

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE FERHAT Abbas –SETIF  
Faculté de Science de la vie et de la nature Sciences  
Département de Biochimie

Mémoire  
Présenté Pour l'obtention du Diplôme de

## **MAGISTER**

En Biochimie  
Option : Biochimie appliquée

Par  
**FERRADJI Ayoub**

## **THEME**

**Activités antioxydante et anti-inflammatoire des  
extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des  
baies *Pistacia lentiscus*.**

Devant le jury :

Président	Pr. BENBOUBETRA Mustapha	Université Ferhat Abbas Sétif
Encadreur	Pr. SENATOR Abderrahmane	Université Ferhat Abbas Sétif
Examineur	Pr. BOURICHE Hamama	Université Ferhat Abbas Sétif
Examineur	Pr. AMIRA Smain	Université Ferhat Abbas Sétif

2010/2011

*« N'allez pas là où le chemin peut  
mener. Allez là où il n'y a pas de chemin  
et laissez une trace. »*

RALPH WALDO EMERSON

*À mes très chers parents, Mohamed Saleh & Soumia*

*À mes frères Sami et Imed*

*...et sœurs Amira et Ahlem*

*À Sarah, « Bibou »*

*Je vous aime tous.*

# Remerciements

Je tiens à remercier infiniment mon encadreur le Professeur SENATOR Abderrahmane de m'avoir accueilli dans son laboratoire, malgré la situation compliquée que j'avais. Merci pour votre sympathie et la confiance que vous m'avez accordée tout au long de ce parcours.

Je remercie le Pr BENBOUBETRA Mustapha d'avoir acceptée d'assurer la présidence du jury de ma thèse de magister.

J'adresse tous mes remerciements au Pr BOURICHE Hmama et au Pr AMIRA Smain pour avoir accepté de juger ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude.

Mes remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Je ne saurais remercier ici les personnes dont la collaboration a été essentielle pour la réalisation de certaines étapes de ce travail je cite spécialement BELAMBRI Sahra Amel qui n'a laissé aucun effort pour venir à mon aide.

Je tenais également à remercier ma famille, en particulier mes parents qui m'ont toujours permis de choisir mon chemin. Vous avez toujours été présents, aussi bien par votre soutien moral ainsi que financier. Merci également à mes frères Sami et Imed, et mes sœurs Amira et Ahlem qui m'ont soutenus durant les phases difficiles.

Enfin merci, et c'est peu dire, à celle que j'ai croisé un matin au métro St Charles, ma femme Sarah, qui a toujours été d'un immense soutien. Merci pour ton sourire de tous les jours et de m'avoir fait réagir dans les moments où il le fallait. En espérant que nos chemins se croisent encore longtemps, voire toujours...

## Résumé

Les activités anti-inflammatoire et antioxydante de l'extrait méthanolique des fruits, éthanolique et aqueux de feuilles de *Pistacia lentiscus* ont été étudiés *in vivo* et *in vitro* respectivement.

Le traitement locale de l'œdème de l'oreille par 2 mg d'extrait méthanolique des fruits ou l'extrait éthanolique des feuilles induit une diminution très significative ( $p < 0,001$ ) de l'inflammation par rapport au groupe témoin, de 70 % et 65 % respectivement. L'extrait aqueux des feuilles donne un effet inhibiteur plus faible (51 %), mais presque égal à celui de l'indométacine aux doses utilisées.

Le traitement par 200 mg/kg d'extrait alcoolique des fruits et des feuilles par voie orale provoque une inhibition de 56 % et 46 % de la perméabilité vasculaire respectivement. L'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* provoque une plus faible inhibition de 28 %. L'effet des extraits sur la pleurésie induite par la carrageenane montrent que l'administration orale de 400 mg/kg d'extrait méthanolique des fruits, éthanolique ou aqueux des feuilles provoque une diminution significative dans le développement de la pleurésie et la migration des PMNs.

L'effet antioxydant des mêmes extraits sont testés *in vitro* en utilisant les tests du DPPH, la chélation des métaux et le test de  $\beta$ -carotène/acide linoléique montre que ces extraits possèdent une forte activité scavenger de radical DPPH et une forte capacité d'inhiber la peroxydation lipidique. Cependant, seuls les extraits alcooliques des fruits et des feuilles ont un effet sur la chélation des métaux.

**Mots clés :** Inflammation, antioxydation, *Pistacia lentiscus*.

## Summary

The anti-inflammatory and antioxidant of methanolic extract of the fruits, ethanolic and aqueous extracts of leaf of *Pistacia lentiscus* were studied *in vivo* and *in vitro* respectively.

Local treatment of edema ear with 2 mg of methanolic extract of fruits or ethanolic extract of leaves induced a significant decrease ( $p < 0.001$ ) in inflammation compared to the control group, 70% and 65% respectively. The aqueous extract of the leaves gives a lower inhibitory effect (51%), but almost equal to that of indomethacin at used doses.

Treatment with 200 mg / kg of alcoholic extract of fruits and leaves orally causes an inhibition of 56% and 46% in vascular permeability respectively. The aqueous extract of leaves of *Pistacia lentiscus* caused a lower inhibition, only 28%.

The effect of extracts on carrageenan-induced pleurisy show that oral administration of 400 mg/kg of methanolic extract of the fruits, ethanol or aqueous extracts of leaves causes a significant reduction in the development of pleurisy and migration of PMNs.

The antioxidant effect of the same extracts are tested *in vitro* using the DPPH test, metal chelating and  $\beta$ -carotène/linoleic acide test shows that these extracts possess strong DPPH radical scavenger activity and high capacity inhibit lipid peroxidation. However, only the alcoholic extracts of fruits and leaves have an effect on the metal chelating.

**Keywords:** inflammation, antioxidation, *Pistacia lentiscus*.

## ملخص

نشاطية المستخلص الميثانولي للفواكه، الإثنانولي والمائي لأوراق نبتة *Pistacia lentiscus* المضادة للالتهاب والمضادة للاكسدة دراسة حيوية و اختباريا على التوالي.

المعاملة الموضوعية لمدة الأذن بـ 2ملغ من المستخلص الميثانولي للفواكه أو المستخلص الإثنانولي للأوراق تبدي تأثيراً عالياً ضد الإلتهاب ( $p < 0,001$ ) مقارنة مع مجموعة الفئران الشاهدة. 70 و 65 % على التوالي. أما المستخلص المائي للأوراق يبدي تأثيراً أقل لكن مساوياً للأندوميتاسين.

المعاملة عن طريق الفم بـ 200ملغ/كغ من المستخلصات الكحولية للفواكه و الاوراق يؤدي الى تثبيط بـ 56% و 45% في النفاذية الوعائية. المستخلص المائي فيؤدي إلى أقل انخفاض في النفاذية الوعائية (28%).

في تأثير المستخلصات على ذات الجنب عند الجرذان، المعاملة عن طريق الفم بـ 400ملغ/كغ للجرذان تظهر أن المستخلصات تسبب انخفاض كبير لذات الجنب وهجرة PMNs

النشاطية المضادة للاكسدة دراسة بإستعمال إختبارات DPPH، الفعل المخليبي على المعادن أو إختبار  $\beta$ -كاروتين/حمض اللينولييك. النتائج بينت أن المستخلصات تملك نشاطية عالية في إزاحة جذر DPPH كما يملك قدرة عالية على تثبيط أكسدة الليبيدات في إختبار  $\beta$ -كاروتين/حمض اللينولييك. أما في إختبار الفعل المخليبي على المعادن، فقط المستخلصات الكحولية التي تبدي تأثيراً.

الكلمات الرئيسية: الإلتهاب، مضاد الأكسدة، *Pistacia lentiscus*.

# Abréviations

**BHT** : Butylated Hydroxy Toluène

**CAT** : Catalase

**EDTA** : Ethylene Diamine Tetra acetic Acid

**GPx** : Glutathion peroxydase

**IC50** : 50% inhibitory concentration

**ICAM** : Intercellular Adhesion Molecule

**ILs** : Interleukines

**LT** : Leucotriène

**NF- $\kappa$ B** : Nuclear Factor-kappa B

**PAMPs** : Pathogen-associated molecular pattern

**PKC** : Protéine Kinase C

**PMNs** : Polymorphonucléaires neutrophiles

**PRR** : Pattern Recognition Receptors

**SOD** : Superoxyde dismutase

**TNF** : Tumor Necrosis Factor

**TPA** : 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate

**VCAM** : Vascular Cell Adhesion Molecule

## Liste des figures

- Figure 1.** La formation du transsudat et d'exsudat.
- Figure 2.** Processus de migration des neutrophiles a travers les vaisseaux sanguins.
- Figure 3.** Mécanisme d'action des AINS.
- Figure 4.** Mécanisme d'action des glucocorticoïdes.
- Figure 5.** Voies de formation des ROS, processus de peroxydation des lipides et le rôle de glutathion (GSH) et autre antioxydants dans le mangement du stress.
- Figure 6 :** Description botanique de *Pistacia lentiscus*.
- Figure 7.** Structure de base des classes les plus répandues des flavonoïdes.
- Figure 8.** Structures chimiques de quelques anthocyanidines.
- Figure 9.** Exemple de structure de base des tanins condensés.
- Figure 10.** Effet des extraits des fruits et des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris.
- Figure 11.** Effet des extraits des fruits et des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur la perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris.
- Figure 12.** Pleurésie induite chez le rat par injection intra-pleurale de  $\lambda$ -carrageenane
- Figure 13.** Effet de l'extrait méthanolique des fruits (E.Met Ft), l'extrait éthanolique des feuilles (E.Eth F), et de l'extrait aqueux des feuilles (E.Aq F) de *Pistacia lentiscus* sur l'exsudation et le recrutement des PMNs .
- Figure 14.** Activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique des fruits, de l'extrait éthanolique des feuilles, et de l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* et de BHT vis-à-vis du radical DPPH.
- Figure 15.** Activité chélatrice des extraits de *Pistacia lentiscus* et de l'EDTA vis-à-vis du fer ferreux.
- Figure 16.** Cinétique de blanchissement du  $\beta$ -carotène à 490 nm en absence et en présence des extraits de *Pistacia lentiscus*, ou du BHT.
- Figure 17.** Activité anti-oxydante des extraits de *Pistacia lentiscus*, du BHT dans le système  $\beta$ -carotène/acide linoléique.

## Liste des tableaux

**Tableau 1.** Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire.

**Tableau 2.** Exemples de Maladies liées à l'inflammation.

**Tableau 3.** Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-inflammatoires.

**Tableau 4.** Exemples des plantes médicinales douées d'activité anti-oxydantes.

**Tableau 5.** Composition des huiles essentielles des feuilles de *Pistacia lentiscus* des régions d'Alger, Tizi-Ouzou et Oran.

**Tableau 6.** Activité antiradicalaire des extraits de *Pistacia lentiscus* et du BHT vis-à-vis le radical DPPH.

**Tableau 7.** Activité chélatrice des extraits de *Pistacia lentiscus* et l'EDTA vis-à-vis du fer ferreux.

# Sommaire

## Introduction

## REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Inflammation.....	1
I.1. L'inflammation aiguë.....	1
I.1.1. Phase vasculaire.....	2
I.1.2. Phase cellulaire : recrutement des leucocytes.....	3
I.1.3. Phase de résolution.....	3
I.2. L'inflammation chronique.....	4
I.3. Médiateurs solubles et cellulaires de l'inflammation.....	5
I.3.1. Médiateurs solubles.....	5
I.3.2. Médiateurs cellulaires de l'inflammation aiguë.....	5
I.4. Pathologies inflammatoires.....	7
I.5. Anti-inflammatoires.....	8
I.5.1. Anti-inflammatoire non stéroïdiens.....	8
I.5.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens.....	9
I.5.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale.....	10
II. Stress oxydative.....	11
II. 1. Espèces réactives de l'oxygène.....	11
II. 2. Principales sources des ROS.....	11
II.3.1. Sources exogènes des ROS.....	12
II.3.2. Sources endogènes de ROS.....	12
II.3. Dommages oxydatifs aux lipides, protéines et ADN.....	12
II.4. Défenses antioxydantes.....	15
II.4.1. Antioxydants enzymatiques.....	15
II.4.1.1. Superoxydes dismutases.....	15

II.4.1.2 Catalase .....	15
II.4.1.3 Glutathions peroxydases.....	15
II.4.1.4. Thiorédoxines.....	16
II.4.2. Antioxydants non enzymatiques.....	16
II.4.3. Antioxydants d'origine végétale.....	16
II.4.3.1. Vitamine E.....	16
II.4.3.2. Vitamine C.....	17
II.4.3.3. Les antioxydants phénoliques.....	17
II.4.3.4. Le sélénium.....	17
II.4.3.5. Le zinc.....	18
III. <i>Pistacia lentiscus</i> .....	19
III.1. Etude botanique .....	19
III.2. Activité pharmacologique et effet thérapeutiques de <i>Pistacia lentiscus</i> .....	20
III.3. Etude chimique de l'espèce <i>Pistacia lentiscus</i> .....	21
III.3.1. Fruits.....	21
III.3.2. Feuilles.....	22
IV. Métabolites secondaires.....	23
IV.1. Flavonoïdes.....	23
IV.1.1. Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des flavonoïdes.....	25
IV.2. Tanins.....	26
IV.2.1. Tanins hydrolysables.....	26
IV.2.2. Tanins condensés.....	26
IV.2.3. Activité biologique et intérêt pharmacologiques des tanins.....	27
<b>MATERIEL ET METHODES</b> .....	29
I. Matériels.....	29
I.1. Animaux.....	29
I.2. Matériel végétal.....	29
I.3. Réactifs.....	29

I.4. Solutions de travail.....	29
II. Méthodes.....	30
II.1. Extraction et préparation des extraits.....	30
II.2. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> .....	30
II.2.1. Œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris.....	31
II.2.2. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris.....	31
II.2.3. Induction de la pleurésie chez le rat.....	31
II.3. Activité anti-oxydante <i>in vitro</i> .....	33
II.3.1. Effet scavenger du radical DPPH.....	33
II.3.2. Chélation du fer ferreux.....	34
II.3.3. Test de blanchissement de la $\beta$ -carotène.....	35
II.4. Analyses statistiques.....	35

## **RESULTATS & DISCUSSIONS**

<b>Résultats</b> .....	36
I. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> .....	36
I.1. Œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris.....	36
I.2. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris.....	36
I.3. Pleurésie induite par la $\lambda$ -carrageenane chez le rat.....	39
II. Activité antioxydative <i>in vitro</i> .....	42
II.1. Effet scavenger du radical DPPH.....	42
II.2. Chélation du fer ferreux.....	42
II.3. Test du $\beta$ -carotène.....	45
<b>Discussion</b> .....	47
I. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> .....	47
I.1. Œdème de l'oreille.....	47
I.2. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique.....	49
I.3. Pleurésie induite par la $\lambda$ -carrageenane.....	50
II. Activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	52

II.1. Effet scavenger du radical DPPH.....	52
II.2. Chélation du fer ferreux.....	53
II.3. Test de blanchissement du $\beta$ -carotène.....	54
Conclusion générale.....	55
Références bibliographiques.....	56

# **INTRODUCTION**

## Introduction

L'inflammation est un processus habituellement bénéfique : son but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation. D'un autre côté, la surproduction des espèces réactives d'oxygènes au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement. Cependant, l'utilisation de substances chimiques de synthèse anti-inflammatoires ou antioxydantes est accompagnée toujours d'effets secondaires indésirables, alors que l'utilisation de composés phytochimiques s'avère utile et sans effets secondaires.

