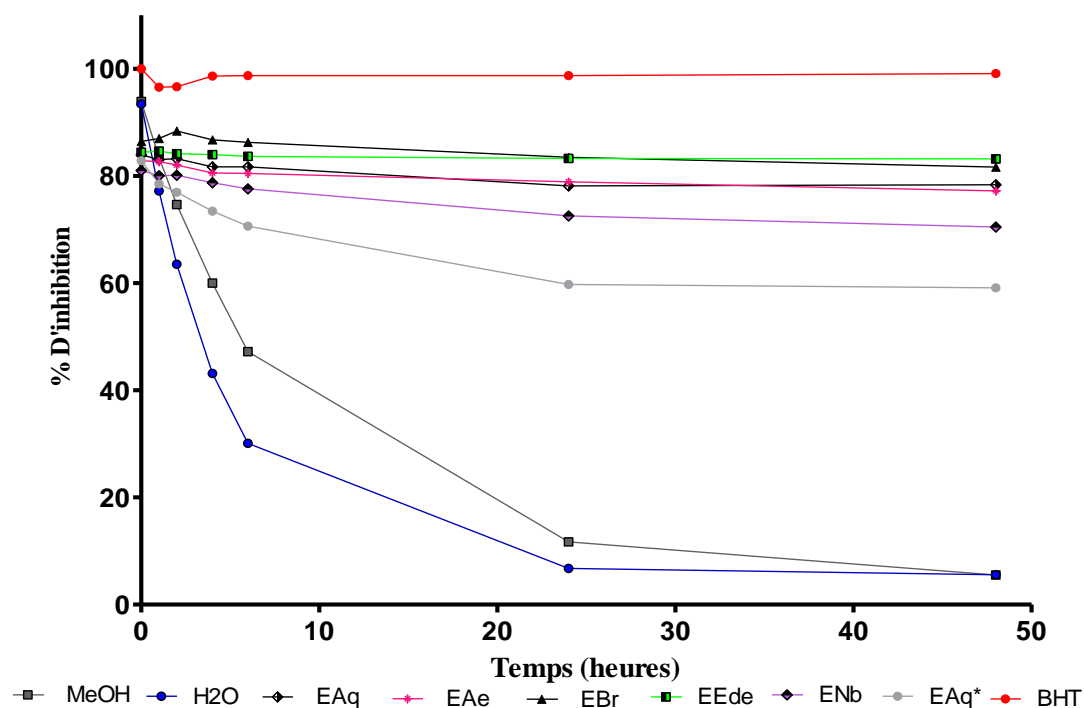
Dans le but d'identifier les sites potentiels au sein des flavonoïdes qui sont responsables sur l'effet scavenger vis-à-vis du radical DPPH, plusieurs travaux ont étudié la cinétique et le mécanisme réactionnel des flavonoïdes avec ce radical stable. Amič et ses collaborateurs (2003) ont mis en évidence la relation structure fonction de 29 flavonoïdes (flavones, flavonols et flavanones) et leurs capacités de piéger le DPPH. Les résultats de cette étude ont montré que les flavonoïdes les plus efficaces sont ceux qui renferment des groupements 3',4'-dihydroxy sur le cycle B et/ou un groupement 3-OH sur le cycle C.

### 1.3.2. Test du blanchissement de $\beta$ -carotène

Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, suite à l'abstraction des atomes d'hydrogènes à partir de groupements méthylènes diallyliques de l'acide linoléique. Ces radicaux libres vont par la suite oxyder le  $\beta$ -carotène hautement insaturé entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie spectrophotométriquement à 490 nm (Amarowicz *et al.*, 2010).

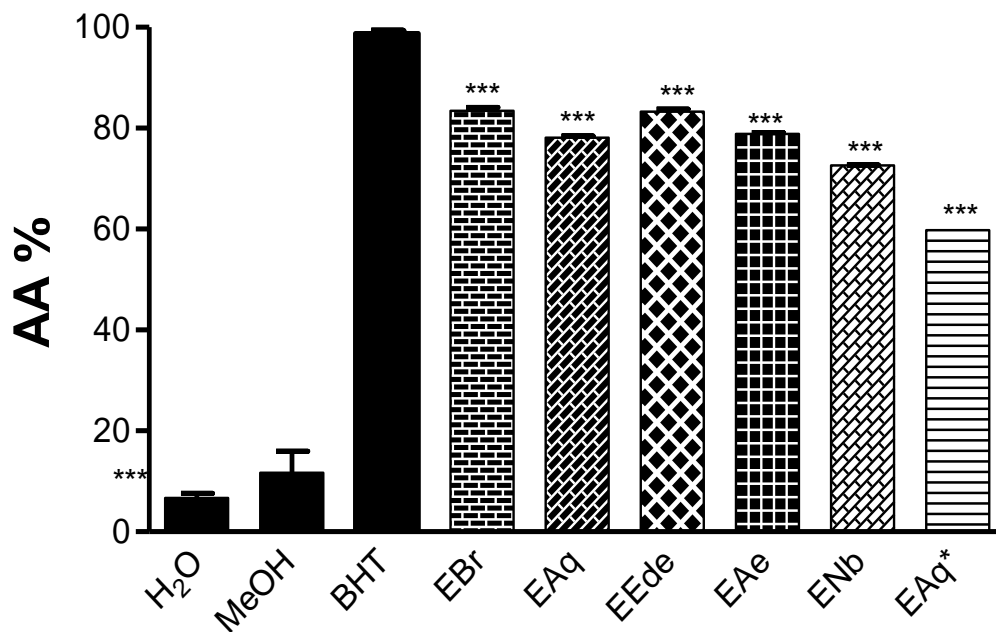
Cependant, la présence des antioxydants dans le mélange réactionnel pourrait inhiber relativement l'oxydation de  $\beta$ -carotène. Cette inhibition est due probablement, soit à l'inhibition de l'auto-oxydation de l'acide linoléique ou au piégeage des radicaux peroxydes formés durant leur oxydation (Tepe *et al.*, 2005).

La **figure 16** montre que le pourcentage d'inhibition de chaque extrait diminue progressivement pour atteindre des valeurs plus ou moins basses. Cette diminution est plus rapide par rapport à celle de BHT et moins par rapport aux contrôles négatifs ( $H_2O$  et  $MeOH$ ). En présence du contrôle positif (BHT), les absorbances de la solution de  $\beta$ -carotène restent stables durant toute la période d'incubation



**Figure 16.** L'activité antioxydante des extraits de *Pistacia atlantica*, du BHT et des contrôles négatifs dans le test du blanchissement de  $\beta$ -carotène. Chaque point représente la moyenne  $\pm$  SD (n = 3).

D'après nos résultats (**Figure 17**), il est évident que tous les extraits testés inhibent d'une manière efficace et significative ( $p \leq 0,001$ ) l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du  $\beta$  carotène. Les deux extraits EBr et EEde montrent la plus grande activité inhibitrice avec 83.43% et 83.30% d'inhibition, une activité qui reste significativement inférieure à celle du BHT avec 98.76% ( $p < 0.001$ ). Une activité antioxydante intermédiaire a été obtenue avec l'EAe ( $78.91 \pm 0.12$ ) et l'EAq ( $78.14 \pm 0.32$ ) qui est statistiquement similaire à celle de l'ENb ( $72.58 \pm 0.12$ ) mais significativement supérieure à celle de l'EAq\* (59.75%) qui représente l'extrait le moins actif. On peut donc résumer l'ordre décroissant des extraits testés en terme d'activité antioxydante relative comme suit : EBr = EEde > EAe = EAq > ENb > EAq\*. Alors que les contrôles négatifs ne montrent qu'une très faible activité antioxydante qui ne dépasse pas  $6.74 \pm 0.84$  % et  $11.73 \pm 4.25$  % pour le H<sub>2</sub>O et MeOH, respectivement.



**Figure 17.** Pourcentage d'inhibition du blanchissement de  $\beta$ -carotène après 24 heures par les extraits de *Pistacia atlantica*, le BHT et les contrôles négatifs. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD (n = 3) ; \*\*\* p < 0.001, comparant avec BHT.