La phytothérapie a été utilisée depuis des siècles pour traiter les affections. Tisanes, décoctions, emplâtres ont été utilisés avec succès. En Algérie, les plantes sont utilisées depuis longtemps et leur utilisation s'inspire d'expériences des populations ainsi que de la médecine arabe classique. Cependant, cette utilisation ne suit pas des règles précises et ne tient pas compte des nouvelles nécessités de la thérapeutique actuelle.

Beaucoup d'études se sont intéressées à l'étude des plantes utilisées en médecine traditionnelle.

C'est dans ce but s'inscrit notre travail qui consiste à évaluer l'activité anti-inflammatoire et antioxydante des extraits des fruits et des feuilles de *Pistacia lentiscus* L, connu en Algérie sous le nom de Darou, cette plante est utilisée en médecine traditionnelle algérienne comme un agent astringent, expectorant et cicatrisant. A notre connaissance, il n'existe pas des précédents travaux sur l'activité anti-inflammatoire de *Pistacia lentiscus*, et très peu sur son activité antioxydante.

Pour ce faire, l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de *Pistacia lentiscus* par les modèles d'inflammation aiguë, œdème de l'oreille et la perméabilité vasculaire chez la souris, ainsi que la pleurésie chez le rat ont été réalisés dans un premier temps.

L'activité antioxydante des mêmes extraits a été évaluée par les tests DPPH, chélation du fer ferreux, et  $\beta$ -carotène dans un deuxième temps.

# **REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

# **I. L'inflammation**

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé. Une régulation défectueuse peut engendrer des dommages irréversibles. Une réponse insuffisante conduit à une immunodéficience pouvant entraîner une infection secondaire ou même un cancer. Exacerbée, au contraire, elle augmente la morbidité et la mortalité dans des pathologies comme l'arthrite rhumatoïde, la maladie de Crohn ou encore le diabète. Mal contrôlée, l'inflammation peut s'étendre au reste de l'organisme *via* la circulation sanguine. Elle peut alors conduire à des dommages tissulaires irréversibles locaux ou généralisés, parfois à un choc septique entraînant dans les cas les plus graves le décès (Nathan, 2002; Barton, 2008).

La réponse inflammatoire est associée au système immunitaire, qui peut-être divisé en deux branches interconnectées. L'immunité innée est la plus ancienne. Elle est présente chez tout organisme pluricellulaire. Les cellules du système immunitaire inné possèdent des récepteurs PRR et des voies de signalisation hautement conservés pour détecter et réagir face à une infection ou à une blessure. La détection de ces signaux exogènes d'origine microbienne, les PAMPs, ou endogènes, les alarmines (Bianchi, 2007), va conduire à l'initiation de la cascade inflammatoire et à l'activation d'une réponse immunitaire acquise ou adaptative (Barton, 2008; Medzhitov, 2008). La réponse inflammatoire se déroule en quatre étapes : la reconnaissance des signaux de danger, le recrutement de cellules sur le site d'infection, l'élimination du pathogène et la résolution de l'inflammation conduisant à un retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé (Barton, 2008). En absence d'une résolution, s'installe une inflammation chronique.

## **I.1. L'inflammation aigue**

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculoexsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (Charles *et al.*, 2010). L'inflammation aigue se constitue en trois phases :

### I.1.1. Phase vasculaire

Il s'agit d'une vasoconstriction artériolaire, très brève de quelques secondes. Elle est due à l'action du système sympathique, et est très rapidement ressentie puisque douloureuse, expliquée par la libération d'histamine, de sérotonine et de kinine, l'excitabilité des terminaisons nerveuses en est la conséquence et va conforter le processus douloureux. Cette constriction n'est pas innocente sur les plaquettes présentes dans la circulation, laquelle est perturbée. Ces plaquettes vont alors s'activer. Très vite à cette vasoconstriction, va faire suite une vasodilatation des vaisseaux sanguins. Le débit local est augmenté et la perméabilité des capillaires est exacerbée, ce qui explique l'extravasation des cellules sanguines (diapedese) (Figure 1). Ce qui explique en partie la constitution de la chaleur et de la rougeur. La migration des cellules s'accompagne d'un transfert de plasma qui crée l'œdème.

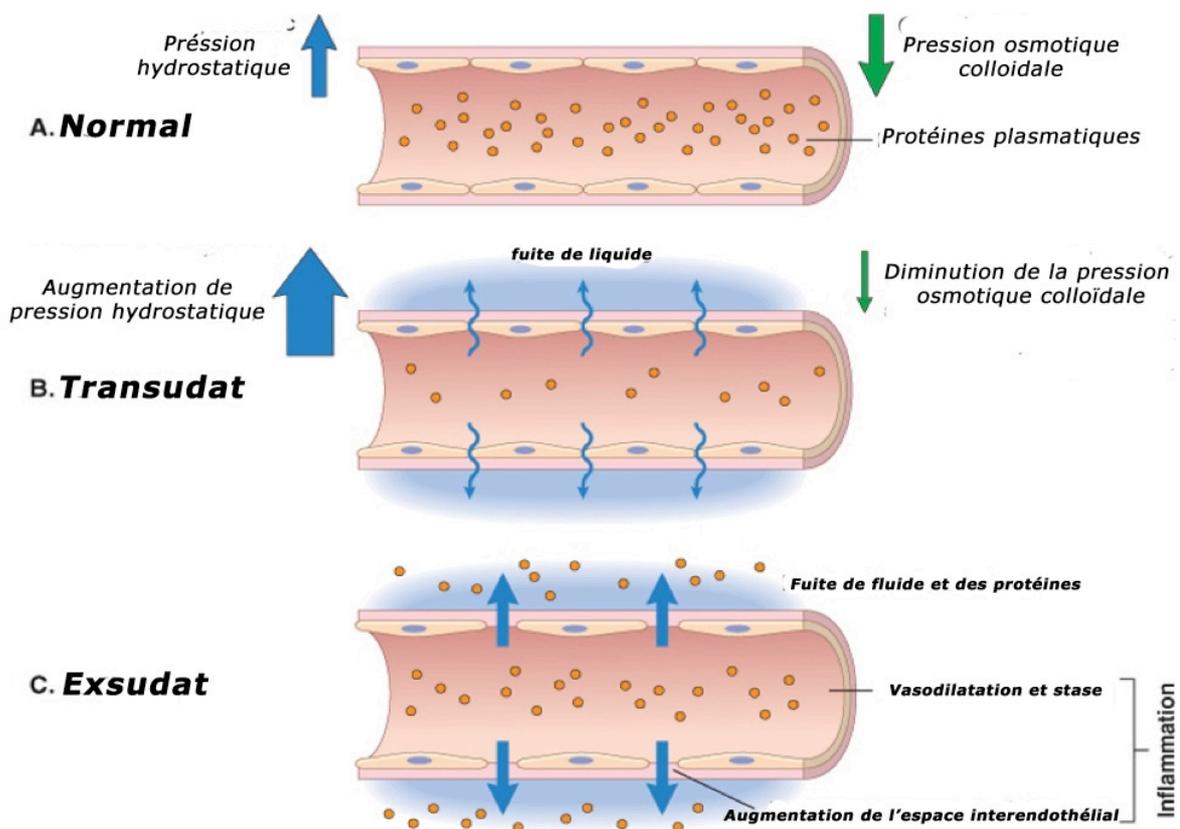


Figure 1: Formation du transsudat et d'exsudat (Kumar *et al.*, 2007).

### **I.1.2. Phase cellulaire (recrutement des leucocytes)**

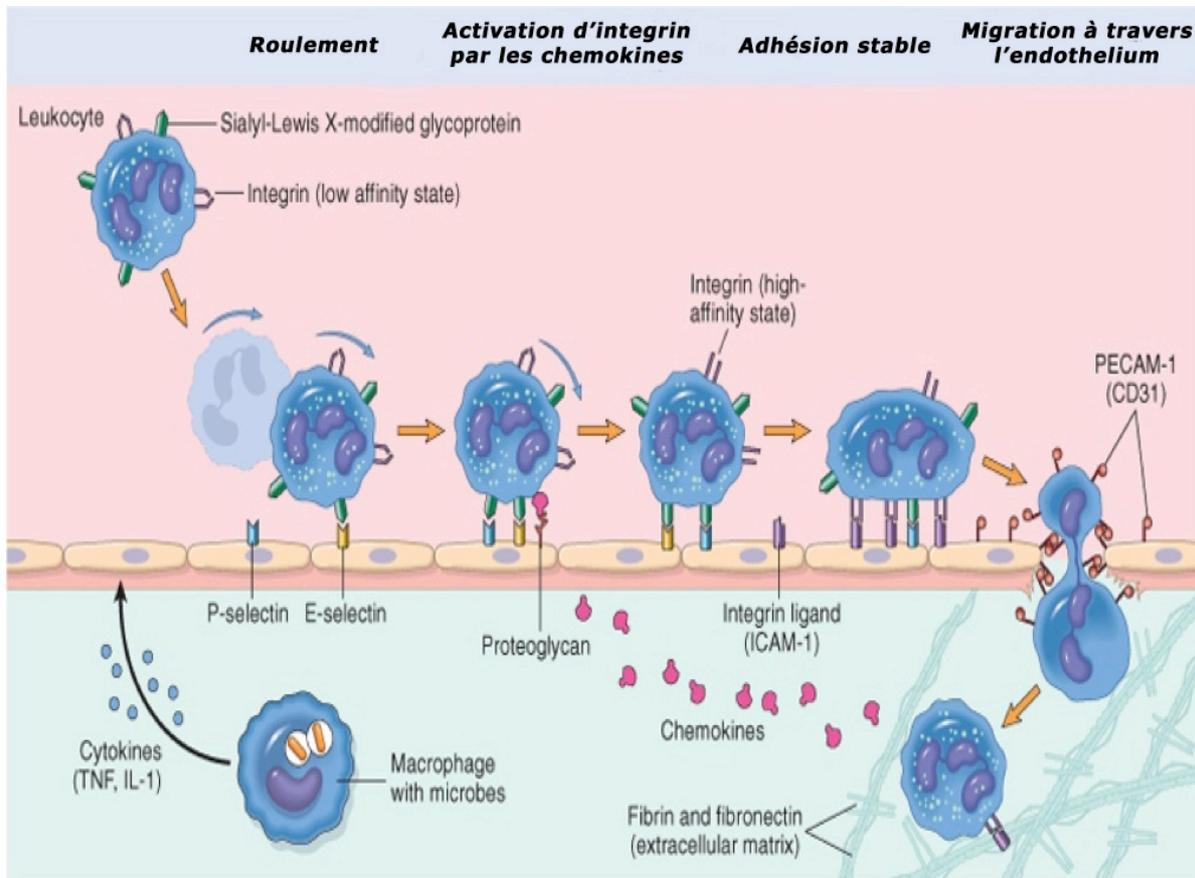
Les phénomènes vasculo-exsudatifs initiaux permettent l'arrivée dans le foyer inflammatoire des leucocytes. Les premiers sur place (environ 6 heures) sont les polynucléaires. Le plus souvent, les polynucléaires sont progressivement remplacés sur le site inflammatoire par les cellules monocytes. Parmi celles-ci, les macrophages ont pour fonction d'assurer la déterision grâce à leur capacité de phagocytose. Il s'y associe des lymphocytes et des plasmocytes qui participent à la réponse immune spécifique de l'antigène (Nathan, 2002).

L'afflux des cellules, fait que celles-ci vont d'abord se marginaliser sur le site de l'agression en environ 30 minutes. C'est à ce moment qu'on pourra constater « in situ » la présence de polynucléaires neutrophiles, lesquelles sont plaqués le long des cellules endothéliales de l'endroit concerné. Ces cellules vont traverser la paroi, grâce à de nombreux facteurs attractants comme l'IL8, C5a et LTB4 (Figure 2). Ces cellules vont en effet ingérer les éléments lésés. Cette fonction n'est pas simple. Elle repose sur la dégranulation des composants internes de la cellule. Ceci conduit à la sécrétion des protéases (élastase et collagénase), et la libération des radicaux libres. Les PMNs vont contribuer à l'éradication des corps étrangers (s'il y a lieu) ou des tissus lésés (en cas de traumatisme par exemple). Dans ce type de situation, la réaction va s'arrêter mais ceci n'est pas toujours le cas et les macrophages dont le pouvoir phagocytaire est important, vont intervenir. Ceci constitue le passage de la réaction inflammatoire proprement dite à la réaction immunitaire et la mise en place des processus inhérents (Charles *et al.*, 2010).

### **I.1.3. Phase de résolution**

La phase de résolution, dite de réparation, dépend du degré des lésions tissulaires. En effet, dans les conditions les plus favorables, les agents agresseurs sont éliminés par les PMNs, et les produits de dégradation ainsi que les débris cellulaire sont phagocytés par les macrophages. Les macrophages vont alors sécréter des cytokines et des médiateurs qui vont induire la phase de cicatrisation et de régénération tissulaire. Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes, ces cellules pouvant produire et remodeler les éléments de leur stroma (collagène de type I et III) ou de leur lame basale (collagène de type IV et V, laminine). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le nouveau tissu. Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui vont produire les protéines matricielles des tissus intercellulaires, comme le collagène, la fibronectine et la laminine pour permettre la

reconstruction des tissus. Le système de l'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire peut s'éteindre (Weill *et al.*, 2003).



**Figure 2 :** Processus de migration des neutrophiles a travers les vaisseaux sanguins (Kumar *et al.*, 2007).

## I.2. L'inflammation chronique :

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages, et plasmocytes dans les tissus. Dans de nombreux cas, la réponse inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années). Elle est considérée comme être causé par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée et acquise, comme dans la polyarthrite rhumatoïde, rejet de l'allogreffe chronique, dans la bérylliose, et dans l'inflammation granulomateuse. Il est prouvé que les macrophages dans ces lésions produisent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui activent les fibroblastes pour fixer le collagène et activer les autres macrophages et lymphocytes pour libérer des médiateurs responsables des réponses inflammatoires. L'inflammation chronique est

initialement déclenchée par des réponses vasculaires qui impliquent l'apparition de molécules d'adhésion sur la surface des cellules endothéliales qui vont spécifiquement entraîner l'adhésion des lymphocytes et des monocytes, et permettent leur transmigration dans le compartiment extravasculaire (Charles *et al.*, 2010). Tout comme dans la réponse inflammatoire aiguë, les lymphocytes et les monocytes, subissent un processus d'activation qui favorisent l'adhérence et la transmigration de ces cellules dans le compartiment extravasculaire. En tout type de réponse inflammatoire, les différences entre les types de molécules d'adhésion exprimées sur les cellules endothéliales détermineront le type de leucocytes qui migrent (Nourshargh *et al.*, 2006; Charles *et al.*, 2010).

### **I.3. Médiateurs solubles et cellulaires de l'inflammation**

#### **I.3.1. Médiateurs solubles**

Certains de ces médiateurs existent sous forme inactive, avant toute lésion tissulaire, cette dernière ne faisant qu'activer ces molécules; d'autres sont synthétisés ou libérés à partir de différentes populations cellulaires. Leurs actions sont multiples, souvent redondantes et intègrent les voies de la coagulation, de l'immunité innée, de l'hématopoïèse et du système nerveux (Kumar *et al.*, 2007; Charles *et al.*, 2010 ).

Les protéases plasmatiques comprennent le complément (activation par la voie classique ou par la voie alterne en fonction des stimuli, produisant des fragments chémoattractants tels que le C3a et le C5a), les kinines dont la cascade est initiée par différentes lésions tissulaires exposant du collagène ou des membranes basales et permettent d'activer le facteur XII, enfin des facteurs protéiques de coagulation et de fibrinolyse activant également le facteur XII qui génère de la plasmine, elle-même responsable de la production de médiateurs inflammatoires (Charles *et al.*, 2010). Le tableau 1 résume l'origine et les effets des plus importants médiateurs chimiques de l'inflammation.