Les valeurs trouvées sont semblables à ceux rapportés par Topcu et ses collaborateurs (2007) et en accord avec ceux rapportés auparavant par Belyagoubi (2012). On constate d'une part que les extraits apolaires ou moyennement apolaires (EBr, EEde, EAe) sont plus actifs que l'extrait polaire (EAq). D'autre part, les extraits les plus riches en composés phénoliques sont les extraits les plus actifs (EBr et EEde). Cependant, ce n'est pas le cas pour l'EAq\*, le plus pauvre en polyphénols et plus particulièrement en flavonoïdes. Son activité est donc partiellement attribuée à la présence d'autres substances plus actives que celles présentes dans les autres extraits.

Étant donné que plusieurs recherches ont montrés que l'effet antioxydant des sources naturelles est lié à la présence des composés phénoliques (Abdille *et al.*, 2005), l'extrait EBr et EEde qui ont démontré la plus grande teneur en polyphénols et la meilleure activité dans ce test, laisse conclure que la forte activité antioxydante des extraits de *Pistacia atlantica* est dû à leur contenance en composés phénoliques. On peut donc expliquer l'activité des extraits apolaires par le paradoxe des phénomènes polaires comme il est décrit par Frankel et ses collaborateurs (1994). Etant donné que le test de blanchissement du  $\beta$  carotène est similaire à un système d'émulsion de lipides dans l'eau.

Frankel et Meyer (2000) ont proposé que les antioxydants apolaires exposent des propriétés antioxydantes plus importantes car ils sont concentrés au sein de l'interface lipide-eau, permettant ainsi de prévenir la formation de radicaux lipidiques et l'oxydation du  $\beta$ -carotène. Alors que les antioxydants polaires restent dilués dans la phase aqueuse et sont ainsi moins efficaces dans la protection des lipides. Un extrait qui retarde ou inhibe le blanchissement du  $\beta$ -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme un antioxydant primaire (Liyana-Pathirana *et al.*, 2006).

Selon plusieurs auteurs, le test d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique couplée à celle du  $\beta$ -carotène, paraît très utile comme un modèle mimétique de la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques (Ferreria *et al.*, 2006).

## **2. Partie biologique**

### **2.1. Evaluation de l'effet toxique de l'extrait brut des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf.**

#### **2.1.1. Observations cliniques et de survie**

Les signes cliniques et de mortalité apparus chez les souris de chaque groupe ont été suivis continuellement pendant deux heures après l'administration orale de l'EBr. Cette observation a été étendue le long de la durée d'étude de la toxicité aiguë (14 jours), pour déceler les effets retardés de l'EBr. Le lot témoin (0g/kg), contenant les souris gavées par l'eau distillée, n'a montré aucun signe de toxicité immédiat ou de mortalité. Cependant, la prise des différentes doses de l'EBr des grains de *Pistacia atlantica* Desf., par voie orale, a provoquée des changements plus ou moins graves dans l'activité physique et le comportement des souris qui peuvent aller jusqu'à la mort. Le **tableau V** résume l'ensemble des troubles enregistrés au cours de cette expérience.

**Tableau V.** Symptômes observés de toxicité aiguë des extraits *Pistacia atlantica* Desf. basant sur l'ordre de gravité.

<b>Dose mg/kg</b>	<b>Sex</b>	<b>Souris morts</b>	<b>Symptômes de toxicité</b>	<b>Temps</b>
<b>0</b>	Male	0/4	Normal	-
	Femelle	0/4		
<b>3000</b>	Male	0/4	Hypoactivité, isolement, anorexie	30 min
	Femelle	0/4		
<b>6000</b>	Male	2/4	Somnolence, hypoactivité, isolement, redressement des poils, bradycardie, respiration laborieuse, des tremblements légers du corps et dyspnée.	48 h
	Femelle	0/4	Hypoactivité, isolement, redressement des poils, somnolence, anorexie et respiration laborieuse.	
<b>9000</b>	Male	1/4	Somnolence, hypoactivité, isolement, redressement des poils, bradycardie, des spasmes musculaires cloniques, des convulsions, inconscience, perte d'équilibre, les animaux entre par la suite dans un état narcotique avec des périodes d'excitation occasionnelles conduisant à la fin à la mort.	1h à 48h
	Femelle	2/4		
<b>12000</b>	Male	2/4	Somnolence, hypoactivité, isolement, redressement des poils, bradycardie, respiration laborieuse, des spasmes musculaires cloniques, des convulsions, inconscience, perte d'équilibre, les animaux entre par la suite dans un état narcotique avec des périodes d'excitation occasionnelles conduisant à la fin à la mort.	3h à 96h
	Femelle	3/4		

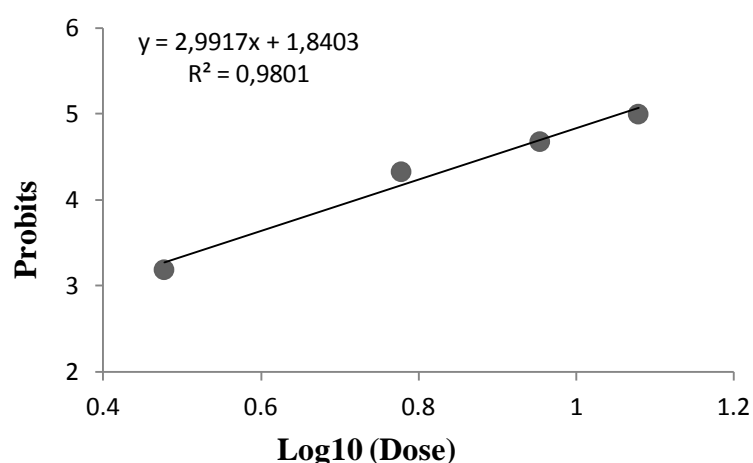
### 2.1.2. Détermination de la DL<sub>50</sub>

Dans le but de déterminer la DL<sub>50</sub> de l'EBr des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf., quatre doses ont été choisies. Le taux de mortalité observé au cours de ces expériences (exprimé en pourcentage) est reporté dans le **tableau VI**. La méthode utilisée pour la détermination de la DL<sub>50</sub> de l'EBr est la méthode de Miller et Trainer (1944) (méthode graphique), cette méthode consiste à convertir les pourcentages des animaux morts dans chaque lot en unités probits.

**Tableau VI.** La conversion en unités probits du pourcentage de mortalité et la correction des pourcentages.

Lot	Dose (g/kg)	Log dose	Nombre des morts	% demortalité	% corrigées	Probits
1	3	0.48	0	0	3.125	3.18
2	6	0.78	2	25	25	4.33
3	9	0.95	3	37.5	37.5	4.68
4	12	1.08	4	50	50	5

La courbe qui donne la mortalité (exprimés en unités probits) en fonction du logarithme de la dose administrée (exprimés en g/kg du poids corporel) a été tracée, et la détermination de la DL<sub>50</sub> est effectuée en utilisant l'équation de la droite de régression (**Figure 18**) : elle représente l'abscisse du point correspondant à 5 unités probits (50% de mortalité).



**Figure 18.** Courbe exprimant le taux de mortalité dans chaque lot (unités probits) en fonction du logarithme de la dose (g/kg).

Les animaux meurent généralement par arrêt respiratoire associé à des convulsions, alors que la majorité des animaux survivants recouvrent une apparence normale jusqu'aux 14<sup>ème</sup> jours. Pour cela, on n'a pas pu observer pour les animaux traités des signes évidents de toxicité aiguë, ceci suggère que la DL50 a été estimée à  $11.380 \pm 4.825$  g/kg à partir des mortalités. Toutefois, vu l'échelle de classification de toxicité selon Hodge et Sterner (Ulanova, 1975 ; Frank, 1992), *Pistacia atlantica* est presque non toxique et son EBr présente une bonne marge de sûreté.