#### **I.3.2. Médiateurs cellulaires de l'inflammation aiguë**

Plusieurs types cellulaires interviennent dans la réaction inflammatoire. Les cellules les plus importantes sont les PMNs qui sont attirés au niveau des lésions tissulaires par la présence des médiateurs précoces de l'inflammation (leucotriènes, C5a). Cette attraction nécessite au préalable des interactions entre les cellules endothéliales et les neutrophiles qui, en plusieurs étapes, établissent des contacts grâce à des molécules d'adhésion (CD62L, CD11, CD18) qui se lient à des protéines membranaires des cellules endothéliales (Kumar *et al.*, 2007). Dans le site inflammatoire, ces polynucléaires neutrophiles s'activent et dégranulent, en réponse à

**Tableau 1.** Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire (Rankin, 2004).

Médiateurs	Origine cellulaire	Effets
Histamine	Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes.	Assure la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.
Sérotinine	Mastocytes et plaquettes.	Augmente la perméabilité vasculaire, dilate les capillaires et stimule la contraction des muscles lisses.
Platelet activating factor (PAF)	Plaquette, neutrophiles, monocytes et cellules endothéliales.	Vasodilatation, augmente l'adhésivité de la paroi vasculaire, stimule la bronchoconstriction, l'aggrégation des plaquettes et la libération des médiateurs qu'elles renferment, induit la production des ROS et la libération des enzymes lysosomiales par les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages.
Kalicroïne	Présente dans le plasma	Transforme et active le système des Kinines
Plasmine	Présente dans le plasma	Clive le composant du complément C <sub>3</sub> pour générer le C3a et le C3b
Leucotriènes : -LTC <sub>4</sub> , LTD <sub>4</sub> , LTE <sub>4</sub>	Essentiellement par les leucocytes	Augmente la perméabilité des micro- vaisseaux.
-LTB <sub>4</sub>	Essentiellement par les leucocytes	Augmente la perméabilité vasculaire et le flux sanguin local, induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des ROS et attire et active les cellules inflammatoires.
Prostaglandines	Essentiellement par les leucocytes	Provoquent la vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, de la bradykinine et des leucotriènes, augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la douleur.
Bradykinine	Présente dans le plasma sous forme de kininogènes.	Accroît la vasodilatation, la perméabilité vasculaire et stimule la contraction des muscles lisses.
Facteur de Hageman (XII)	Présent dans le plasma et est activé par l'adhésion des plaquettes.	Impliqué dans la cascade de coagulation.
Thrombine	Présente dans le plasma	Catalyse la transformation du fibrinogène en fibrine et induit la libération de la sérotonine des plaquette.
Fibrine	Présente dans le plasma, formée à partir du fibrinogène	Intervient dans la formation du caillot sanguin.
L'IL-8	Monocytes, macrophages, plaquettes et lymphocytes.	Chimiotactisme des neutrophiles, des monocytes et des macrophages. Induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des ROS. Intervient dans la réparation tissulaire
C3a	Fraction C3 du complément inactif.	Provoque la dégranulation des mastocytes.
C5a	Fraction C5 du complément inactif	Provoque la dégranulation des mastocytes et des neutrophile, exerce un effet chimiotactique en vers les phagocytes et stimule la contraction du muscle lisse.

différents médiateurs solubles déjà évoqués (C5a, leucotriènes, facteurs d'activation des plaquettes, histamine), augmentent leur production d'enzymes oxydatives et leur capacité à phagocytoser sous l'effet des leucotriènes, de facteurs de croissance hémopoïétiques tels que le G-CSF et le GM-CSF, du TNF et de l'Interleukine 8 (Charles *et al.*, 2010).

D'autres cellules sont attirées sur le site de l'inflammation et participent à la constitution de l'infiltrat inflammatoire : les monocytes migrent et deviennent des macrophages activés capables de phagocytose, de production de protéines antibactériennes et de médiateurs pro-inflammatoires. Les éosinophiles sont également recrutés au site de l'inflammation aiguë, en particulier lorsque celle-ci est le fait d'une réaction allergique respiratoire, gastro-intestinale ou cutanée. Les plaquettes contribuent au processus inflammatoire par la libération de nombreux médiateurs incluant le fibrinogène, le plasminogène, des protéases plasmatiques ainsi que de la sérotonine. Enfin, les lymphocytes B et T produisent les cytokines pro-inflammatoires, initient la réponse immunitaire adaptative et contribuent à l'activation des PMNs par la production d'immunoglobulines par les B-lymphocytes (Kumar *et al.*, 2007; Charles *et al.*, 2010).

#### I.4. Pathologies inflammatoires

De nombreuses maladies inflammatoires sont liées à des mécanismes considérés comme dysimmunitaires, à savoir les maladies auto-immunes systémiques et localisées, les maladies auto-inflammatoires, les affections inflammatoires de mécanisme indéterminé notamment, des affections iatrogènes ou paranéoplasiques dont le mécanisme n'est pas auto-immun (Charles *et al.*, 2010). Quelques exemples sont rapportés dans le tableau 2.

**Tableau 2.** Exemples de maladies liées à l'inflammation (Nathan, 2002).

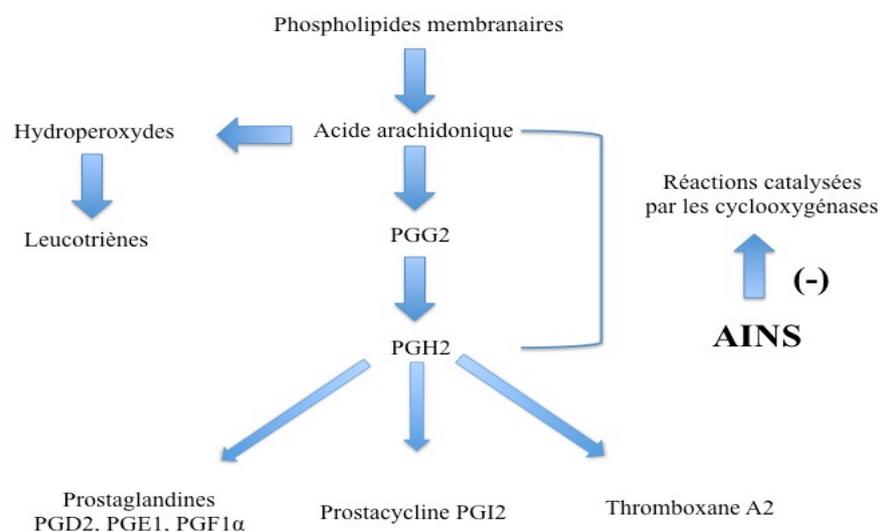
Désordres dans les quelles le rôle pathogénique principal revient à l'inflammation	
Asthme	Polyarthrite rhumatoïde
Artériosclérose	Arthrose
Goutte	Thyroïdite d'Hashimoto
Maladie d'Alzheimer	Lupus érythémateux disséminé
Eczéma	Maladie de Crohn
Maladies d'origine infectieux dans les quelle l'inflammation contribue dans la pathologie	
Hépatite C	Tuberculose
Tuberculose	Dysenterie bactérienne
Maladies d'origines divers dans les quelles la fibrose poste inflammatoire est la cause principale de la pathologie	
Fibrose pulmonaire idiopathique	Bilharziose
Cirrhose hépatique poste virale ou alcoolique	

## I.5. Anti-inflammatoires

### I.5.1. Anti-inflammatoire non stéroïdiens

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, anti-pyrétique et antalgiques. Actuellement, il y a plus de 50 différents AINS sur le marché mondial.

Le mécanisme d'action des AINS a été précisé par les travaux de Vane en 1971, il repose en grande partie sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclooxygénase, enzyme qui permet la production de prostaglandine à partir de l'acide arachidonique. Cette caractéristique commune à tous les AINS conduit à une diminution de la production des prostaglandines (notamment la PGE2 et la PGI2), importants médiateurs de l'inflammation (Figure 3). Même si d'autres modes d'action existent, cette activité explique largement les propriétés pharmacologiques et thérapeutiques des AINS, mais aussi une partie de leurs effets secondaires en raison du rôle ubiquitaire et des fonctions physiologiques des prostaglandines (Nicolas *et al.*, 2001). Ainsi, la production exagérée de prostaglandines en situation pathologique participe à l'inflammation (vasodilatation, augmentation de la perméabilité capillaire) et à la douleur (sensibilisation des nocicepteurs) alors que sa production basale permet l'homéostasie tissulaire (production de mucus, de bicarbonates et maintien du flux sanguin sous muqueux gastrique, maintien de l'hémodynamique rénale en cas d'hypoperfusion en particulier). L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS semblait donc, jusqu'à récemment, devoir obligatoirement s'accompagner d'effets favorables et délétères (Blain *et al.*, 2000).



**Figure 3:** mécanisme d'action des AINS (Nicolas, 2001).

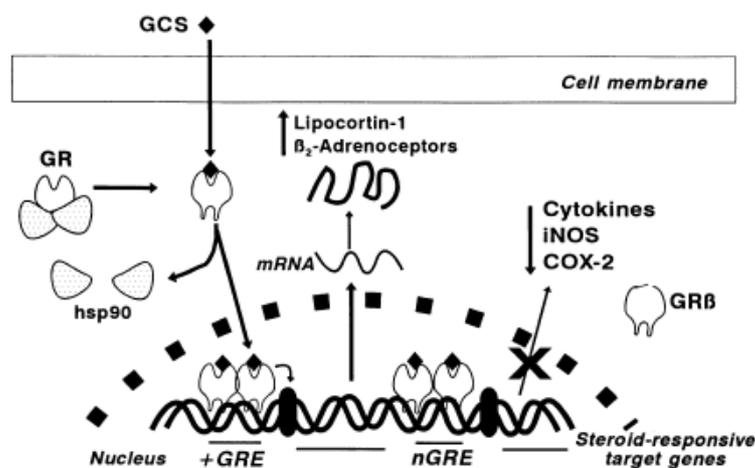
## I.5.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde surrénalien. Les glucocorticoïdes sont des substances dérivées du cholestérol, dont la production est stimulée par l'ACTH libérée selon un cycle nyctéméral par le lobe antérieur de l'hypophyse.

Dans les tissus cibles, les glucocorticoïdes se fixent à leurs récepteurs des glucocorticoïdes (GR) du cytoplasme de la cellule. Après quoi, le complexe récepteur-ligand formé pénètre dans le noyau cellulaire où il se fixe à de nombreux éléments de réponse aux glucocorticoïdes dans la région du promoteur des gènes-cibles. Le récepteur, ainsi fixé à la molécule d'ADN interagit avec les facteurs de transcription basiques, provoquant une augmentation de l'expression génique de gènes-cibles spécifiques. Ce processus est appelé transactivation et conditionne la plupart des effets secondaires métaboliques et cardiovasculaires des glucocorticoïdes (Figure 4).

Le mécanisme opposé est appelé transrépression. Le récepteur hormonal activé interagit avec des facteurs de transcription spécifiques et prévient la transcription des gènes-cibles. Les glucocorticoïdes sont capables d'empêcher la transcription de tous les gènes immuns, incluant celui codant IL-2 (Barnes, 1998).

Les glucocorticoïdes ordinaires ne font pas de différence entre la transactivation et la transrépression, et influencent à la fois les gènes immuns "voulus" et ceux "non voulus" régulant les fonctions métaboliques et cardiovasculaires. Actuellement, les efforts de recherche visent à découvrir des glucocorticoïdes agissant sélectivement qui seraient capables de ne réprimer que le système immunitaire (Henzen, 2003).



**Figure 4** : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (Barnes, 1998).

### I.5.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale

Le nombre de composés phytochimiques, trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti inflammatoire. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes. Quelques exemples de plantes douées d'activités anti-inflammatoires sont cités dans le tableau 3.

**Tableau 3.** Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-inflammatoires (Barnes, 1998).

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Nom commun	Utilisation
<i>Zingiber officinale</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Gingembre	arthrose, migraine, douleurs rhumatismales
<i>Helleborus orientalis</i>	Ranunculaceae	Racines	Lenten-rose	Oedemes, douleurs rhumatismales
<i>Urtica dioica</i>	Urticaceae	Feuilles, Racines	Ortie	Rhinite allergique, eczéma goutte, douleurs rhumatismales
<i>Laurocerasus officinalis R.</i>	Rosaceae	Feuilles	Laurier	Fièvre, pharyngite, douleurs d'estomac, hémorroïdes
<i>Curcuma longa</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Curcuma	Douleurs rhumatismales, lupus systémique, psoriasis, infections rénales
<i>Nerium oleander L.</i>	Apocynaceae	Fleurs	Laurier rose	Douleurs, maux de tête
<i>Harpagophytum procumbens</i>	Pédaliacées	Tubercule	Griffe du diable	Arthrose, lombalgie, nevralgie, maux de tête, fièvre
<i>Rhododendron ponticum L.</i>	Ericaceae	Feuilles	Rhododendron pontique	Oedèmes, états grippaux, mal de dents
<i>Juglans regia L.</i>	Juglandaceae	Feuilles, fruits	Noyer commun	Douleurs rhumatismales, fièvre, eczéma. Malaria
<i>Oenothera biennis</i>	Onagraceae	Graines	Onagre bisannuelle	Douleurs rhumatismales,

## II. Stress oxydant

Le stress oxydatif apparaît dans une cellule quand l'équilibre entre les espèces pro-oxydantes et anti-oxydantes est rompu en faveur des pro-oxydants.

Dans les systèmes vivants, une production physiologique d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) se fait de manière continue. Dans des conditions pathologiques ou provoquées par des facteurs exogènes, une surproduction de ces réactives est possible. Les défenses anti-oxydantes, dont une partie est dépendante de l'alimentation, peuvent être insuffisantes pour empêcher les dégâts cellulaires que peuvent causer les radicaux libres de l'oxygène (Valko *et al.*, 2007)

### II. 1. Espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont une famille d'entités chimiques regroupant les radicaux libres oxygénés [anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), radical hydroxyle ( $HO^{\bullet}$ ), monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ) ...] et les dérivés non radicalaires dont la toxicité est importante [anion peroxyde ( $O_2^{2-}$ ), peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), peroxydinitrite ( $ONOO^-$ )].( Novelli, 1997 )

On peut distinguer les radicaux primaires, qui ont un rôle physiologique particulier et les radicaux secondaires, issus de la réaction des radicaux primaires avec des entités biochimiques cellulaires tels que lipides, protéines, glucides...(Favier, 2003).

A l'état fondamental le dioxygène est un biradical avec deux électrons célibataires à spins parallèles placés dans des orbitales antiliantes,  $\bullet O=O^{\bullet}$ . L'oxygène moléculaire est relativement peu réactif car il réagit seulement avec les molécules ayant comme lui un ou deux électrons célibataires à spins parallèles.

L'anion superoxyde,  $O_2^{\bullet-}$ , est un radical avec un électron célibataire. Il est moins stable et plus réactif que l'oxygène moléculaire car il possède trois électrons sur des orbitales antiliantes du fait que l'électron supplémentaire se place dans une orbitale antiliante. L'anion peroxyde,  $O_2^{2-}$  n'est pas un radical. Cependant il est très instable du fait de l'existence d'un quatrième électron dans une orbitale antiliante. Dans l'eau, l'anion peroxyde se transforme en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), par acquisition de deux protons. L'eau oxygénée joue un rôle très important dans les réactions radicalaires car elle peut donner le radical  $HO^{\bullet}$ .

### II.2. Principales sources des ROS

Les ROS sont produits continuellement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes (figure 5). On parle donc de sources endogènes et de sources exogènes.