## **2.2. Évaluation de l'effet antidiabétique de l'extrait brut de *Pistacia atlantica* Desf.**

Les rats sont rendus diabétiques à l'aide de la STZ, un antibiotique isolé à partir de *Streptomyces achromogenes* (Vavra *et al.*, 1959). Il s'agit d'une glucosamine-nitrosourée possédant une forte activité anti-néoplasique. La STZ est un analogue du glucose pour le récepteur GLUT2 qui est abondamment exprimé dans les cellules  $\beta$  pancréatiques des rongeurs. Elle pénètre ainsi spécifiquement dans les cellules  $\beta$  où son pouvoir alkylant induit de nombreux dommages. Elle est ainsi utilisée dans le traitement des insulinomes (Brentjens et Saltz, 2001).

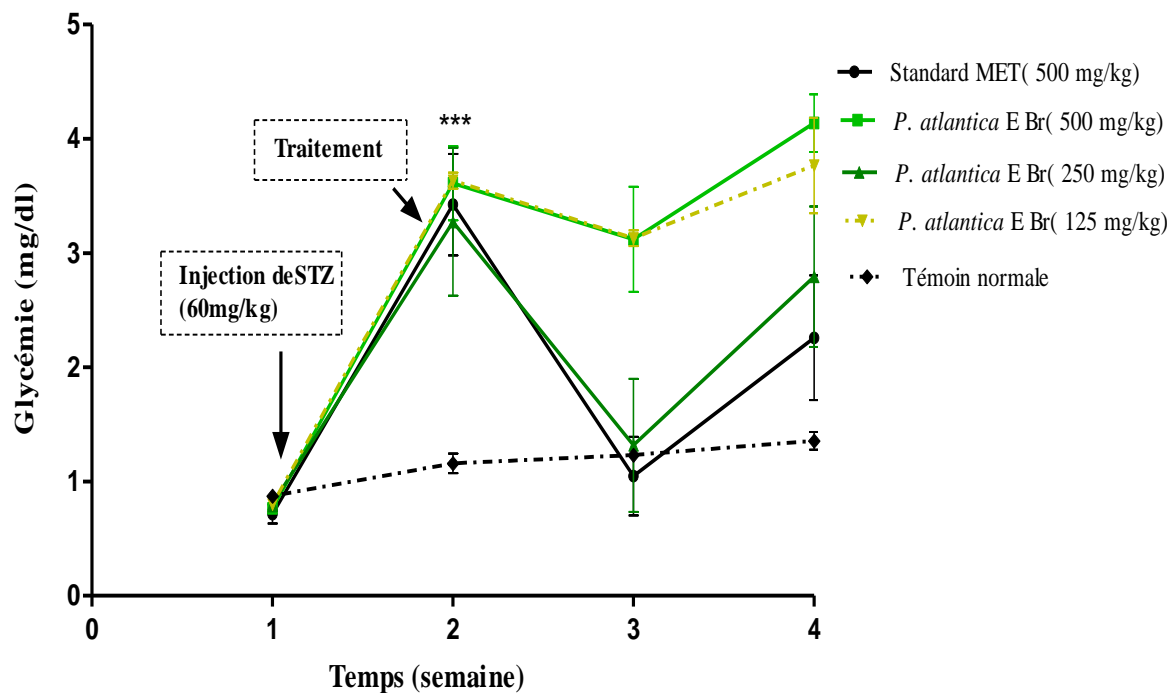
L'injection d'une forte et unique dose de STZ est suffisante pour induire une destruction des cellules  $\beta$  et donc un diabète insulino-dépendant, résultant d'effets toxiques directs associés à une formation accrue des radicaux libres (Bedoya *et al.*, 1996), et à une fragmentation de l'ADN conduisant à l'activation de poly ADP-ribose synthétase avec déplétion du taux du  $\text{NAD}^+$  cellulaire (Yamamoto *et al.*, 1988). D'après ces données, on peut dire qu'on obtient un diabète associé au stress oxydant qui nous servira par la suite à l'étude de l'effet antioxydant des biomolécules et ses conséquences contre les complications diabétiques méditées par les radicaux libres.

Après l'installation du diabète, le traitement des différents lots a été commencée selon le protocole précédemment décrit. Durant les premiers jours du traitement, un état de polyurie a été noté chez tous les rats diabétiques par rapport aux rats normaux avec une polydipsie et une polyphagie. Ces signes, observés chez l'animal, confirment l'installation du diabète sucré. Les variations de la glycémie, du poids et les paramètres biochimiques sériques des rats des différents lots sont notées dès la première semaine, alors que les paramètres tissulaires sont analysés après le sacrifice des animaux.



### 2.2.1. Variation de la glycémie pendant quatre semaines

Une glycémie située entre 2,5 mg/dl et 5 mg/dl était notée. La glycémie des rats des cinq lots a été suivie hebdomadairement tout au long de l'expérimentation (4 semaines) et. Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 19**. Le traitement des rats diabétiques a été initié à partir du premier jour après installation du diabète par gavage intra-gastrique journalier à dose de 500 mg/kg de métformine, et de 500 mg/kg, 250 mg, et de 125 mg de l'EBr.



**Figure 19.** Variation de la glycémie (mg/dl) des cinq lots en fonction du temps (semaines). Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SEM (n=5)(p < 0.001).

Après l'analyse de ces résultats, nous constatons que la glycémie des rats témoins n'a pas subi de variation significative (p < 0.001) au cours de l'expérimentation. Tandis que l'injection intrapéritonéale de STZ aux rats des lots diabétiques (diabétique traités par métformine, l'EBr 500 mg/kg, l'EBr 250 mg/kg et par l'EBr 125 mg/kg) a conduit à une augmentation significative (p < 0.001) de leurs glycémies. Cette augmentation a atteint respectivement 2.71, 2.84, 2.46, et 2.83 mg/dl.

Dès la deuxième semaine (début de traitement), une forte baisse de la glycémie était observée une heure après le gavage des rats diabétiques traités par MET 500 mg/kg et par l'EBr 250 mg/kg (0.33 mg/dl et 0.51 mg/dl, respectivement). D'autre part, on observe une

légère diminution de la glycémie des rats diabétiques traités par l'EBr (500 mg/kg et 125 mg/kg) de l'ordre de 2.35 mg/dl et 2.33 mg/dl, respectivement). A partir de la troisième semaine, une re-augmentation de la glycémie de tous les rats diabétiques à été observée. Les valeurs de la glycémie de 1.54 mg/dl, 1.98 mg/dl, 2.96 mg/dl et 3.37 mg/dl ont enregistré pour les rats diabétiques traités par MET 500 mg/kg, EBr 250 mg/kg, EBr 125 mg/kg et EBr 500mg/kg, respectivement.

Le traitement des rats par EBr (500 mg/kg et 125 mg/kg) pendant quatre semaines n'a aucun effet significatif sur la glycémie par contre les rats diabétiques traités par l'EBr de 250 mg/kg réduise la glycémie de façon positive (significative) parraport à celle des rats diabétiques traités par la métformine.

Plusieurs questions se posent. Est ce que la plante est inefficace? Simultanément, les réponses seront des hypothèses à confirmer ou à infirmer. L'explication qui vient dès le début est que la plante semble inefficace ou que son effet n'est pas considérable. Si elle en était, quelle était la cause du résultat obtenu à la 3<sup>ème</sup> semaine ?

Déchiffrant, attentivement, l'évolution de la glycémie des rats diabétiques traités par l'EBr à dose de 250 mg/kg. La glycémie chute à 1.31 mg/dl après la première semaine de traitement et ensuite on observe une ré-augmentation. Etudiant la relation entre la dose de la STZ et son effet diabétogène, Junod ses collaborateurs (1969) ont rapporté que la STZ administrée par voie intrapéritonéale provoque une hyperglycémie. Une semaine après, la glycémie chute pour qu'elle se ré-stabilise ensuite jusqu'à la 4<sup>ème</sup> semaine. Ceci confirme que le diabète induit par la STZ passe par des étapes.

En rapprochant les idées, l'hypothèse de l'inefficacité de l'extrait sera complètement éliminée. Ces résultats sont en accord avec ceux apportés par Hamdan et Afifi (2004) où ils ont constaté que l'extrait aqueux de *Pistacia atlantica* exerce un effet inhibiteur sur l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase (deux enzymes de la classe des hydrolases responsables de la digestion des sucres) d'ordre de IC 50 = 46.98 mg/ml .

La seule explication est que les deux doses de 500 mg/kg et 125 mg/kg sont, probablement, insuffisantes et loin d'inhiber les complications du diabète résultantes de l'injection de 60 mg/kg de STZ par voie intrapéritonéale. Il est peut être constatable que le traitement préalable des animaux améliore leur réponse à l'extrait. Cette conclusion trouve son utilité dans le travail de Medjdoub (2006) où il a visualisé l'efficacité de l'extrait éthanolique de *Zygophyllum geslini* Coss sur des rats diabétiques préalablement traités pendant cinq semaines.

Notre étude reste préliminaire et peu indicatif sur le mécanisme d'action exacte. Néanmoins, il est possible de proposer l'hypothèse suivante: nous avons cherché d'éventuelle efficacité antiradicalaire à partir de l'EBr *in vitro*. Ceci pourrait avoir une relation avec l'action de l'extrait *in vivo*. Si on prend en considération le dommage induit par la STZ, cet axiome sera, donc, accepté. Plusieurs travaux réalisés en vue de mieux comprendre le mécanisme pathogène de la STZ, ont montré que ce produit diminue la défense antioxydant de la cellule, particulièrement une inhibition de l'activité superoxide dismutase (Rajasekaran *et al.*, 2005).

### **2.2.2.Évolution du poids corporel des animaux pendant quatre semaines**

La variation du poids des rats constitue un paramètre très important. Le suivi régulier des animaux durant quatre semaines nous a amenés à obtenir les valeurs relatives à la **figure 20**. Distinctement, une différence entre la croissance des rats diabétiques traités par métformine et celle des rats normaux et traitées par l'EBr a été notée, dont il y avait une augmentation significative du poids corporel des rats diabétiques traitées par métformine, alors que cette évolution est prévenue chez les rats témoins et diabétiques traités avec l'EBr où on note une augmentation modérée du poids à partir de la première semaine du traitement jusqu'à la fin de l'expérience.

D'après Junod et ses collègues (1969) et Zafar et ses collaborateurs (2010), l'injection de la STZ est à l'origine d'une chute de poids, ce n'est pas le cas dans la présente étude, les rats rendus diabétique ne présentent pas une chute de poids. Ceci est dû, mentionné précédemment. Les trois groupes traités par l'EBr et le groupe témoins ont la même allure de croissance; statistiquement pas de différence. Une conclusion à tirer: l'extrait étudié n'était pas toxique et en même temps avait un effet bénéfique. Et que le mécanisme d'action de l'EBr contre le diabète peut être semblable à celui de l'insuline (le cas des rats normaux) c'est-à-dire par régulation de l'homéostasie du glucose ou par action extra-pancréatique en augmentant son catabolisme par les tissus.

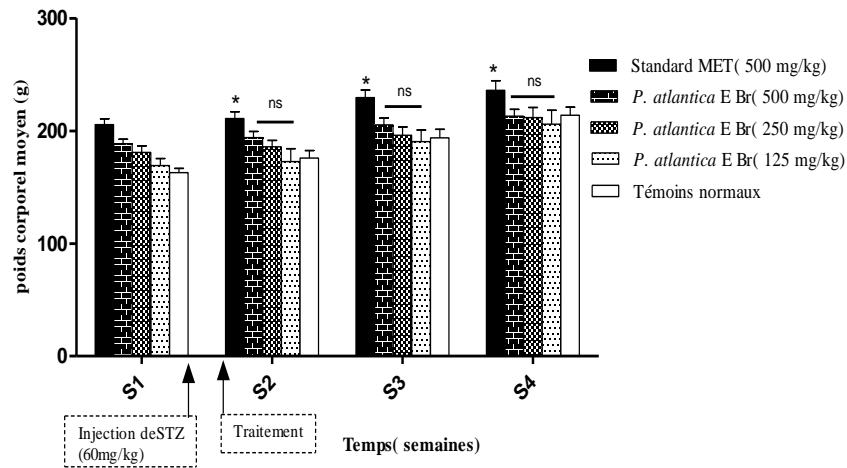
### **2.2.3. Evolution des paramètres lipidiques**

Ce bilan est devenu d'une importance cruciale via son utilisation dans le traitement de plusieurs maladies cardiovasculaires et le contrôle des patients diabétiques (Akuyam *et al.*, 2007). Plusieurs études ont rapporté que les complications cardiovasculaires associées au diabète sont dues aux perturbations du métabolisme lipidique (Gupta *et al.*, 2008 ).

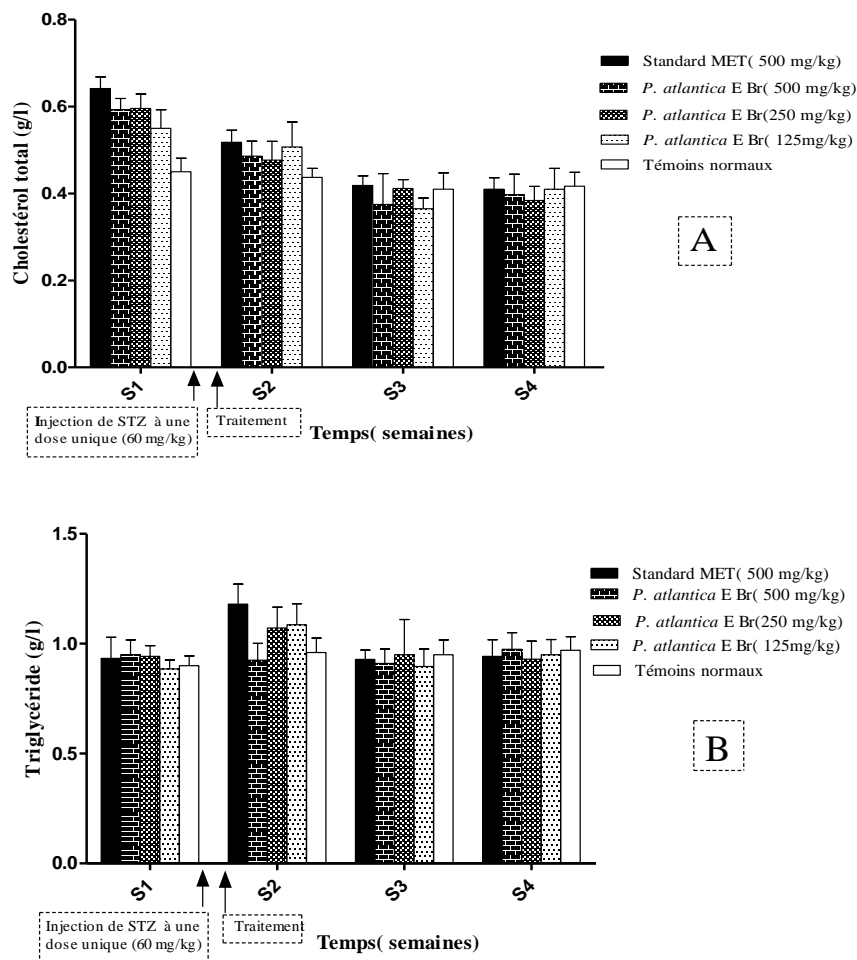
Les résultats accordés à la **figure 21** (A) et (B) montrent une diminution de cholestérol après la première semaine jusqu'à la dernière semaine, elle se stabilise chez les quatre groupes particulièrement pour les rats diabétiques traités à dose de 250mg/kg où la diminution a eu une signification par rapport au lot témoins normaux. La diminution du cholestérol peut résulter de la modification du métabolisme des lipoprotéines en augmentant l'activité de la Lécithin Cholestérol Acyl Transférase (Boumaza, 2009) ou en augmentant de l'absorption des LDL par augmentation de leurs récepteurs (Sloter *et al.*,1980). En revanche Kritchevesky (1978) pense que la diminution des lipides plasmatiques est la conséquence de la diminution de l'absorption intestinale du cholestérol qui se lie avec les acides biliaires et l'augmentation de la sécrétion biliaire. Le mécanisme par lequel *Pistacia atlantica* exerce son effet hypolipidémique n'est pas clair mais il peut impliquer l'action de l'insuline pour la quelle elle a montré un effet semblable.