### **II.2.1. Sources exogènes des ROS**

Les radiations X ou gamma peuvent par différents mécanismes faire apparaître des radicaux libres en scindant la molécule d'eau en deux radicaux. Les rayonnements UV sont capables de produire des anions superoxydes ou de l'oxygène singulet après activation des photosensibilisants.

Une large variété de xenobiotiques (toxines, pesticides, herbicides, etc...) et médicaments (antibiotiques, anticancéreux, etc...) peuvent contribuer à la production des ROS qui se forment comme un des produits de leur métabolisme (Valko *et al.*, 2007).

### **II.2.2. Sources endogènes des ROS**

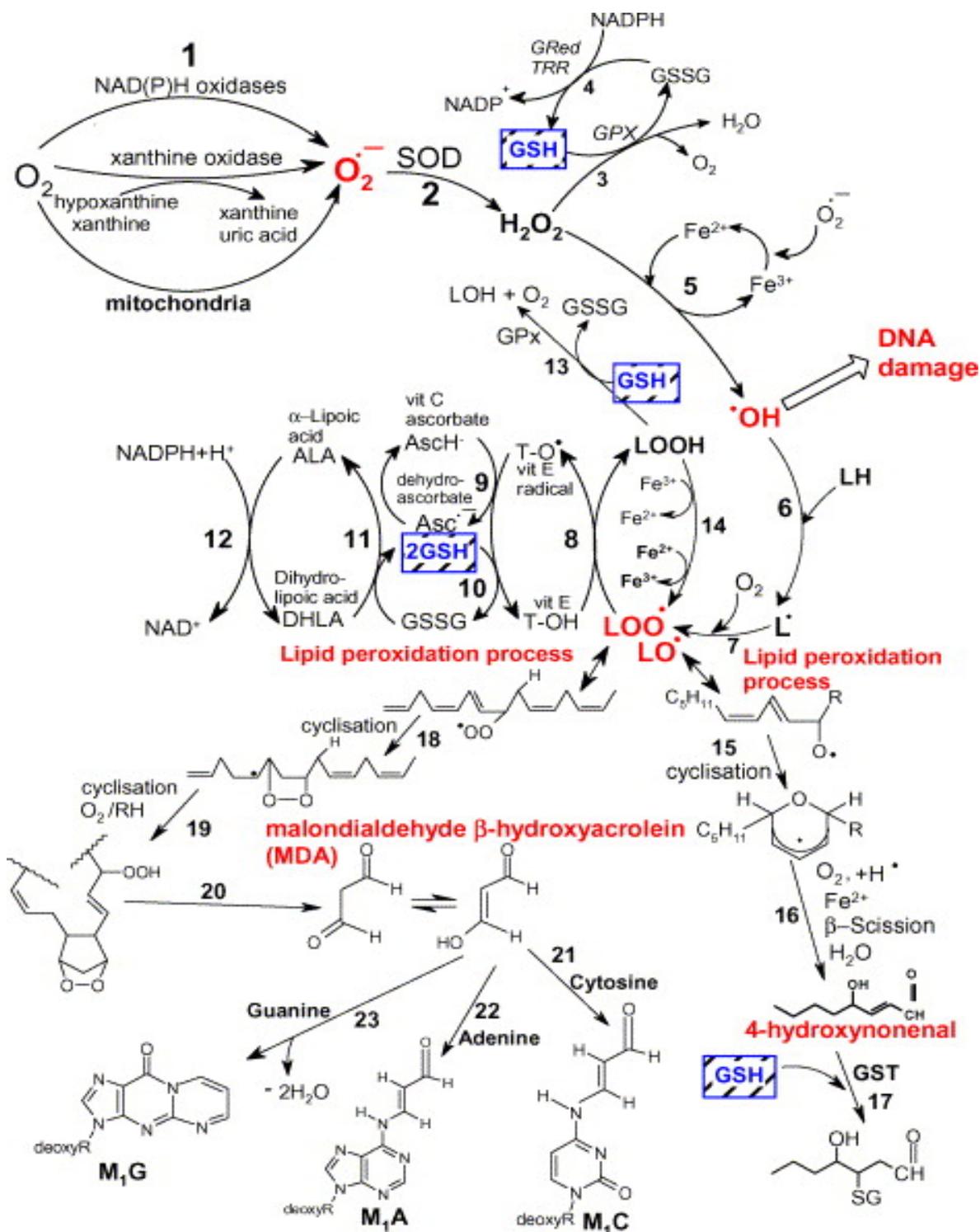
Dans la cellule, de nombreux systèmes enzymatiques sont capables de générer des oxydants : (Salvayre *et al.*, 2003)

- Les NAD(P)H oxydases sont des enzymes présentes dans la paroi vasculaire et qui génèrent  $O_2^{\bullet-}$  en utilisant NADH ou NADPH comme substrat.
- La xanthine-oxydase joue un rôle important dans la production des ROS (particulièrement  $O_2^{\bullet-}$  et  $H_2O_2$ ), lors de l'ischémie/reperfusion.
- Lors du métabolisme de l'acide arachidonique, ce dernier peut être oxydé soit par les cyclooxygénases, soit par les lipooxygénases (métallo-enzymes à fer), pour former entre autre des hydroperoxydes qui sont des précurseurs de leucotriènes, puissants médiateurs de l'inflammation.

De plus, dans l'organisme, l'oxygène est réduit à 95 % dans les mitochondries par voie enzymatique en molécule non toxique comme  $H_2O$ . Cependant, il peut subir une réduction monoélectronique et former une espèce beaucoup plus réactive comme l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$ . Cet anion n'est pas le radical le plus délétère, cependant il peut donner naissance comme indiquée précédemment à des espèces beaucoup plus réactives comme le radical hydroxyle  $HO^{\bullet}$ . Ces ROS mitochondriales pourraient intervenir dans l'oxydation des LDL (Valko *et al.*, 2007).

### **II.3. Dommage oxydatif aux lipides, protéines et ADN**

A des concentrations élevées, les ROS peuvent être d'importants médiateurs de dommages aux structures cellulaires, lipides, protéines et acides nucléiques (Valko *et al.*, 2006). Le radical hydroxyle est connu pour réagir avec tous les composants de la molécule d'ADN, d'endommager les bases puriques et pyrimidiques et aussi le désoxyribose (Halliwell et Gutteridge, 1990).



**Figure 5.** Voies de formation des ROS, processus de peroxydation des lipides et le rôle de glutathion (GSH) et autre antioxydants dans le mangement du stress (Valko *et al.*, 2007).

La lésion de l'ADN la plus étudiée est la formation de 8-OH-G. Les modifications permanentes du matériel génétique résultant de ces dommages oxydatifs représente la première étape impliquée dans la mutagenèse, la carcinogenèse et le vieillissement (Valko *et al.*, 2007).

Les modifications oxydatives des protéines par les ROS provoquent l'introduction d'un groupement carbonyle dans la protéine. Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le  $Fe^{2+}$  ou le  $Cu^{2+}$ . Les réactions d'oxydation de protéines peuvent être classées en deux catégories : d'une part, celles qui coupent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE (4-Hydroxynonanal). De telles modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées et deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont donc éliminées. L'oxydation de la cystéine est réversible mais peut également perturber les fonctions biologiques du GSH ou de certaines protéines (Valko *et al.*, 2007).

Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des ROS. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires organisées en trois phases successives (Halliwell et Gutteridge, 1999). La phase d'initiation consiste en la création d'un radical d'acide gras ( $L^{\bullet}$ ) à partir d'un acide gras (LH) par soustraction d'un atome d'hydrogène. Cette déshydrogénation peut être provoquée par un initiateur radicalaire tel que le  $OH^{\bullet}$  et le  $HOO^{\bullet}$ . Le radical lipidique  $L^{\bullet}$  subit ensuite un réarrangement moléculaire pour donner un radical avec une structure diène conjugué, plus stable, qui peut réagir avec une molécule d' $O_2$  et former un radical peroxyde ( $LOO^{\bullet}$ ). Ce radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau, un hydrogène à un acide gras polyinsaturé voisin, propageant ainsi la réaction. Chaque radical  $L^{\bullet}$  peut être à l'origine d'une centaine de molécules d'hydroperoxyde avant que survienne la phase de terminaison. L'hydroperoxyde lipidique ( $LOOH$ ) formé peut être oxydé en présence de métaux de transition divalents de  $Fe^{2+}$  ou  $Cu^{2+}$  et entraîner la formation d'alcalanes et d'aldéhydes toxiques dont le MDA ou le 4-HNE (figure 5).

La réaction en chaîne peut être interrompue (phase de terminaison) par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydante (Delattre *et al.*, 2005).

## II.4. Défenses antioxydantes

Un antioxydant est toute substance qui, lorsqu'elle est présente à des concentrations faibles par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde considérablement ou inhibe l'oxydation de ce substrat, qu'elle soit de nature enzymatique et non enzymatique (Halliwell et Gutteridge, 1990).

### II.4.1. Antioxydants enzymatiques

Les organismes vivants disposent de systèmes enzymatiques de défense qui les protègent des dommages liés ROS. Ces défenses permettent de maintenir leur concentration à un taux basal. En effet, elles possèdent une grande affinité pour les ROS, avec lesquelles elles réagissent très rapidement pour les neutraliser. Comme elles fonctionnent en complémentarité.

#### II.4.1.1. Superoxydes dismutases

La superoxyde dismutase (SOD) est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation du superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier pourra être pris en charge par des enzymes à activité peroxydase. Il existe trois isoformes de SOD chez les mammifères. Une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc, une forme mitochondriale associée au manganèse et une forme extracellulaire. Pour cette raison, cette enzyme représente une partie importante du système de défense contre les radicaux libres (Valko *et al.*, 2007).

#### II.4.1.2 Catalase

La catalase est présente dans de nombreux tissus et particulièrement abondante dans le foie et les globules rouges. C'est un tétramère dont chaque unité porte une molécule d'hème et une molécule de NADPH. La fixation du NADPH sur la catalase augmente son efficacité et la protège contre l'inactivation (Kalpakcioglu et Senel, 2008).

Chez les mammifères, la catalase est particulièrement présente dans les peroxysomes. Elle catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub> empêchant ainsi la formation de radical hydroxyl.

La catalase permet également de détoxifier différents substrats, tels que les phénols et les alcools par un couplage avec la réduction d'hydrogène :  $\text{RH}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{R} + 2\text{H}_2\text{O}$

#### II.4.1.3 Glutathions peroxydases

La glutathion peroxydase est une enzyme formée de quatre sous-unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine. Elle est présente dans les liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries. Elle

assure la transformation des hydroperoxydes organiques, lipidiques notamment, de type LOOH en LOH (figure 5).

#### **II.4.1.4. Thiorédoxines**

Les thiorédoxines font l'objet de nombreux travaux concernant leurs capacités antioxydantes (Valko *et al.*, 2007). Chez les Mammifères, elles sont localisées dans les mitochondries, le cytosol, et les peroxysomes, elles sont associées aux noyaux et aux membranes. Grâce à leur activité peroxydase, elles neutralisent le peroxyde d'hydrogène, le peroxydite et de nombreux hydroperoxydes. Malgré une activité plus faible que les GPx ou la catalase, elles pourraient jouer un rôle majeur dans l'élimination des hydroperoxydes, du fait de leur quantité importante (0,1 à 0,8 % de protéines soluble cellulaire) et de leur large distribution dans la cellule (Favier, 2003).

#### **II.4.2. Antioxydants non enzymatiques**

Cette classe regroupe des composés endogènes de faible poids moléculaire qui peuvent être soit des produits de synthèse (glutathion) ou issus du métabolisme cellulaire (acide urique) (Kohen et Nyska, 2002). Des protéines telles que la ferritine, la ceruloplasmine et l'albumine contribuent à leur tour dans la défense antioxydante secondaire en chélatant les métaux de transition permettant ainsi de prévenir la formation du radical hydroxyle via la réaction de fenton (Martinez-Cayuela, 1995).

#### **II.4.3. Antioxydants d'origine végétale**

Plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelle sont douées de propriétés antioxydantes remarquables (tableau 4). Les fruits et les légumes contiennent une grande variété d'antioxydants comme la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes, les oligoéléments et surtout les polyphénols (Defraigne et Pincemail, 2008).

##### **II.4.3.1. Vitamine E**

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols. La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , avec une activité antioxydante variable. L' $\alpha$ -tocophérol est la forme la plus active de la classe des tocophérols. Sa structure moléculaire comporte une extrémité hydrophile et une extrémité hydrophobe. Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, l' $\alpha$ -tocophérol, connu comme inhibiteur de la propagation de la peroxydation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical  $RO_2^{\cdot}$  (Singh *et al.*, 2005).

### II.4.3.2. Vitamine C

La vitamine C (acide ascorbique) n'est pas synthétisée par l'organisme. Elle est hydrosoluble à la concentration physiologique. La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase). Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle prend une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (Singh *et al.*, 2005)

**Tableau 4.** Exemples de plantes médicinales douées d'activité anti-oxydantes (Moon et Shibamoto, 2009).

Nom scientifique	Nom commun	Composés actifs
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	Réglisse	glycyrrhizine
<i>Zingiber officinalis</i>	Gingembre	6 - gingerdiols
<i>Solanum lycopersicum</i>	Tomates	rutine, acide ascorbique, acide chlorogénique, lycopène
<i>Glycine max</i>	Soja	eugénol, maltol, alcool benzylique
<i>Thymus vulgaris</i>	Thyme	thymol, carvacrol, terpinène
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romarin	acide carnosique
<i>Zanthoxylum piperitum</i>	Poivre noir	arbutine, magnoflorine
<i>Eucalyptus globulus</i>	Eucalyptus	1,8-cineole, benzaldéhyde
<i>Syzygium aromaticum</i>	Giroflier	eugénol, eugényl acétate
<i>Vitis vinifera</i>	Raisin	Composés phénoliques

### II.4.3.3. Antioxydants phénoliques

La propriété antioxydante des flavonoïdes la mieux décrite est leur capacité à piéger le radical libre : radical hydroxyle, l'anion superoxyde et les radicaux peroxydes. Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C<sub>3</sub>OH) fortement réactif (Ghedira, 2005). Ils peuvent également protéger les membranes cellulaires par leur action à différents niveaux sur la peroxydation lipidique.

### II.4.3.4. Sélénium

Le sélénium est un constituant de la glutathion peroxydase, enzyme qui joue un rôle intracellulaire antioxydant, voisin de celui de la vitamine E. cet effet antioxydant est capital

dans la détoxification des radicaux libres produits par le métabolisme cellulaire. Cet effet de détoxification serait responsable des effets anti-cancéreux et antiviellissement, attribués au sélénium (Chia-Fung *et al.*, 1995).

#### **II.5.3.5. Zinc**

Cet oligo-élément est l'un des cofacteurs essentiels de la SOD. La prise de zinc conduit à long terme à l'induction de protéines antioxydantes comme les métallothionéines. Le zinc protège également les groupements thiols des protéines. Le zinc peut inhiber partiellement les réaction de formation des ROS induites par le fer ou le cuivre (Parma *et al.*, 2004)

### **III. *Pistacia lentiscus***

#### **III.1. Etude botanique**

*Pistacia lentiscus* (Darou), est un arbrisseau de 1 à 3 mètres (figure 6), à odeur résineuse forte de la famille des Anacardiaceae (Coste, 1937). Elle est particulièrement représentative des milieux les plus chauds du climat méditerranéen que l'on retrouve en association avec l'oléastre (olivier sauvage), la salsepareille et le myrte dans un groupement végétal nommé "l'Oléolentisque", mais également dans les boisements clairs à Pin d'Alep ou d'autres formations de garrigues basses. En Algérie, on le retrouve sur tout type de sol, des zones subhumides et semi-arides, plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège. Selon More et White (2005) cette espèce est caractérisée par :

Ecorce: rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps. Quand on incise l'écorce la plante laisse s'écouler une résine irritante non colorée à odeur forte.