Paradoxalement, on a remarqué une légère élévation du taux des triglycérides chez les rats traités par MET à 500mg/kg, l'EBr à 250, l'EBr à 125 mg/kg, après l'installation du diabète. Dès la deuxième semaine (début de traitement), on observe qu'il y'a une diminution de taux des triglycérides jusqu'à la fin du traitement où le taux devenue normale. Pour les diabétiques traités par l'EBr à 500 mg/kg, aucune augmentation n'a été notée par rapport aux témoins normaux. La faible évolution des triglycérides par l'EBr peut être due à la diminution de la synthèse des acides gras ou l'augmentation du catabolisme des LDL, (Boumaza ,2009).

En effet, l'EBr conduit à une amélioration du profil lipidique semblable à celle observée chez les rats diabétiques traités par métformine et les rats témoins. L'existence des flavonoïdes dans *Pistacia atlantica* semble être un facteur contribuant à l'amélioration du taux lipidique chez les rats diabétiques. Cette suggestion est supportée par Palsamy et ses collaborateurs (2008) qui ont montré le même effet chez des rats diabétiques traités par un flavonoïde qui est le resveratrole. De plus la baisse du taux des lipides pendant le diabète diminue par conséquence le risque des complications cardiovasculaire (Eddouks *et al.*, 2007). Donc on peut conclure que *Pistacia atlantica* prévient aussi ces complications.



**Figure 20.** Variation du poids corporel moyen (g) des cinq lots des rats (n=5) en fonction du temps, Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SEM (n=5) \* :  $p < 0.05$ .



**Figure 21.** Evolution des paramètres sériques: Cholestérolémie (A) ; Triglycéridémie (B) durant les quatre semaines, chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SEM (n=5).

## Conclusion et perspectives

Il existe une évidence considérable à partir de plusieurs études, c'est qu'une hyperglycémie continue semble augmenter non seulement les perturbations métaboliques, mais aussi la production des radicaux libres. En absence d'une réponse compensatoire appropriée par les antioxydants endogènes cellulaires, le système devient plus faible, et par conséquent l'apparition du stress oxydant chez les diabétiques. Le stress oxydant résultant de l'hyperglycémie est ultimement responsable de l'occurrence des changements de l'effet d'insuline et le développement des complications diabétiques comme la néphropathie et les maladies cardiovasculaires. L'une des solutions consiste donc à incorporer des composés hypoglycémiant et à renforcer le système antioxydant par des composés antioxydants venant des plantes.

La présente étude est réalisée pour évaluer l'effet de *Pistacia atlantica* Desf., plante utilisée pour traiter, non seulement l'hyperglycémie mais aussi le stress oxydant qui résulte de cet état pathologique.

A la lumière des résultats figurés, l'EBr des feuilles de *Pistacia atlantica* riches en substances actives notamment les flavonoïdes est doué d'une activité antioxydante intéressante et une activité antidiabétique remarquable (à certain dose). Par ailleurs, ces résultats ont montré que la DL50 déterminée graphiquement a permis de classer les feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. dans la catégorie des substances non toxiques selon l'échelle de Hodge et Sterner ce qui justifie son utilisation empirique et constitue un réel avantage à sa vulgarisation comme médicament non seulement contre le diabète et les perturbations y associées, mais aussi contre le stress oxydant résultant avec une probabilité émergente concernant la prévention des complications cardiovasculaires et rénales.

Ces résultats reste préliminaire ce qui nécessite d'autres études approfondies pour mieux se concentrer sur les effets révélés. Des études à l'échelle moléculaire sont nécessaires pour déterminer, d'une part les composés des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. qui peuvent être responsables de tels effets et d'autre part, le mécanisme absolu par lequel ces composées accomplissent leurs rôles.

## Références

- Abdille M.H., Singh R.P., Jayaprakasha G.K. et Jena B.S., (2005). Antioxidant activity of the extracts from *dillenia indica* fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 90: 891-896.
- Abuja P.M. et Albertini R. (2001). Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta* 306:1-17.
- Adams M., Plitzko I., Kaiser M., Brun R. et Hamburger M. (2009). HPLC-profiling for antiplasmodial compounds-3-Methoxycarpachromene from *Pistacia atlantica*. *Phytochemistry Letters* 2 :159-162.
- Ait Said S. (2011). Stratégie adaptative de deux espèces du genre *Pistacia* (*P.lentiscus* L .et *P. atlantica* Desf.) aux condition d'altitude, de salinité et d'aridité :Approche morpho-anatomiques, photochimiques et ecophytosociologiques. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou. Pp. 32-38.
- Akuyam S.A., Isah H.S. et Ogala W.N. (2007). Evaluation of serum lipid profile of under five Nigerian children. *Annals of African medicine* 6:119-23.
- Akuyam S.A., Isah H.S. et Ogala W.N. (2007). Evaluation of serum lipid profile of under-five Nigerian Children. *Annals of African Medicine* 6:119-123.
- Alain V. et Alain B. (2005). Toxicologie. 2<sup>ème</sup> édition. Paris :Lavoisier TEC et DOC, pp. 1-13.
- Al-Saghir M.G., Porter D.M. et Nilsen E.T. (2006). Leaf anatomy of *Pistacia* species (Anacardiaceae). *Journal of Biological Sciences* 6:242-244.
- Alyafi J. (1979).Approche systématique et écologie du genre *Pistacia* L. dans la région méditerranéenne.thèse de doctorat de 3<sup>ème</sup> cycle. Faculté des Sciences et Techniques St Jérôme, Marseille. P. 58.
- Amarowicz R., Estrella I., Hernández T., Robredo S., Troszynska A., Kosinska A. et Pegg R.B. (2010). Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity, and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 121: 705-711.
- Amič D., Davidovic´-Amic´ D., Beslo D. et Trinajstic´ N. (2003). Structure radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemica Acta* 76:55-61.
- antioxidant activity and phenolic profile. *Journal of Agricultural and Food chemistry* 89: 27-36.
- Aslan A., Güllüce M., Sökmen M., Adigüzel A., Sahin F. et Özkan H. (2006). Antioxidant and antimicrobial properties of lichens *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon miniatum*, *Everinia divaricata*, *Everinia prunastri* and *Neofuscella pulla*. *Pharmaceutical Biology* 44:247-252.
- Atoui A.K., Mansouri A., Boskou G. et Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: Their
- Baba Aissa F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'orient et d'occident). Rouiba (Algérie) : EDAS-Librairie, p. 45.
- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Vasseur J., Gazin JC., Pinkas M., Luyckx M. et Gazin M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn

- fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel Forschung - Drug Research* 46: 1086-1094.
- Barquissau V. et Morio B. (2011). Physiopathologie de l'insulinorésistance dans le muscle squelettique et implication des fonctions mitochondriales. *Nutrition clinique et métabolisme* 25: 114–130.
- Barrero A.F., Herrador M.M., Arteaga J.F., Akssira M., Mellouki F., Belgarrabe A. et Blázquez M.A. (2005). Chemical composition of the essential oils of *Pistacia atlantica* Desf. *Journal of Essential Oil Research* 17: 52–54.
- Barrou B., Bitker M.O., Grimaldi A., Debré P. et Richard F. (2004). Transplantation pancréatique: indications, résultats et perspectives. *Encyclopédie médico-chirurgicale-Endocrinologie* 1:43-53.
- Bedoya F.J., Solano F. et Luas M. (1996). N-monomethyl argenin and nicotinamid prevent STZ induced double strand DNA break formation in pancreatic rats islets. *Experientia* 4:52-344.
- Belhadj S., Derridj A., Aigouy T., Gers C. et Gauquelin T. (2007). Comparative morphology of leaf epidermis in eight populations of Atlas pistachio (*Pistacia atlantica* Desf., Anacardiaceae). *Microscopy Research & Technique* 70:837-846.
- Belhadj S., Derridj A., Auda Y., Gers C. et Gauquelin T. (2008). Analyse de la variabilité morphologique chez huit populations spontanées de *Pistacia atlantica* en Algérie. *Botany* 86 : 520-532.
- Belyagoubi N. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaid, Tlemcen. P. 83.
- Benhammou N., Atik Bekkara F. et Panovska T.K. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2: 22-28.
- Benhassaini H., Bendeddouche F.Z., Mehdadi Z. et Romane A. (2008). GC/MS analysis of the essential oil from the oleoresin of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds* 3: 929-932.
- Benhssaini H. et Belkhodja M. (2004). Le pistachier de l'Atlas en Algérie entre la survie et disparition. *La feuille et l'aiguille* 54: 1-2.
- Berrabah D. (2013). La complexité des réseaux trophiques dans la réserve naturelle de Mergueb. Mémoire de Magister. Ecole National Supérieur d'Agronomie, Alger. P. 146.
- Birt, D.F., Hendrich, S. et Wang, W. (2001). Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacology & therapeutics* 90: 157-177.
- Bondet V., Williams W.B. et Berset C. (1997). Kinetic and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 30:609-615.
- Bonnefont-Rousselot D., Beaudoux J.L., Théron P., Peynet J., Legrand A. et Delattre J. (2004). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée, *Annales Pharmaceutiques Françaises* 62:147-157.
- Boulos L. (2000). Flora of Egypt. Geraniaceae-Boraginaceae. *AL hadara Pyblisching* 1: 275-277.



- Boumaza A. (2009). Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum* coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Mémoire de Magister en Biologie cellulaire et moléculaire. Université Mentouri, Constantine. Pp. 30-32.
- Boussaehel S. (2011). Étude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif. Mémoire de Magister en Biologie et Physiologie végétale. Université Ferhat Abbas, Sétif. P. 48.
- Brentjens R. et Saltz L. (2001). Islet cell tumors of the pancreas: The medical oncologist's perspective. *Surgical Clinics of North America* 81:527-42.
- Bruneton J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> édition. Paris : Lavoisier TEC et DOC, pp. 268-277.
- Burits M. et Bucar F. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research* 14: 323-328.
- Cai H. et Harrison D.G. (2008). Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: The role of oxidant stress. *Circulation Research* 87: 840-844.
- Carrée P. (1953). Précis de technologie et de chimie industrielle. Paris : Ballière J.B. et Fils, p. 475.
- Chucla M.T., Lamela M., Gato A. et Cadavid I. (1987). *Centourea corcubionensis*. A study of its hypoglycaemic activity in rats. *Planta Medica* 107-109.
- Dapkevicius A., Venskutonis R., Van-Beek T.A. et Linssen P.H. (1998). Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedure from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of the science of food and agriculture* 77:140-146.
- Delazar A., Reid R.G. et Sarker S.D. (2004). GC-MS analysis of the essential oil from the oleoresin of *Pistacia atlantica* var. *Mutica*. *Chemistry of Natural Compounds* 40: 24-27.
- Devasagayam T.P., Tilak J.C., Bloor K.K., Sane K. S., Ghaskadbi S.S. et Lele R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal of the Association of Physicians of India* 52: 794-804.
- Dey lucey M.D., Anoja S., Attele D.D.S. et Chun-Su Yuan M.D. (2002). Alternative therapies for type 2 diabetes. *Alternative medicine Review* 7: 45-58.
- Dimo T., Rakotonirina S.V., Tan P.V., Azay J., Dongo E., Kamtchouing P. et Cros G. (2007). Effect of *Sclerocarya birrea* (Anacardiaceae) stem bark methylene chloride/methanol extract on streptozotocin-diabetic rats. *Journal of Ethno-pharmacology* 110: 434-438.
- Dirckx J.H. (1998). The honeyed siphon: diabetes mellitus past, present and future. *Perspectives Fall* 35-41.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. et Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 97: 654-660.
- Eddouks M., Oualridi M.L., Farid O Moufid A., khalidi A. et Lem hadri A. (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète on Maroc. *phytothérapie* 5:194-203.
- El-Oqlah A.A. (1995). Biosystematic research on the genus *Pistacia* in Jordan. In: Padulosi T.S., Caruso and Barone. Taxonomy, distribution, conservation and uses of *Pistacia* genetic resources. Proceedings of the IPGRI Workshop, Palermo, Italy. Pp. 12-19.

- Favier A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* 269-270:108-115.
- Ferreria A., Proenca C., Serralheiro M.L.M. et Araujo M.E.M. (2006). The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plant from Portugal. *Journal of ethnopharmacology* 108: 31-37.
- Frank C.L.U. (1992). Toxicologie, Données générales procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. Paris: Masson, pp. 73- 202.
- Frankel E. N., Huang S.W., Kanner J. et German J.B. (1994). Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils vs emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42:1054-1059.
- Frankel E.N. et Meyer A.S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 1925-1940.
- Freychet P., Corvol P. et Desbuquois B. (1978). Aspects fondamentaux et physio-pathologiques. Paris : Edition Hermann, p. 358.
- Georgé S., Brat P., Alter P. et Amiot J.M. (2005). Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 1370-1373.
- Gourine N., Yousfi M., Bombarda I., Nadjemi B., Stocker P. et Gaydou E.M. (2010). Antioxidant activities and chemical composition of essential oil of *Pistacia atlantica* from Algeria. *Industrial Crops and Products* 31: 203-208.
- Grundwag M. (1976). Embryology and fruit development in four species of *Pistacia* L. (Anacardiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 73:355-370.
- Guessan J.D., Bidié1 A.P., Lenta B.N., Weniger B., André P. and Guédé-Guina F. (2007). *In vitro* assays for bioactivity-guided isolation of antisalmonella and antioxidant compounds in *Thonningia sanguinea* flowers. *African Journal of Biotechnology* 6: 1685-1689.
- Guillausseau P.J., Meas T., Virally M., Laloi-Michelin M., Ambonville C. et Kevorkian J.P. (2008). Insulinosécrétion et diabète de type 2. *Médecine des maladies Métaboliques – Supplément L*, s21-s24.
- Gupta R.K., Kesari A.N., Diwakar S., Tyagi A., Tandon V., Chandra R. et Watal G. (2008). *In vivo* evaluation of ant-oxidant and anti-lipidimic potential of *Annona scanosa* aqueous extract in type 2 diabetic models. *Journal of ethnopharmacolog* 118:21-25.
- Halliwell B. (2006). Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide. *Trends in biochemical sciences* 31: 509-515.
- Halliwell B. (2009). The wanderings of a free radical. *Free radial biology & Medicine* 46: 531-542.
- Hamdan I.I. et Afifi F.U. (2004). Studies on the *in vitro* and *in vivo* hypoglycemic activities of some medicinal plant used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 93:117-121.
- Hein K.E., Tagliaferro A.R. et Bobilya D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13: 572-584.