Branches : tortueuses et pressées, forment une masse serrée.

Feuilles : persistantes, composées, possédant un nombre pair de folioles (4 à 10) d'un vert sombre, elliptiques, obtuses, luisantes en dessus, glabres, coriaces et dont le pétiole est bordé d'une aile verte.

Fleurs : unisexuées d'environ 3 mm de large se présentent sous forme de grappe, et très aromatiques, forment des racèmes de petite taille à l'aisselle des feuilles. Les fleurs femelles sont vert jaunâtre et les fleurs males sont rouge foncé.

Fruit : est une baie globuleuse de 2 à 3 mm, monosperme, remplie par nucléole de la même forme, d'abord rouge, il devient brunâtre à sa maturité en automne (figure 6).

Mastic : L'incision du tronc de cet arbuste fait écouler un suc résineux nommé mastic qui, une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie.



**Figure 6** : Description botanique de *Pistacia lentiscus*.

### **III.2. Activité Pharmacologiques et effets thérapeutiques de *Pistacia lentiscus***

*Pistacia lentiscus* est connue par ses propriétés médicinales depuis l'antiquité. En effet, la décoction des racines séchées est efficace contre l'inflammation intestinale et d'estomac ainsi que dans le traitement de l'ulcère (Palevitch et Yaniv, 2000).

La partie aérienne est traditionnellement utilisée dans le traitement de l'hypertension artérielle grâce à ses propriétés diurétiques (Scherrer *et al.*, 2005).

Les feuilles sont pourvues d'activités anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépatoprotective, expectorante et stimulante (Villar *et al.*, 1987; Magiatis *et al.*, 1999; Janakat et Al-Meir, 2002; Kordali *et al.*, 2003; Paraschos *et al.*, 2007). Elles sont également utilisées dans le traitement l'eczéma, infections buccales, diarrhées, lithiases rénales, jaunisse, maux de tête, asthme et problèmes respiratoires (Villar *et al.*, 1987; Ali-Shtayeh *et al.*, 1998; Ali-Shtayeh *et al.*, 2000; Lev et Amar, 2002).

Le mastic est connu par son effet analgésique, antibactérien, antifongique, antioxydant, antithérogénique, expectorant, stimulant, diurétique et spasmolytique (Abdel Rahman et Soad, 1975; Magiatis *et al.*, 1999; Dedoussis *et al.*, 2004; Prichard, 2004). Par conséquent, cliniquement, le mastic est souvent cité comme un remède efficace contre certaines maladies telles que l'asthme, les diarrhées, les infections bactériennes, les ulcères gastro-dodénaux et comme un agent antiseptique du système respiratoire (Al-Said *et al.*, 1986; Huwez et Al-Habbal, 1986; Yasilada *et al.*, 1991; Marone *et al.*, 2001).

L'huile essentielle du lentisque est connue pour ses vertus thérapeutiques en ce qui concerne

les problèmes lymphatiques et circulatoires (Prichard, 2004). Selon Gardeli et ses collaborateurs (2008), les huiles essentielles révèlent la présence de certaines activités antalgique, antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne.

### **III.3. Etude chimique de l'espèce *Pistacia lentiscus***

En raison de sa large utilisation en médecine traditionnelle, les différentes parties de *Pistacia lentiscus* en fait l'objet de plusieurs études phytochimiques à fin d'identifier leurs principes actifs. Ces études consacrées essentiellement au mastic ont montré la présence de flavonoïdes, des huiles essentielles, ainsi que des triterpenoïdes (Marner *et al.*, 1991; Papageorgiou *et al.*, 1997). Cependant, on ne trouve que peu d'études qui se sont intéressées aux composés chimiques des feuilles et des fruits.

#### **III.3.1. Fruits**

Selon Luigia et ses collaborateurs (2007), les fruits de *Pistacia lentiscus* contiennent 5,4 mg/ml d'anthocyanines, essentiellement: cyanidine 3-O-glucoside (70%), delphinidine 3-O-glucoside (20%) et cyanidine 3-O-arabinoside (10%).

Deux polyphénols, l'acide gallique et le pentagolloylylucose (Abdelwahed *et al.*, 2006), et l'acide digallique (Behouri *et al.*, 2011) ont été isolés de l'extrait d'acétate d'éthyle des fruits de *Pistacia lentiscus*.

L'huile fixe représente 38,8 % du poids des fruits, elle contient 53 % d'acide gras mono-insaturé. Le principal acide gras est l'acide oléique (50 -72%), suivie de l'acide palmitique (23,2%) et l'acide linoléique (21,7%), les autres acides gras sont retrouvés en faible quantités [acide palmitoléique (1.3%), stéarique (1.1%), linoléique (0.8%), gadoléique (0.2%) et arachidique (trace)]. Quatre stérols ont été trouvés dans l'huile fixe, le  $\beta$ -sitostérol (90%), le camestérol, le cholestérol et le stigmastérol (Trabelsi *et al.*, 2011).

L'huile essentielle représente 0,2% du poids des fruits, les monoterpènes à savoir,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene,  $\beta$ -myrcene, limonène, et  $\alpha$ -phellandrène sont les composés caractéristiques de cette huile. Quelques sesquiterpènes, esters aliphatique, cétones, et des composés phénoliques (thymol et carvacrol ont été aussi identifiés (Grant *et al.*, 1990 ; Congiu *et al.*, 2002).

Les travaux réalisés par Hamad et ses collaborateurs (2011) ont montrée que les protéines représentent 5% du poids des fruits de *Pistacia lentiscus*. La composition minérale de ces fruits montre que la teneur en potassium est la plus élevée (2,67%), alors que celles du sodium, calcium et phosphore sont de : 0,46, 0,37 et 0,004 % respectivement.

### III.3.2. Feuilles

La composition chimique des feuilles de *Pistacia lentiscus* est caractérisée par la présence de glycosides de flavonoles comme la quercetine, myricetine, luteoline ainsi que l'isoflavone genisteine (Romani *et al.*, 2002; Stocker *et al.*, 2004; Vaya et Mahmood, 2006). Elle contiennent 6 à 7% du gallotannins de faible poids moléculaire, a savoir l'acide gallique et les dérivés d'acide quinique 5-O-, 3,5-O-di- et 3,4,5-O-trigalloyl (Romani *et al.*, 2002).

L'huile essentielle représente 0,14- 0,17% du poids des feuilles de *Pistacia lentiscus*. Les études phytochimiques effectuées sur les huiles essentielles obtenues à partir des feuilles de lentisque des régions d'Alger, de Tizi-Ouzou et d'Oran ont montré la présence de longifolène,  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -pinene,  $\gamma$ -cadinene, trans- $\beta$ -terpinéol,  $\alpha$ -acomeol,  $\gamma$ -muurolene, Sabinene et terpinén-4-ol (tableau 5)

**Tableau 5.** Composition des huiles essentielles des feuilles de *Pistacia lentiscus* des régions d'Alger, Tizi-Ouzou et Oran (Dob *et al.*, 2006)

Composés	Teneur (%)		
	Alger	Tizi-Ouzou	Oran
Longifolène	12,8	16,4	ND
$\alpha$ -pinène	ND	ND	19,0
$\beta$ -pinene	ND	ND	6,5
$\gamma$ -cadinene	6,2	ND	ND
Trans- $\beta$ -terpinéol	5,0	15,6	13,1%
$\alpha$ -acomeol	4,6%	ND	ND
Terpinén-4-ol	ND	7,0	ND
$\gamma$ -muurolene	ND	5,7	ND
Sabinene	ND	ND	12,6

## IV. Métabolites secondaires

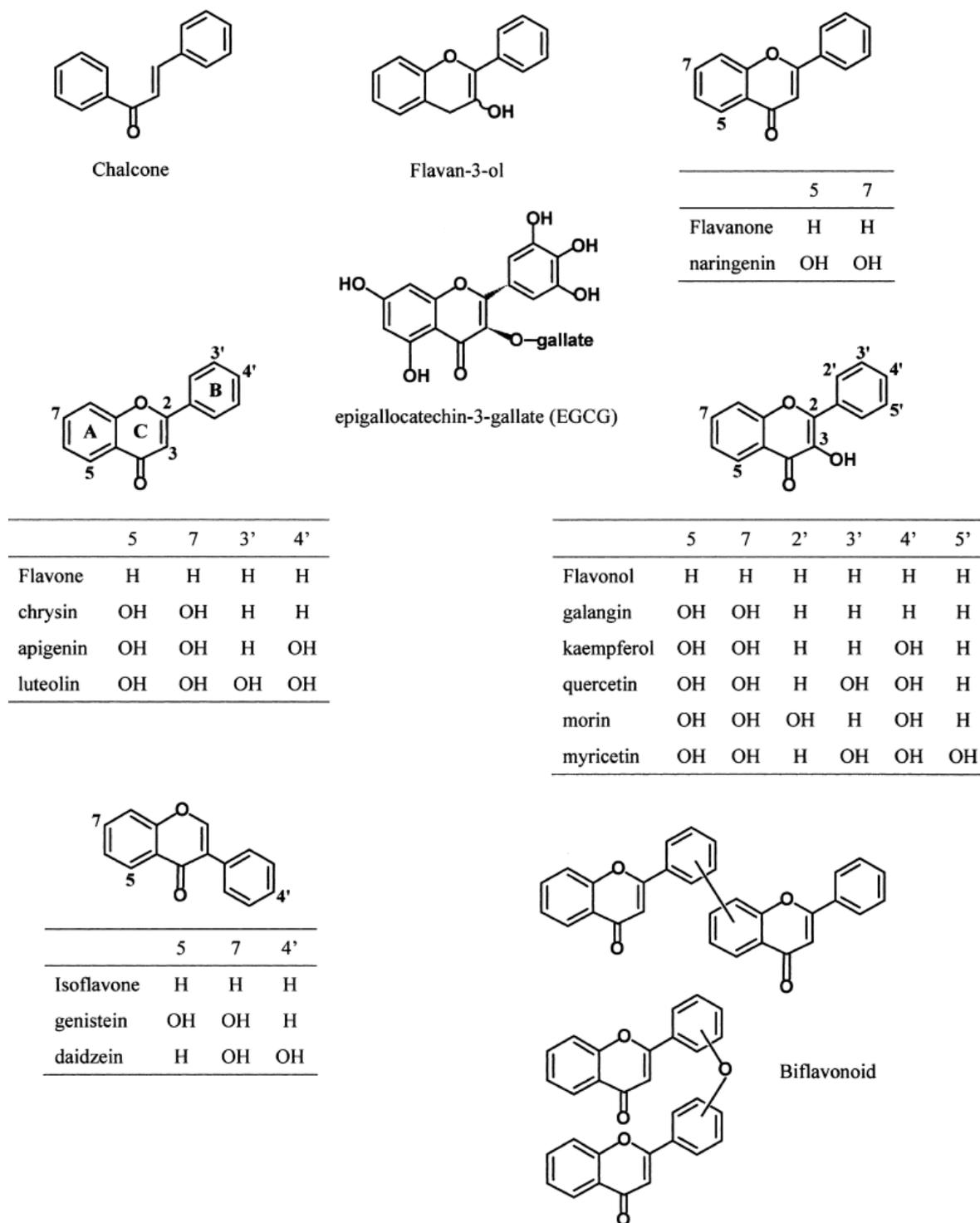
Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés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

Les flavonoïdes et les tanins sont présents en *Pistacia lentiscus*. Les flavonoïdes constituent un important groupe de composés polyphénoliques largement distribués dans le règne végétal. Les tanins sont des métabolites secondaires des plantes supérieures que l'on trouve dans pratiquement toutes les parties des végétaux (écorces, racines, feuilles, fruits etc.).

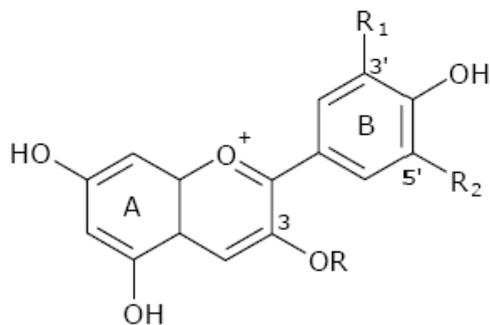
### IV.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments très largement répandus dans le règne végétal (les fruits, les légumes, les graines ou encore les racines des plantes), souvent responsables de la coloration des fleurs et des fruits. A l'état naturel ils existent le plus souvent sous forme d'hétérosides : les flavonosides. Les flavonoïdes sont formés d'un squelette de base à 15 carbones (C6-C3-C6), correspondant à la structure du 2-phényl-benzopyrone. Ce groupe comprend principalement trois familles : les flavonols, les anthocyanes et les flavanols, qui se différencient par le degré d'oxydation du noyau pyranique central (figure 7).

Les anthocyanes sont les matières colorantes les plus importantes et les plus répandues dans les plantes (Kim *et al.*, 2004). Ces pigments sont connus pour être responsables des couleurs rose, bleu, rouge, mauve et violet des pétales et des feuilles, l'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment. Les anthocyanes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois... Leur structure de base est caractérisée par un noyau « flavone » généralement glycosylé en position C-3 et se différencie par leur degré d'hydroxylation et de méthylation et par le nombre et la position des oses liés à la molécule (figure 8).



**Figure 7** : Structure de base des classes les plus répandues des flavonoïdes (Kim *et al.*, 2004)



Anthocyanidines R=H	R1	R2
Delphinidine	OH	OH
Cyanidine	OH	H
Pétunidine	OCH3	OH

**Figure 8:** Structures chimiques de quelques anthocyanidines (Mazza et Miniati, 1993).

#### IV.1.1. Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont largement connus par leurs activités antivirales, antispasmodiques, anti-tumorales, anti agrégation plaquettaires, antiallergiques, hypocholestérolémiantes, anti-inflammatoires, anti-hypertensives et antimicrobiennes (Das *et al.*, 1994 ; Formica et Regelson, 1995; Yochum *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 2004 ; Cushine et Lamb, 2005).

Certains flavonoïdes (notamment du soja) ont un effet préventif sur le cancer du sein et de la prostate, comme elle préviennent aussi l'ostéoporose (Besle *et al.*, 2004).

De nombreuses études ont prouvé que les flavonoïdes déploient leurs activités pharmacologiques, notamment anti-inflammatoires, par l'inhibition d'importantes enzymes de régulation. En effet, certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines, des molécules pro inflammatoires très actives. Cet effet serait dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la lipooxygénase, de la cyclooxygénase et de la phospholipase A2 (Manthey *et al.*, 2000). Certaines kinases (PKC, la PI3kinase et tyrosine kinases) impliquées dans la réponse inflammatoire sont aussi affectées par les flavonoïdes (Middleton *et al.*, 2000). La présence de la double liaison C2=C3 dans le noyau des flavonoïdes semble être essentielle à leur activité anti-inflammatoire (Kim *et al.*, 1996). Le potentiel anti-inflammatoire dépend également du profil d'hydroxylation des cycle A et B (Kim *et al.*, 1996).

Les flavonoïdes peuvent empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'aldose réductase. En effet, Ong et Khoo (1997) ont rapporté que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez les animaux diabétiques.

En plus, les flavonoïdes ont une activité antioxydante. En effet, ils peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant : par capture directe des espèces réactives de l'oxygène, par chélation de métaux de transition et par inhibition de certaines enzymes responsables de la production des ROS comme la cyclooxygénase et la lipooxygénase (Tahrouche *et al.*, 2000 ; Bartosikova *et al.*, 2003).