- Javanovic S.V., Steenken S., Tosic M., Marjanovic B. et Simic M.J. (1994). Flavonoids as antioxidants. *Journal of the American Chemical Society* 116: 4846-4851.
- Junod A., Lambert A.E., Stauffacher W. et Renold A.E. (1969). Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *Journal of Clinical Investigation* 48:2129-2139.
- Kaabache M. (2003). Étude sur la réhabilitation de la flore locale au niveau de la réserve El Mergub Wilaya de Msila. Rapport de projet ALG/00/G35/A/1G/99. Direction générale des forêts. DGF, Alger. P. 45.
- Kalam S., Singh R., Mani A., Patel J., Naem K.F. et Pandey A. (2012). Antioxidants: Elixir of life. *International Multidisciplinary Research Journal* 1:18-34.
- Kambouche N., Merah B., Derdour A., Bellahouel S., Benziane M.M. et Younos C. (2009). Etude de l'effet antidiabétique des saponines extraites d'*Anabasis articulata* (Forssk) Moq, plante utilisée traditionnellement en Algérie. *Phytothérapie* 7:197-201.
- Kebieche M. (2009). Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens* L. : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. Thèse de doctorat. Université Mentouri, Constantine. 35-41.
- Kim E., Sohn S., Lee M., Jung J., Kineman R.D. et Park S. (2006). Differential responses of the growth hormone axis in two rat models of streptozotocin-induced insulinopenic diabetes. *Journal of Endocrinology* 188: 263-70.
- Kouri G., Tsimogiannis D., Bardouki H. et Oreopoulou V. (2007). Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. *Innovative Food Science and Emerging* 8: 155-162.
- Kritchevsky D. (1978). Fiber, hypercholesteremia and atherosclerosis lipids. *American Journal of Clinical Nutrition* 315:65-74.
- Lakić N.S., Mimica-Dukić N.M., Isak J.M. et Božin B.N. (2010). Antioxidant properties of *Galium verum* L. (Rubiaceae) extracts. *Central European Journal of Biology* 5:331-337.
- Leblanc G.A. (2010). Acute toxicity. In: A Text book of Modern Toxicology. 4<sup>ème</sup> édition Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons. Inc, pp. 125-236.
- Lefèbvre P. (2008). La pandémie de diabète : un fléau cardiovasculaire et une menace pour les systèmes de santé et l'économie mondiale. *Médecine des maladies Métaboliques* 2:169-179.
- Lev N., Gilgun-Sherki Y., Offen D. et Melamed E. (2007). The Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis: Current State. In *Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders*. 1<sup>ère</sup> édition. Amsterdam: Elsevier BV., pp. 283-295.
- Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F. et Jiang Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 102: 771-776.
- Liyana-Pathirana C.M. et Shahidi F. (2006). Antioxydant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 477-485.

- Ljubuncic P., Hui Song A., Uri Cogan B., Hassan Azaizeh C. et Arieh B. (2005). The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. *Journal of Ethnopharmacology* 100:198–204.
- Malardé L. (2012). Activité physique et produits dérivés du soja : Intérêts dans la prise en charge du stress oxydant associé au diabète de type 1. Thèse de doctorat. Université Rennes 2. Pp. 49-52.
- Markham K.R. (1982). Techniques of flavonoid identification (Chapter 1 and 2). London: Academic Press, pp. 1-113.
- Marles R.J. et Farnsworth N.R. (1994). Plants as sources of antidiabetic agents. *Economic and Medicinal Plant Research* 6:149-187.
- Masiello P., De Paoli A. A. et Bergamini E. (1979). Influence of age on the sensitivity of the rat to streptozotocin. *Hormone Research* 11:262-74.
- Matés J.M. (1999). Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinical Biochemistry* 38: 595-603.
- Matkovics B., Kotorman M., Varga I. S., Hai D. Q. et Varga C. (1997). Oxidative stress in experimental diabetes induced by streptozotocin. *Acta Physiologica Hungarica* 85: 29-38.
- Mecherara-Idjeri S., Hassani A., Castola V. et Casanova J. (2008). Composition of leaf, fruit and gall essential oils of Algerian *Pistacia atlantica* Desf. *Journal of Essential Oil Research* 20: 215-219.
- Medjoub H. (2006). Etude Phytochimique et Activité Biologique de *Zygophyllum geslini* Coss. Mémoire de Magister. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Pp. 38-41
- Mensor L.L., Menezes F.S., Leitão G.G., Reine A.S., Santos T.C., Coube C.S. et Leitão S.G., (2001). Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant isoactivity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research* 15: 127-130.
- Meziti A. (2009). Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa*. L'étude *in vitro* et *in vivo*. Mémoire de Magister en Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas, Sétif. Pp. 60-62.
- Miller L.C. et Tainter M.L. (1944). Estimation of ED50 and its error by means of logarithmic. Probit paper. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 57:261-4.
- Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26: 211-219.
- Monjauze A. (1980). Connaissance du bétoum *Pistacia atlantica* Desf. Biologie et forêt. *Revue Forestière Française* 4 : 357-363.
- Niki E. (2010). Assessment of Antioxidant Capacity *in vitro* and *in vivo*. *Free Radical Biology and Medicine* 49: 503-515.
- Ohkuwa T., Sato Y. et Naoi M. (1995). Hydroxyl radical formation in diabetic rats induced by streptozotocin. *Life Sciences* 56: 1789-98.
- Ozenda P. (1983). Flore du Sahara, 2<sup>ème</sup> édition. Paris : Centre National de la Recherche Scientifique, 622 p.
- Palsamy P. and Subramanian S. (2008). Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide induced experimental diabetic rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 62:598-605.

- Peksel A., Arisan I., et Yanardag R. (2013). Radical Scavenging and Anti-acetylcholin-esterase Activities of Aqueous Extract of Wild Pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.) Leaves. *Food Science and Biotechnology* 22: 515-522.
- Quézel P. et Médail F. (2003). Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen. Collection Environnement. Paris: Elsevier, 573 p.
- Quezel P. et Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris : Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, pp. 475–476.
- Rajasekaran S., Sivagnanam K. et Subramanian S. (2005). Antioxidant effect of *Aloe vera* gel extract in streptozotocin induced diabetes in rats. *Pharmacol Report* 57:90-96.
- Ramade F. (1979). Ecotoxicologie. Paris: Edition Masson, p. 5.
- Randhawa M.A. (2009). Calculation of LD50 values from the method of Miller and Tainter (1944). *Journal of Ayub Medical College Abbottabad* 21:184-185.
- Rigalleau V., Lang J. et Gin H. (2007). Étiologie et physiopathologie du diabète de type 2. *Endocrinologie-Nutrition* 10:10-366.
- Rodier M. (2001). Le diabète de type 1. *Nuclear Medicine* 25: 95-101.
- Sanchez de Madina F., Gamez M.J., Jiménez I., Jiménez J., Osuna J.I. et Zarzuelo A. (1993). Hypoglycemic activity of juniper "Berries". *Planta Medica* 6:197-200.
- Sedaghat R., Roghani M., Ahmadi M. et Ahmadi F. (2010). Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effect of *Rumex patientia* seed preparation in streptozotocin-diabetic rats. *Pathophysiology* 18:111-115.
- Shani J., Goldschmied A., Joseph B., Ahronson Z. et Sulman F.G. (1974). Hypoglycaemic effect of *Trigonella Joenum- graecum* and *lupinus Termis* (Leguminosae) seeds and their major alkaloids in Alloxan-diabetic and normal rats. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie* 210: 27-37.
- Sies H. et Jones D.P. (2007). Oxidative stress. In Fink G. *Encyclopaedia of stress*. San Diego: Elsevier, p. 45-48.
- Sloter H.R., Pockard C.J., Bichers. et She P. (1980). Effects of cholestyramine on receptor mediated plasma clearance and tissue uptake of human LSC in the rabbit. *Journal of Biological Chemistry* 255:102-103.
- Szkudelski T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research* 50: 537-46.
- Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M. et Polissiou M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 90: 333-340.
- Topçu G., Ay M., Bilici A., Sarikurku C., Ozturk M. et Ulubelen A. (2007). A new flavones from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 103: 816–822.
- Tshikosa M.J. (2005). Acute and chronic toxicity of the flavonoid- containing plant, *Artemisia afra* in rodents. Magister Scientiae in the Department of Pharmacology, University of the Western Cape. Pp. 43-64.