Les flavonoïdes préviennent efficacement la peroxydation lipidique puisqu'ils peuvent réagir avec la plupart des radicaux libres susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement CH<sub>2</sub> situé entre les deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés, ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives. De plus ils pourraient agir en chélatant les métaux de transition tels que le cuivre et le fer (Přemysl *et al.*, 2011).

Les flavonoïdes sont des puissants inhibiteurs de l'oxydation des LDL (Low Density Lipoprotein). Cependant, leur teneur dans les lipoprotéines est mal connue, à la différence d'autres antioxydants incorporés dans les lipoprotéines tels que l' $\alpha$ -tocophérol et le  $\beta$ -carotène (Přemysl *et al.*, 2011).

## **IV.2. Tanins**

Bate-Smith et Swain ont défini les tannins comme étant des composés phénoliques solubles dans l'eau, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (Frutos *et al.*, 2004).

Chez les végétaux supérieurs on distingue deux groupes de tanins de structure différentes: les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables, ou tanins condensés (Frutos *et al.*, 2004).

### **IV.2.1. Tanins hydrolysables**

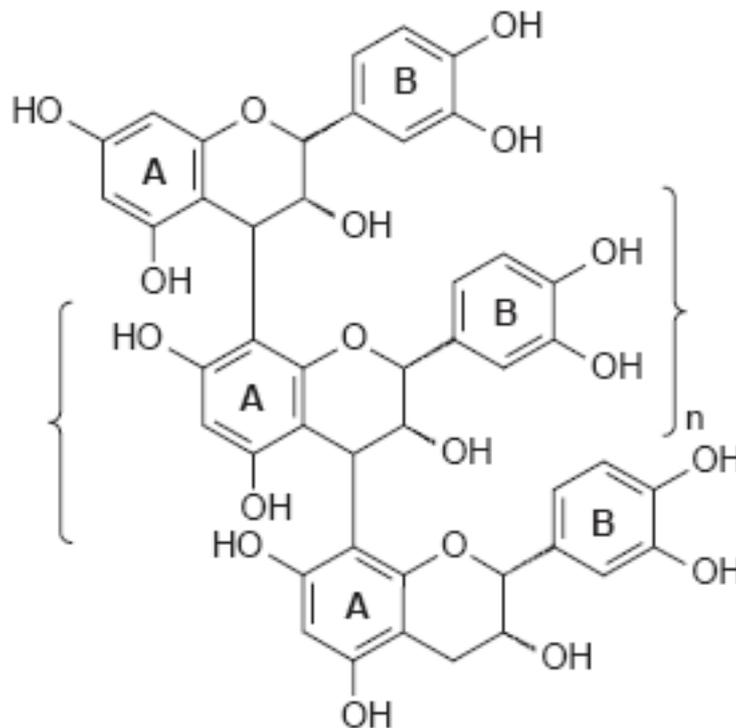
Les tanins hydrolysables sont des esters de glucose, c'est à dire un noyau central de glucose sur lequel se fixe, au moyen d'une liaison ester, des acides (acide gallique pour le groupe des gallotanins, et acide ellagique pour le groupe des ellagitanins). Leur hydrolyse, par des acides, des bases ou certaines enzymes, libère le glucose ainsi que les acides gallique ou phénolique liés (Chung *et al.*, 1998).

### **IV.2.2. Tanins condensés**

De structure plus complexe, les tanins condensés (proanthocyanidines) sont de loin les tanins les plus largement rencontrés dans les plantes vasculaires, des dicotylédones aux plantes plus primitives, fougères et gymnospermes. Les proanthocyanidines sont des polymères de flavan-

3-oles (Catéchine) et de flavan-3,4-dioles (leucoanthocyanidines), ou un mélange des deux (Okamura *et al.*, 1993).

Les chaînes de polymères comptent de 2 à 20 unités environ, et il existe de nombreuses hydroxylations possibles en différents endroits de chaque monomère (figure 9). Cette diversité structurale explique les variations d'activité biologique.



**Figure 9** : Exemple de structure de base des tanins condensés (Li *et al.*, 2004)

### **IV.2.3. Activité biologique et intérêt pharmacologiques des tanins**

Les applications médicales des plantes à tanins découlent de leur affinité pour les protéines : ils ont un effet antidiarrhéique, et par voie externe, ils imperméabilisent les couches superficielles de la peau, sont vasoconstricteurs et limitent la perte en fluides. Ces propriétés, ajoutées par ailleurs à leur effet antiseptique, en font des molécules intéressantes pour la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures, et les rendent utilisables dans le traitement des diarrhées infectieuses (Okuda *et al.*, 1983 ; Bruneton, 1999).

Les tanins ont des grandes capacités antioxydantes dues à leurs noyaux phénol. Les taninshydrolysables et condensés sont 15 à 30 fois plus efficaces que les phénols simples (Frutos *et al.*, 2004).

La consommation de plantes à tanins pouvait affecter la biologie de certaines espèces de parasites intestinaux en diminuant la production des oeufs. De nombreuses études ont montré l'effet antimicrobien des tanins sur différentes bactéries, virus et champignons (Hatano *et al.*, 2005). Les tanins ont aussi des propriétés proches de celles des flavonoïdes : augmentation de la résistance capillaire, diminution de la perméabilité capillaire et stabilisation du collagène (Bruneton, 1999).

L'absorption du fer est inhibée par les tanins qui agissent comme des chélateurs naturels dans le tube digestif. La consommation de ces molécules réduit très fortement l'absorption du fer chez les rats, ce qui permet grâce à cette propriété de protéger les animaux sujets à l'hemosidérose. Grâce à leur affinité, les tanins sont utilisés comme antidotes des alcaloïdes, des glycosides et des ions de métaux lourds (Chung *et al.*, 1998).

Les tanins contiennent de nombreux groupements hydroxyles (sur les noyaux phénoliques), ce qui leur permet de former des complexes insolubles avec les hydrates de carbone, des protéines et des ions métalliques. Ils se lient à la quasi-totalité des protéines solubles, donnant naissance à des polymères insolubles à pH et forces ioniques normaux. Cette réaction avec les protéines est à l'origine de nombreux effets biologiques des tanins, les enzymes complexées de cette façon montrent une réduction marquée de leurs activités (Chung *et al.*, 1998). Les tanins peuvent également former des complexes avec d'autres polymères naturels comme les acides nucléiques et les polysaccharides (Chung *et al.*, 1998).

# **MATERIEL ET METHODES**

# Matériel et méthodes

## I. Matériel

### I.1. Animaux

Des souris *Swiss albinos*, mâles et femelles, dont le poids varie entre 25 et 30g, ainsi que des rats mâles, *Albinos Wistar* pesant entre 210 et 270g, ont été utilisés lors de l'étude *in vivo*. Ces animaux ont été procurés auprès de l'Institut Pasteur d'Alger. Les animaux ont été placés dans des cages en polypropylène où ils ont accès libre à l'eau et à l'alimentation. Les animaux ont bénéficiés d'une période d'adaptation de 7 jours avant leur utilisation. L'aliment standard a été acheté auprès de l'Office National des Aliments de Bétails (ONAB) de Béjaia.

### I.2. Matériel végétal

Les feuilles et les fruits de la plante de *Pistacia lentiscus* identifiés par le Pr LAOUAR H du laboratoire de botanique Université de Sétif, ont été récoltés pendant la période du mois d'avril de la région de Skikda. Ces parties ont été identifiées, nettoyées, et stockées à température ambiante à l'abri de la lumière.

### I.3. Réactifs

Les réactifs chimiques utilisés sont tous de grade analytique.

Indométacine, ferrozine [3- (2-pyridyl)-5, 6-bis (4-phenyl-sulfonicacid)-1, 2, 4-triazine], chlorure ferreux ( $\text{FeCl}_2$ ), acide ethylenediamine tétraacétique (EDTA), 2,2'-azo-bis (2-amidinopropane) HCl (AAPH), hydroxytoluene butylé (BHT) et huile de croton sont de marque Sigma (Allemagne).

Le 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), acide linoléique et  $\beta$ -carotène proviennent de Fluka (Allemagne).

Bleu d'Evans obtenue auprès de RAL reactifs (France). Les sels utilisés pour la préparation des tampons sont obtenus auprès de Panreac (Espagne). Le méthanol, l'acétone, l'acide acétique sont obtenus auprès de Prolabo (France).

### I.4. Solutions de travail

- Solution de l'huile de Croton (5,33 mg/ml) : préparée par solubilisation de l'huile de croton dans l'acétone. L'eau distillée est ensuite ajoutée jusqu'à l'obtention du rapport acétone–eau (1:1).
- Bleu d'Evans 1% : préparé dans du NaCl 0.9%.
- Acide acétique 0,7% : préparé dans du NaCl 0.9%.

- λ-carrageennane (1%), préparé dans du NaCl 0.9% stérile.
- Héparinate de lithium (50 U/ml), préparé dans du NaCl 0.9 %. La solution est aliquotés et gardée à -32°C.
- Solution tampon PBS (50mM), préparée en mélangeant progressivement la solution de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2H<sub>2</sub>O (50mM) à la solution de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2H<sub>2</sub>O (50mM) jusqu'à obtention d'un pH égale à 7,4. Le mélange obtenu est en suite supplémenté par du NaCl (150mM).
- Solution DPPH : préparée par solubilisation de 2,4mg de DPPH dans 100 ml de méthanol.
- FeCl<sub>2</sub> (0.6 mM) : préparée dans l'eau distillée.
- Ferrozine (5 IM) : préparée dans le méthanol.
- Les solutions des extraits alcooliques aqueux de *Pistacia lentiscus* et de l'indométacine utilisées dans les essais *in vivo* sont fraîchement préparées dans du NaCl 0.9%.

## **II. Méthodes**

### **II.1. Extraction et préparation des extraits**

L'extrait méthanolique des fruits et éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* ont été préparés selon la méthode de Tadeg et ses collaborateurs (2005). Les fruits de *Pistacia lentiscus* broyées sont mises à macérer dans un mélange méthanol/eau ou éthanol/eau (8:2 V/V) à un rapport de 10 g/100 ml sous agitation douce pendant 48 heures à température ambiante. L'extrait hydro-alcoolique est récupéré dans un premier temps après filtration du mélange. Le méthanol est ensuite éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite dans un rotavapor (BUCHI). L'extrait obtenu est lyophilisé (lyophilisateur PHYWE chrisa) pendant 12 heures.

L'extrait aqueux des feuilles est préparé selon la méthode de Ferreira et ses collaborateurs (2006). Cinquante grammes de poudre des feuilles de *Pistacia lentiscus* sont mises à bouillir pendant 20 minutes dans 500 ml d'eau distillée. Après filtration, la solution obtenue est lyophilisée.

### **II.2. Activité anti-inflammatoire *in vivo***

A fin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire du traitement par l'extrait alcoolique des fruits, ou l'extrait alcoolique ou aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus*, trois modèles d'inflammation aigue ont été utilisés dans les testes *in vivo*. Ainsi, l'effet topique des extraits a été testé par le modèle de l'oreille induit par l'huile de croton, et l'effet des extraits par voie *per os* a été évalué sur les modèles de la perméabilité induite par l'acide acétique chez la souris et la pleurésie induite par la carrageenane chez le rat.

### **II.2.1. Œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris**

L'œdème de l'oreille est induit par l'huile de croton, selon la méthode de Manga et ses collaborateurs (2004). Pratiquement, une inflammation cutanée a été induite sur la face interne de l'oreille droit de chaque souris, et ceci par l'application de 15µl d'une solution acétone-eau (1:1 V/V) contenant 80 µg d'huile de croton comme agent irritant. Les groupes de souris (n=10) reçoivent localement 2 mg par oreille de l'extrait méthanolique des fruits, ou de l'extrait aqueux ou éthanolique des feuilles en même temps avec l'agent irritant. Le groupe contrôle reçoit 0,5 mg d'indométacine avec l'agent irritant aussi. Les souris du groupe témoin reçoivent uniquement la solution de l'huile de croton.

L'épaisseur de l'oreille est mesurée à l'aide d'un pied à coulisse digital avant le traitement et six heures après l'induction de l'inflammation. La différence de l'épaisseur avant et après l'application de l'huile de croton est calculée. Le pourcentage d'inhibition de l'œdème est calculé par rapport au groupe témoin selon la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = [(\text{Diff épai grp témoin} - \text{Diff épai Traité}) / \text{Diff épai grp Témoin}] \times 100$$

### **II.2.2. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris**

La perméabilité vasculaire chez la souris a été évaluée selon la méthode de Kou et ses collaborateurs (2006). Cinq groupes de dix souris sont utilisés, les souris traités reçoivent un volume de 0,2 ml d'une concentration de 200 mg/Kg d'extrait méthanolique des fruits, ou d'extrait éthanolique ou aqueux des feuilles, ou 50 mg/Kg d'indométacine, par voie orale. Les souris du groupe témoin reçoivent 0,2 ml d'une solution de NaCl 0,9 %. Une heure après, les souris reçoivent une injection intraveineuse de 10 ml/kg d'une solution de bleu d'Evans 1%, suivie d'une injection intra-péritonéal de 10 ml/Kg d'acide acétique 0,7%. Trente minutes après, les souris sont sacrifiées par dislocation cervicale. Après lavage de la cavité péritonéale par 3 ml d'une solution physiologique. L'exsudat est récupéré puis centrifugée et l'absorbance du surnagent est mesurée à 610 nm contre une solution NaCl 0,9% (blanc).

Le pourcentage d'inhibition de la perméabilité vasculaire est calculé selon la formule:

$$\% \text{inhibition} = [(A_{\text{témoin}} - A_{\text{traité}}) / A_{\text{témoin}}] \times 100$$

### **II.2.3. Induction de la pleurésie chez le rat**

La pleurésie induite par la λ-carrageenane chez le rat a été évaluée selon la méthode de Cuzzocrea et ses collaborateurs (2002). Dans cette étude, des groupes de 5 à 7 rats sont formés. Les rats constituant les trois groupes tests sont traités par voie orale avec 2 ml (400 mg/kg) d'extrait méthanolique des fruits, ou d'extrait éthanolique ou aqueux des feuilles de

*Pistacia lentiscus* une heure avant l'injection de 0.2 ml de la  $\lambda$ -carrageenane à 1%. Les rats du groupe contrôle positif sont traités avec 2 ml de NaCl 0.9% par voie orale une heure avant l'injection intra-pleurale de la carrageenane. Les rats du groupe contrôle négatif reçoivent par injection dans leur cavité pleurale 0.2 ml de NaCl 0.9% stérile au lieu de la solution de  $\lambda$ -carrageenane et ne sont traités par aucune autre substance.

L'animal légèrement anesthésié par du chloroforme est soumis à une incision dermique au niveau du sixième espace intercostal droit, 0.2 ml de  $\lambda$ -carrageenane à 1% sont en suite injectés dans la cavité pleurale. L'incision est refermée par des points de sutures et l'animal est réanimé. En fin les rats sont asphyxiés 4 heures plus tard par une forte dose de chloroforme. Leur cage thoracique est prudemment ouverte, la cavité pleurale est en suite rincée par 2 ml de NaCl 0.9 % contenant de l'héparinate de lithium afin de récupérer l'exsudat qui s'est formé. Le volume de l'exsudat produit par chaque animal est déduit en appliquant la formule suivante :

$$V_{ex} = V_t - V_s$$

- $V_{ex}$ : volume de l'exsudat.
- $V_t$ : volume total récupéré.
- $V_s$ : volume de la solution de lavage.

Afin de récupérer les PMNs ayant migré vers la cavité pleurale de chaque rat, l'exsudat avec la solution de lavage récupérés dans le PBS sont soumis à une centrifugation à 1000 rpm/10 min à 4°C (Rotina R 35, Germany). Les PMNs sont alors récupérés dans le culot. Les hématies sont éliminées par une hémolyse rapide par addition de 1 ml d'eau distillée fraîche. Après 30 secondes 5 ml de PBS frais sont ajoutés. La suspension cellulaire est en suite centrifugée à 1000 rpm/10 min à 4°C. Cette opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un culot blanc. Après la dernière centrifugation, les PMNs récupérés dans le culot sont suspendus dans le PBS et gardés dans de la glace. Le nombre de PMNs se trouvant dans l'exsudat est déterminé par comptage sur une lame de Thoma.

Les pourcentages d'inhibitions de la migration des PMNs dans la cavité pleurale des rats traités par les différents extraits sont déterminés par rapport au résultat du groupe contrôle considéré comme le 100% de migration en appliquant la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = (N_C - N_T / N_C) \times 100$$

- $N_C$ : Nombre de PMNs récupérés dans la cavité pleurale des rats contrôles.
- $N_T$ : Nombre de PMNs récupérés dans la cavité pleurale des rats tests.

Le nombre de PMNs récupérés au niveau de la cavité pleurale de chaque rat est déterminé par comptage sur une cellule de Thoma. Pour cela, 50 µl de la suspension cellulaire sont rigoureusement mélangés à 450 µl de la solution turk (dilution 1/10). Une goutte de la suspension cellulaire colorée est ensuite déposée à l'aide d'une micropipette, contre une lamelle montée sur la cellule de Thoma. Les PMNs sont comptés dans les 16 carreaux de la cellule à l'aide de l'objectif X10 d'un microscope (Zeiss, Germany). La concentration cellulaire est en suite déduite par la formule suivante :

$$[C] = N \times 10 \times 10^4$$

- [C] : Nombre des cellules/ml.
- N : Nombre de cellules comptées dans les 16 carreaux.
- 10 : Le facteur de dilution.
- 10<sup>4</sup> : Facteur spécifique de la cellule de Thoma, utilisé pour obtenir le nombre de cellules dans un volume égale à un millilitre.

### II.3. Activité anti-oxydante *in vitro*

#### II.3.1. Effet scavenger du radical DPPH

Dans le test du DPPH, les antioxydants réduisent le radical DPPH (diphénylpicryl-hydrayl) ayant une couleur violette en un composé jaune (diphénylpicryl-hydrazine) dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002). Pratiquement, une solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. Un volume de 25 µL des solutions d'extraits et de l'antioxydant de référence, le BHT (hydroxytoluene butyle) sont ajoutés à 975 µL de DPPH. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm contre un blanc de méthanol. Le contrôle contient tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester qui est remplacé par un volume égale de méthanol. L'activité anti-radicalaire est déterminée selon l'équation suivante:

$$\text{Activité anti-radicalaire (\%)} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

- **Ac** : Absorbance à 517 nm du contrôle.
- **At** : Absorbance à 562 nm de l'extrait testé.

Deux autres paramètres sont introduits pour mieux caractériser le pouvoir anti-radicalaire; la concentration effective à 50% (EC50) et le pouvoir anti-radicalaire (APR = 1/EC50) (Prakash

*et al.*, 2007).

La valeur EC50 (aussi appelée IC 50) a été déterminée pour chaque extrait, est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur). Ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigé pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constituée de méthanol et DPPH. Les valeurs EC50 moyennes ont été calculées par les régressions linéaires des trois essais séparés où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par l'activité antioxydante en pourcentage (Mensor *et al.*, 2001).

### II.3.2. Chélation du fer ferreux

La capacité chélatrice des extraits est mesurée en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrozine après incubation des échantillons avec le fer divalent selon la méthode de Le et ses collaborateurs (2007).

Les solutions d'extraits et de l'antioxydant de référence l'EDTA (500 µl) sont initialement mélangés avec 100 µl de FeCl<sub>2</sub> (0.6 mM dans l'eau distillée) et 900 µl de méthanol. Après 5 min, 100 µl de Ferrozine (5 mM dans le méthanol) sont additionnées au milieu réactionnel. Le mélange est bien agité puis laissé pour réagir pendant 10 min à température ambiante permettant ainsi la complexation du fer résiduel et la formation d'un chromophore rouge (Fe(II)-Ferrozine) ayant un maximum d'absorption à 562 nm. Le contrôle négatif contient tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester qui est remplacé par un volume égale de méthanol.

Les lectures sont effectuées à 562 nm contre le méthanol. L'effet séquestrant des échantillons vis-à-vis du fer est exprimé en pourcentage de chélation selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Chélation} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

- **Ac** : Absorbance à 562 nm du contrôle
- **At** : Absorbance à 562 nm d'extrait testé

Pour une caractérisation meilleure de l'efficacité des extraits, leur activité chélatrice est exprimée en mg d'équivalent d'EDTA/g d'extrait.

Les extraits ont été utilisés à des concentrations finales allant de 0,15 à 1,2 mg/ml pour l'extrait méthanolique des fruits, entre 0,25 et 2 mg/ml pour l'extrait éthanolique des feuilles, entre 0,5 et 4 mg/ml pour l'extrait aqueux des feuilles, et de  $2 \times 10^{-3}$  à  $30 \times 10^{-3}$  mg/ml pour l'EDTA (chélateur de référence).

### II.3.3. Test de blanchissement de la $\beta$ -carotène

Dans ce test la capacité anti-oxydante des extraits est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du  $\beta$ -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique selon la méthode décrite par Kartal et ses collaborateurs (2007). L'émulsion de  $\beta$ -carotène /acide linoléique est préparée par solubilisation de 0,5 mg de  $\beta$ -carotène dans 1 ml du chloroforme, 25 $\mu$ l de l'acide linoléique et 200 mg de Tween 40 sont additionnés, le chloroforme est complètement évaporé à 40°C avec le rotavapor, par la suite 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène sont ajoutés, l'émulsion résultante est agitée vigoureusement. Un volume de 100 ou 150  $\mu$ l de solution d'extraits ou d'antioxydant de référence (BHT) à 1mg/ml sont additionnés à 2,5 ml de l'émulsion précédente. Les tubes sont chauffés à 50°C dans un bain-marie. Le contrôle négatif contient tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester qui est remplacé par un volume égale de méthanol.

La cinétique de décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant est suivie à 490 nm à des intervalles de 15 minutes pendant 2 heures, jusqu'à ce que la couleur du  $\beta$ -carotène disparaisse. L'activité anti-oxydante des extraits est calculée selon l'équation suivante :

$$AA = 100 \times [1 - (AE_0 - AE_{120}) / (AC_0 - AC_{120})]$$

- $AE_0$  : Absorbance à 490 nm d'échantillons testés à  $t = 0$  min.
- $AE_{120}$  : Absorbance à 490 nm d'échantillons testés à  $t = 120$  min.
- $AC_0$  : Absorbance à 490 nm du contrôle à  $t = 0$  min.
- $AC_{120}$  : Absorbance à 490 nm du contrôle à  $t = 120$  min.

### II.4. Analyse statistique

Les résultats *in vitro* et *in vivo* sont présentés sous forme de moyenne arithmétique (M) des n valeurs obtenues  $\pm$  l'écart moyen (SEM) [M  $\pm$  SEM]. Les valeurs des IC50 sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition =  $f$  (concentration)]. Le test t de Student est utilisé pour évaluer la signification des effets des différentes substances testées *in vitro* et *in vivo*. La différence est considérée statistiquement significative au risque 5% ( $p < 0.05$ ).

## **RESULTATS**

## **RESULTATS :**

### **I. Activité anti-inflammatoire *in vivo***

#### **I.1. Œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris**

Afin d'évaluer l'effet de l'extrait alcoolique des fruits et l'extrait alcoolique et aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur l'inflammation aigüe, le modèle de l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton a été utilisé chez la souris.

Six heures après le traitement avec la solution d'huile de croton, les souris du groupe contrôle ont développé un œdème au niveau de leur oreille droite d'une épaisseur de  $112 \pm 22 \mu\text{m}$  (figure 10).

Chez les souris du groupe traité localement par 0,5 mg d'indométacine, on remarque une réduction très significative ( $p < 0,001$ ) de l'épaisseur de l'oreille par rapport à celle des souris du groupe contrôle, et qui passe de  $112 \mu\text{m}$  à  $51 \pm 5,4 \mu\text{m}$  ce qui correspond à une inhibition de l'inflammation de 54 % (figure 10).

Le traitement des souris par 2 mg d'extrait méthanolique des fruits ou l'extrait éthanolique des feuilles induit une diminution très significative ( $p < 0,001$ ) de l'inflammation par rapport aux souris du groupe contrôle. L'épaisseur de l'oreille est de  $33 \pm 2,2 \mu\text{m}$  et de  $39 \pm 9 \mu\text{m}$ , ce qui signifie une inhibition de 70 % et 65 % respectivement. Cette inhibition est très significativement ( $p < 0,001$ ) supérieure à celle obtenue avec l'indométacine (figure 10).

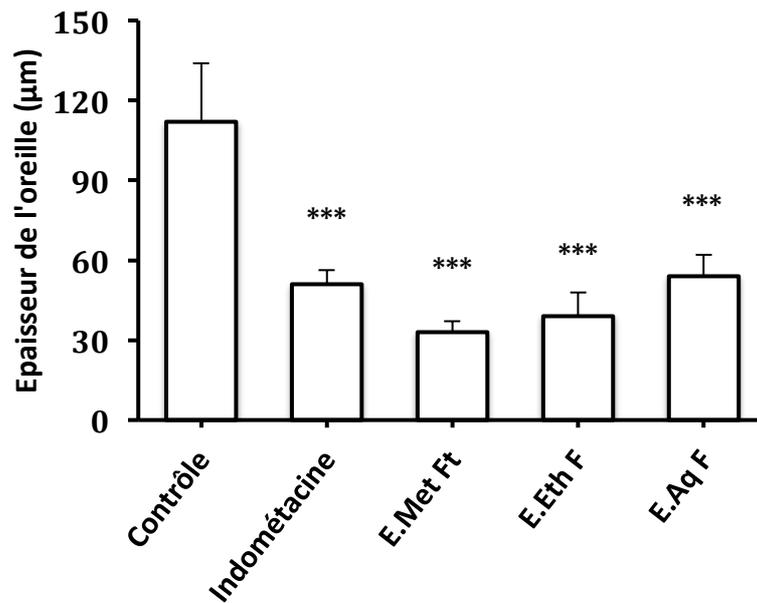
Aux doses utilisées, l'extrait aqueux des feuilles donne un effet inhibiteur plus faible que les extraits alcooliques (51 %), mais presque égal à celui de l'indométacine (figure 10).

#### **I.2. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris**

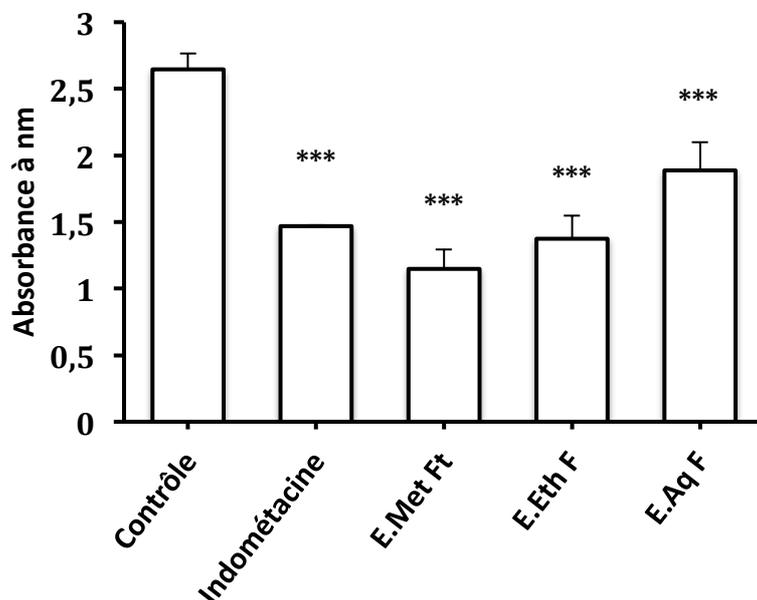
L'effet des trois extraits de *Pistacia lentiscus* sur la perméabilité vasculaire induite au niveau péritonéal par l'acide acétique a été évalué sur des souris (Kou *et al.*, 2006).

Les résultats obtenus montrent que les groupes ayant reçus un traitement avec l'extrait méthanolique des fruits, l'extrait éthanolique ou aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus*, ou l'indométacine une heure avant l'induction de l'inflammation par l'acide acétique ont réduits très significativement ( $p < 0,001$ ) leur perméabilité vasculaire au niveau péritonéal (figure 11).

Le traitement par 50 mg/kg d'indométacine induit une inhibition de la perméabilité vasculaire de 44 %. Tandis que la même valeur est obtenue avec le traitement par 200 mg/kg d'extrait éthanolique des feuilles (46 %).



**Figure 10 :** Effet des extraits des fruits et des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris. L'œdème est induit par application locale de 80 µg d'huile de croton sur la face interne de l'oreille droite. Les groupes de souris sont traités localement par l'anti-inflammatoire de référence ; l'indométacine (Ind), par l'extrait méthanolique des fruits (E.Met Ft), l'extrait éthanolique des feuilles (E.Eth F), ou par l'extrait aqueux des feuilles (E.Aq F) à des doses de 0,5 ; 2, 2, et 2 mg/oreille respectivement. Le groupe de souris contrôle reçoit uniquement la solution de l'huile de croton. La figure montre la différence de l'épaisseur 6 heures après l'induction de l'œdème. La comparaison est faite par rapport à celle du groupe témoin. Les valeurs représentent les moyennes ± SEM (n =10). \*\*\* : p < 0.0001.



**Figure 11** : Effet des extraits des fruits et des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur la perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris. La perméabilité vasculaire est induite par injection intra-péritonéale de 10 ml/Kg d'acide acétique 0,7%. Les groupes de souris sont prétraités oralement par 50 mg/kg d'indométacine, ou 200mg/kg d'extrait méthanolique des fruits (E.Met Ft), ou d'extrait éthanolique (E.Eth F) ou aqueux (E.Aq F) des feuilles à des doses de 50, 200, 200 et 200 mg/Kg respectivement. Le groupe de souris témoin reçoit uniquement du NaCl 0.9%. La figure représente l'absorbance à 610 nm du bleu d'Evans dans la solution de lavage de l'exsudat péritonéal. La comparaison est faite par rapport à celle du groupe contrôle. Les valeurs représentent les moyennes  $\pm$  SEM (n=10). \*\*\* :  $p < 0.001$ .

Le traitement par 200 mg/kg d'extrait méthanolique des fruits par voie orale provoque une inhibition de 56 % de la perméabilité vasculaire, cette inhibition est supérieure à celle obtenue avec l'indométacine (figure 11).

L'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* provoque la plus faible diminution dans la perméabilité vasculaire avec un taux de 28 % seulement (figure 11).