- Ulanova I.P. (1975). Toxicometry and prophylactic toxicology. Institut of industrial hygiene and occupational diseases. Moscow: Union of Soviet Socialist Republics. Pp. 44-55.
- Vavra J.J., Deboer C., Dietz A., Hanka L.J. et Sokolski W.T. (1959). Streptozotocin, a new antibacterial antibiotic. *Antibiotics Annual* 7:5-230.
- Wallace Hayes A. (2008). Principle and methods of toxicology. New York: Edition Taylor & Francis, p. 1134.
- Wang J. et Mazza, G. (2002). Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor  $\alpha$  in LPS/IFN- $\gamma$ -activated RAW 264.7 macrophages. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 50: 4183-4189.
- Werstuck G.H. (2006). Molecular and cellular mechanisms by which diabetes mellitus promotes the development of atherosclerosis. *Biochemistry of atherosclerosis* 1: 284-304.
- Wu D. et Cederbaum A. (2003). Alcohol, Oxidative Stress, and Free Radical Damage. *Alcohol Research and Health* 27: 277-284.
- Yaaqobi A., El Hafid L. et Haloui B. (2009). Etude biologique de *Pistacia atlantica* Desf. de la région orientale du Maroc. *Biomatec Echo* 3: 39-49.
- Yaltrik F. (1967). Anacardiaceae. Contribution to the taxonomy of woody plants in Turkey. *Note from the Royal Botanic Garden Edinburgh* 28:11-12.
- Yamamoto J.K., Spargere., Ho E.W., Andersen P.R., Oconnor T.P., Mandell C.P., Lowenstine L., Munn R. et Pedersen N.C. (1988). The pathogenesis of experimentally induced feline immunodeficiency virus (FIV) infection in cats. *American Journal of Veterinary Research* 49:1246-1258.
- Yousfi M., Djeridane A., Bombarda I., Hamia C., Duhem B. et Gaydou E. M. (2009). Isolation and characterization of a new hispolone derivative from antioxidant Extracts of *Pistacia atlantica*. *Phytotherapy Research* 23: 1237-1242.
- Yousfi M., Nedjemi B., Belal R. et Benbental D. (2005). Étude des acides gras d'huile de fruit de pistachier de l'Atlas algérien. *Electronic Journal of Oncology* 10: 425-427.
- Zafar M. et Naeem-Ul-Hassan Naqvis S. (2010). Effects of STZ-Induced diabetes on the relative weights of kidney, liver and pancreas in albino rats: a comparative study. *International Journal of Morphology* 28:135-142.
- Zhao X., Sun H., Hou A., Zhao Q., Wei T. et Xin W. (2005). Antioxidant properties of two gallotannins isolated from the leaves of *Pistacia*. *Biochimica et Biophysica Acta* 1725: 103-110.
- Zohary M. (1952). A monographical study of the genus *Pistacia*. *Palestine Journal of Botany* 4: 187-228.
- Zohary M. (1987). Flora Palaestina. Platanaceae to Umbelliferae. Second printing. *Israel Academy of Sciences and Humanities* 2: 296-30.

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمختلف المستخلصات، وكذا التأثير السمي والمضاد للسكري للمستخلص الخام (EBr) لأوراق *Pistacia atlantica*. تستعمل هذه النبتة كدواء تقليدي لعلاج مرض السكري في الأردن. تم استخلاص الأوراق للحصول على مختلف المستخلصات : المستخلص المائي (EAq) و المستخلص الخام (EBr) و مستخلص الإيثريدي ايثيليك (EEde) و مستخلص الايثيل استات (EAe) و مستخلص البيتانول (ENb) والمستخلص المائي المتبقي (EAq\*). وقد كشف التحليل الكمي عن وجود كمية معتبرة من الفينولات والفلافونويدات في الأوراق. يحوي المستخلص الخام  $31.83 \pm 340.58$  ميكرو غ مكافئ حمض الغاليك /مغ مستخلص، بينما يحوي مستخلص الايثر دي ايثيليك على الكمية الأكبر من الفينولات والتي قدرت بـ  $47.05 \pm 967.09$  ميكرو غ مكافئ حمض الغاليك /مغ مستخلص. من جهة أخرى، لم يكشف تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات *Pistacia atlantica* عن إزاحة جذر DPPH فقط، بل أيضا عن تثبيط عال ( $p < 0.001$ ) للأكسدة المزدوجة للبيتا كاروتين وحمض اللينوليك مقارنة مع مضادات الأكسدة النموذجية (حمض الغاليك و BHT). بالإضافة إلى ذلك، فقد بينت دراسة السمية الحادة للمستخلص الخام أن هذه النبتة تعتبر غير سامة حيث قدرت الجرعة القاتلة لـ 50% من الحيوانات المخبرية بـ  $11.380$  غ/كغ من وزن الجسم. من ناحية أخرى، أظهر علاج مرض السكري نوع 1 (المحدث تجريبيا للجرذان البيضاء عن طريق الحقن بمادة سترتوزوتوسين (STZ) بتركيز 60 مغ/كغ) لمدة ثلاث أسابيع بالمستخلص الخام بجرعات 500 مغ/كغ و 250 مغ/كغ و 125 مغ/كغ انخفاض ملحوظ في نسبة السكر في الدم (بتركيز 250 مغ/كغ)، مرفقا بالحفاظ على نسبة المؤشر الدهني (الكليستول والجليسيريدات الثلاثية)، مع ارتفاع بسيط ومتواضع في وزن الجرذان وذلك بالمقارنة مع الجرذان المرجعية الطبيعية. بالإضافة إلى انخفاض غير محسوس في نسبة السكر بالدم بتركيز 500 مغ/كغ و 125 مغ/كغ. وفي الأخير يشير مجموع هذه النتائج إلى أن التأثير المعتبر المضاد للأكسدة لأوراق *Pistacia atlantica* والاستعمال المطول كمضاد للسكري قد يشكل مورد طبيعي لمواد جديدة يمكن استخدامها ضد الاجهاد التأكسدي المرتبط بمرض السكري .

الكلمات المفتاحية : *Pistacia atlantica* Desf، مرض السكري، مضادات الأكسدة.

## Résumé

La présente étude vise à évaluer l'activité antioxydante des différents extraits, l'effet toxique et antidiabétique de l'extrait brut (EBr) des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf, plante utilisée comme remèdes traditionnels pour le traitement du diabète en Jordanie. Les feuilles ont été soumises à une extraction et fractionnement pour avoir les différents extraits : aqueux (EAq), brut (EBr), éther diéthylique (EEde), acétate d'éthyle (EAe), le n-butanol (ENb) et de fraction résiduel aqueuse (EAq\*). L'analyse quantitative a montré une présence importante des polyphénols et des flavonoïdes dans les feuilles de *Pistacia atlantica*. L'extrait brut (EBr) contient  $340.58 \pm 31.83$  µg équivalent acide gallique (EAG)/mg d'extrait alors que l'EEde contient la teneur la plus élevée en polyphénols ( $967.09 \pm 47.05$  µg EAG/mg d'extrait). L'évaluation de l'activité antioxydante a révélé, non seulement, un effet piègeur significatif du radical DPPH, mais aussi une inhibition élevée de l'oxydation couplée de β-carotène/acide linoléique ( $p < 0.001$ ), comparativement aux antioxydants standards (acide gallique et BHT). De plus, l'étude de la toxicité aiguë a montré que les feuilles de *Pistacia atlantica* est non toxique avec une DL<sub>50</sub> égale à  $11.380$  g/kg du poids corporel. Dans un autre coté, le traitement de diabète de type1 (induit expérimentalement chez des rats Wistar albinos par une injection unique de la streptozotocine à raison de 60 mg/kg ) pendant trois semaines avec l'EBr de dose de 500 mg/kg, 250 mg/kg, et 125 mg/kg a permis d'établir une diminution remarquable de la glycémie (à dose de 250 mg/kg) accompagnés d'un maintien de profil lipidique (cholestérol et triglycérides) et une augmentation modérée de poids corporel par rapport aux rats témoins normaux, ainsi une diminution non significative de la glycémie pour les doses de 500 mg/kg et 125 mg/kg. L'ensemble de ces résultats suggèrent que l'effet antioxydant important des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf, et l'usage prolongé comme un agent antidiabétique peut constituer une ressource naturelle de nouvelle substance utilisée contre le diabète associé au stress oxydant.

**Mots clés :** *Pistacia atlantica* Desf, diabète, antioxydants.