### **I.3. Pleurésie induite par la $\lambda$ -carrageenane chez le rat**

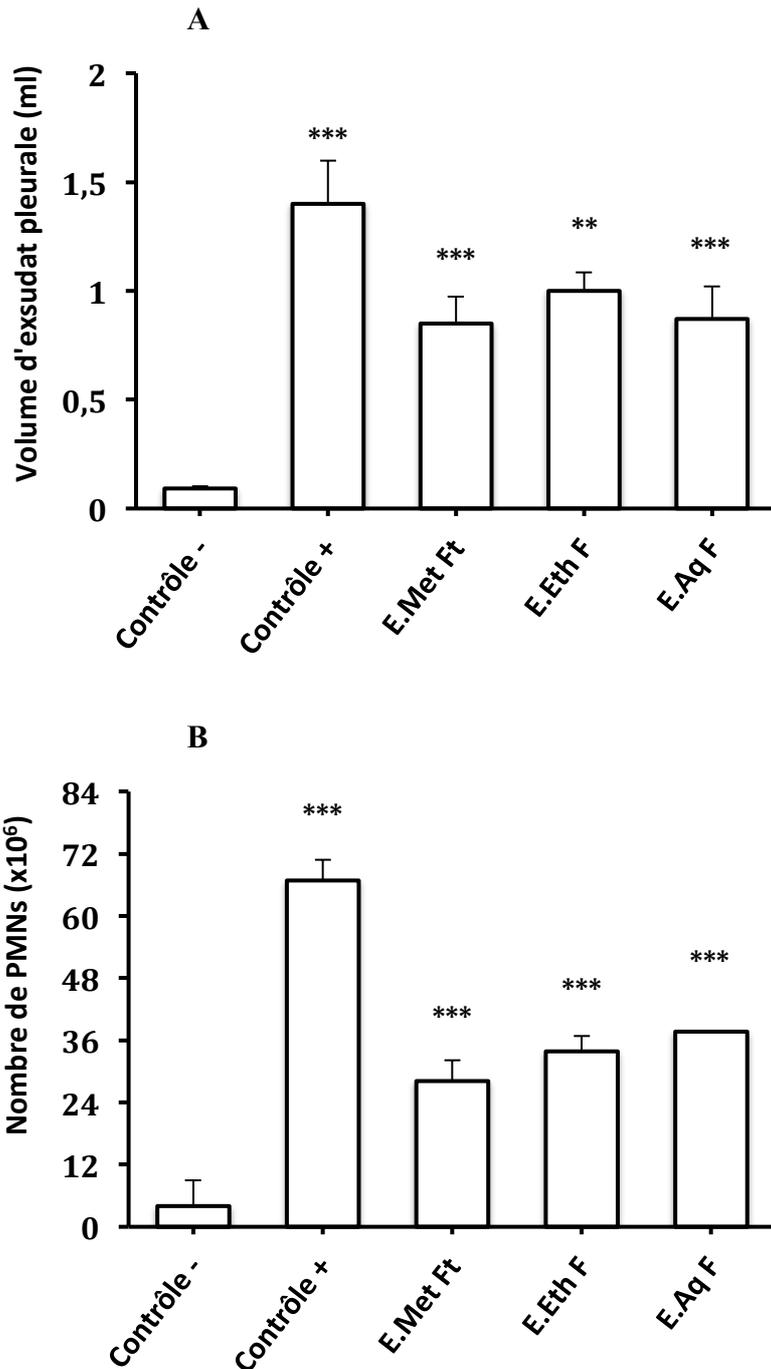
La pleurésie est induite chez le rat par injection intrapleurale de 0,2 ml de  $\lambda$ -carrageenane 1 %. Quatre heures plus tard, le volume de l'exsudat et le nombre de PMNs présents dans la cavité pleurale de chaque rat sont déterminés.

Les rats du contrôle négatif ayant reçu une injection intrapleurale de 0.2 ml du NaCl 0.9 % stérile 4 heures après l'injection du véhicule, ces rats n'ont pas produit d'exsudat au niveau de leur cavité pleurale ( $0,09 \pm 0,009$  ml). Ce volume ne représente que 6 % environ du volume produit par les rats du groupe contrôle positif ayant reçu par voie orale 2 ml du NaCl 0.9% (véhicule) une heure avant l'injection de la  $\lambda$ -carrageenane. L'infiltration des PMNs vers la cavité pleurale des rats du contrôle négatif est également très faible,  $4 \pm 1,4 \times 10^6$  PMNs/rat, soit approximativement 6 % du nombre de PMNs récupérés dans les rats du groupe contrôle positif ( $66 \pm 5 \times 10^6$  PMNs/rat) (Figure 12, 13).

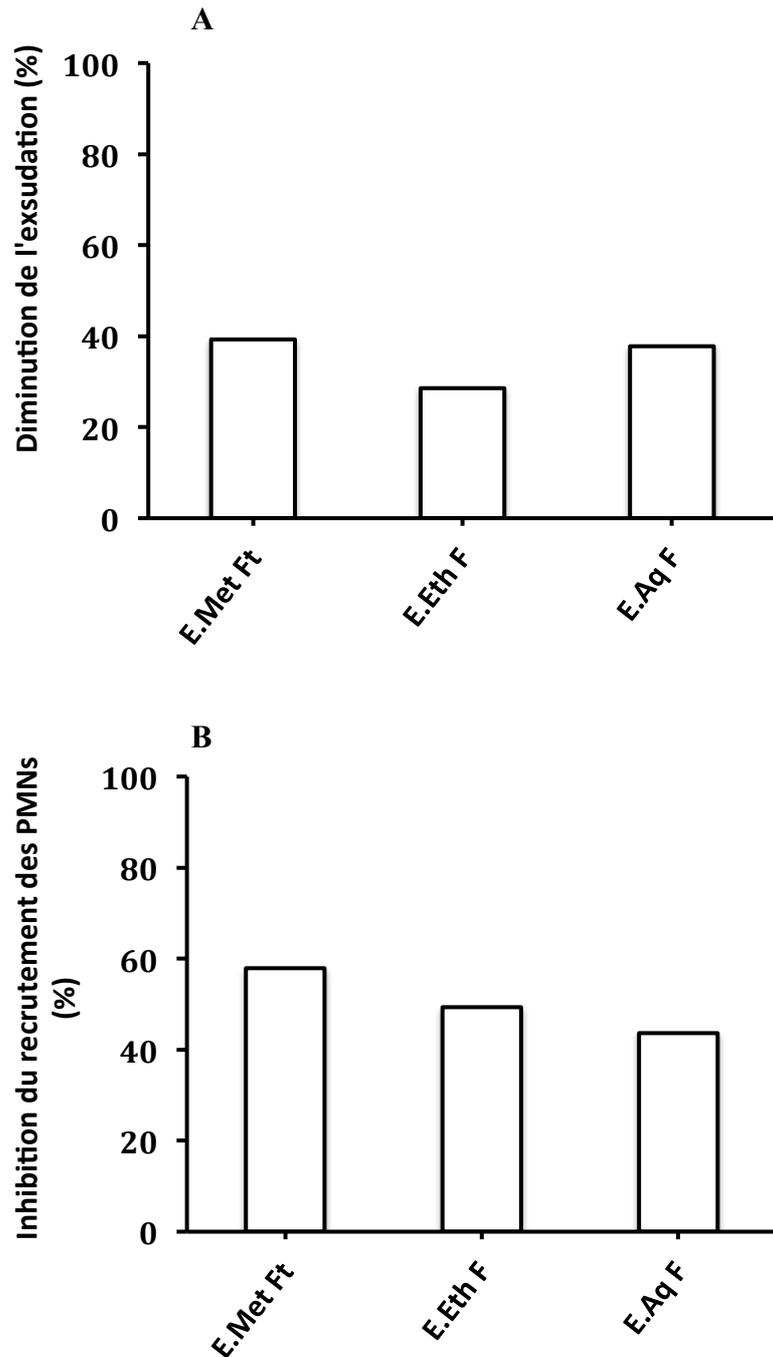
L'administration orale de 400 mg/kg d'extrait méthanolique des fruits, éthanolique ou aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* provoque une diminution très significative dans le développement de la pleurésie ( $p < 0,001$ ).

En effet, l'extrait méthanolique des fruits induit une inhibition de l'exsudation de 40 % environ par rapport aux rats du groupe contrôle positif, avec une diminution de 58 % dans le nombre de PMNs présents dans l'exsudat, seulement  $28,12 \pm 12 \times 10^6$  PMNs/rats (figure 12,13). De plus, l'extrait éthanolique des feuilles provoque une inhibition de l'exsudation de 29 % par rapport aux rats du groupe contrôle positif, avec une diminution de 49 % dans le nombre de PMNs présents dans l'exsudat, seulement  $33,86 \pm 4 \times 10^6$  PMNs/rat (figure 12,13).

Finalement, l'extrait aqueux lui aussi donne un effet inhibiteur de 38 % dans le volume d'exsudation par rapport aux rats du groupe contrôle positif, avec une diminution de 43 % dans le nombre de PMNs présents dans l'exsudat, seulement  $33,86 \pm 4 \times 10^6$  PMNs/rat (figure 12,13).



**Figure 12** : Pleurésie induite chez le rat par injection intra-pleurale de  $\lambda$ -carrageenane. Les rats sont prétraités oralement par 200 mg/kg d'extrait méthanolique des fruits (E.Met Ft), ou d'extrait éthanolique (E.Eth F) ou aqueux (E.Aq F) des feuilles, ou avec le NaCl 0.9% (contrôle positif). Les rats du contrôle négatif n'ont reçu que 0.2 ml de NaCl 0.9% stérile et n'ont reçu aucun autre traitement. **A** : Volume de l'exsudat aspiré de la cavité pleurale 4h après injection de la carrageenane. **B** : Nombre de PMNs récupérés de l'exsudat 4h après injection de la carrageenane. Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  SEM (n=7). Contrôle (-) vs  $\lambda$ -carrageenane ; \*\*\* :  $p < 0.001$  ; \*\* :  $p < 0.05$ .



**Figure 13** : Effet de l'extrait méthanolique des fruits (E.Met Ft), l'extrait éthanolique des feuilles (E.Eth F), et de l'extrait aqueux des feuilles (E.Aq F) de *Pistacia lentiscus* (200mg/kg) sur l'exsudation (**A**) et le recrutement des PMNs (**B**). Le traitement se fait 4 h après l'injection de la  $\lambda$ -carrageenane. Les résultats sont exprimés en pourcent de réduction du volume de l'exsudat (**A**) et du nombre de PMNs (**B**) récupérés de la cavité pleurale des rats traités comparé avec le contrôle positif considéré comme le 100 %. (n=7).

## II. Activité antioxydative *in vitro*

### II.1. Effet scavenger du radical DPPH

Les profils d'activité antiradicalaire obtenus révèlent que les trois extraits étudiés possèdent une activité antiradicalaire concentration dépendante (Figure 14).

Le taux d'inhibition 96 % est obtenu avec les trois extraits, mais avec des concentrations différentes. En effet, l'extrait méthanolique des fruits est doué d'une activité scavenger 30 fois plus importante que celle du BHT aux doses utilisées.

Les concentrations qui donnent 96 % d'inhibition sont de l'ordre de 12,5, 20 et 200 µg/ml pour l'extrait méthanolique des fruits, éthanolique et aqueux des feuilles respectivement.

Le tableau 6 montre les concentrations inhibitrices à 50 % (IC50), la concentration effective à 50 % (EC50), et le pouvoir antiradicalaire (PAR) des trois extraits en plus du BHT.

**Tableau 6.** Activité antiradicalaire des extraits de *Pistacia lentiscus* et du BHT vis-à-vis le radical DPPH. E.Met : extrait méthanolique, E.Eth: extrait éthanolique, E.Aq : extrait aqueux. Les valeurs représentent les moyennes ± SEM.

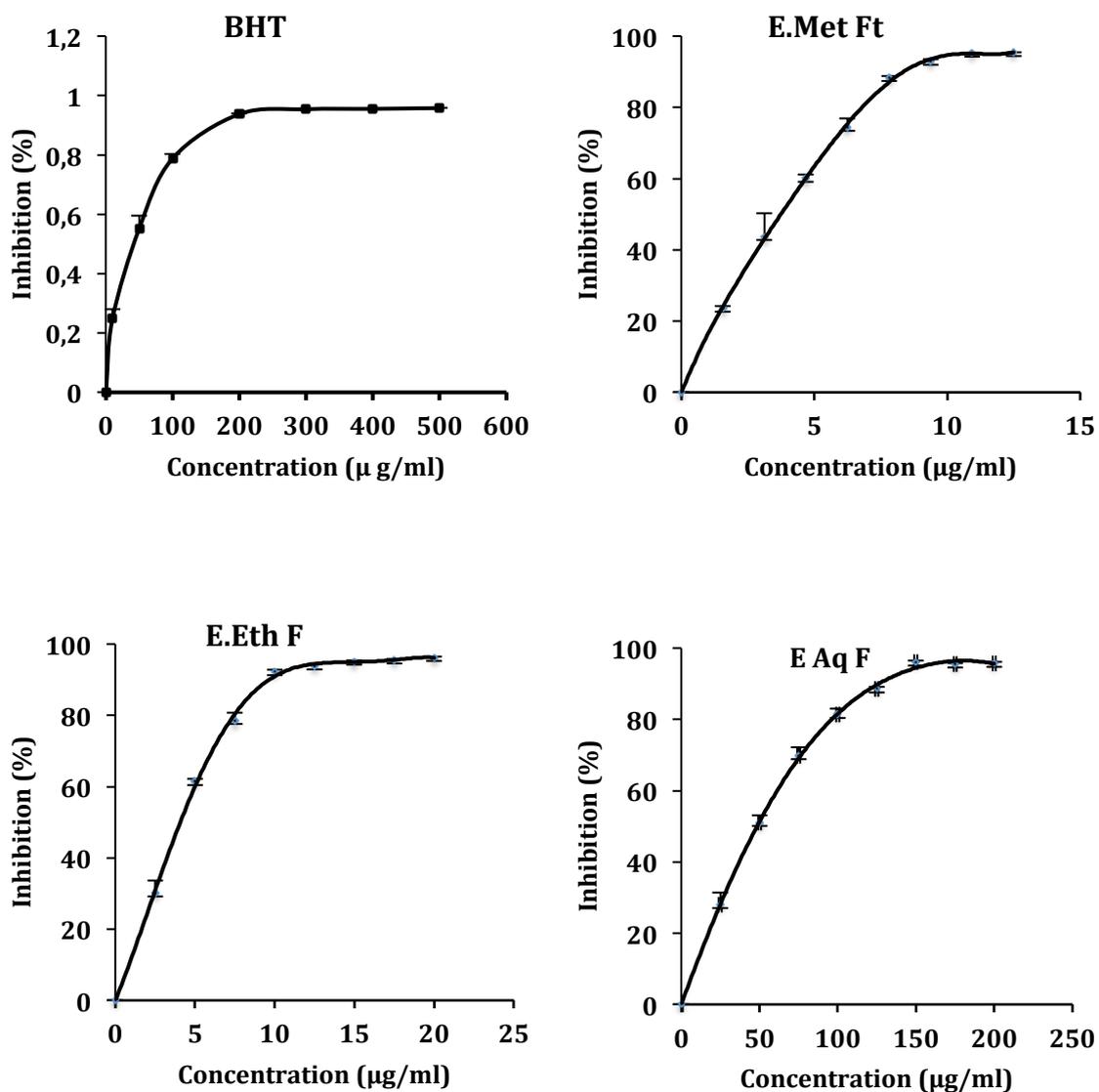
	IC50 (µg/ml)	EC50 (µg/µg DPPH)	APR
BHT	54,29 ± 1,99	2,26 ± 0,06	0,44 ± 0,01
E.Met des fruits	3,69 ± 0,12	0,15 ± 0,01	6,51 ± 0,17
E.Eth des feuilles	4,23 ± 0,14	0,18 ± 0,01	5,68 ± 0,16
E.Aq des feuilles	51,66 ± 3,91	2,15 ± 3,90	0,47 ± 0,04

### II.2. Chélation du fer ferreux

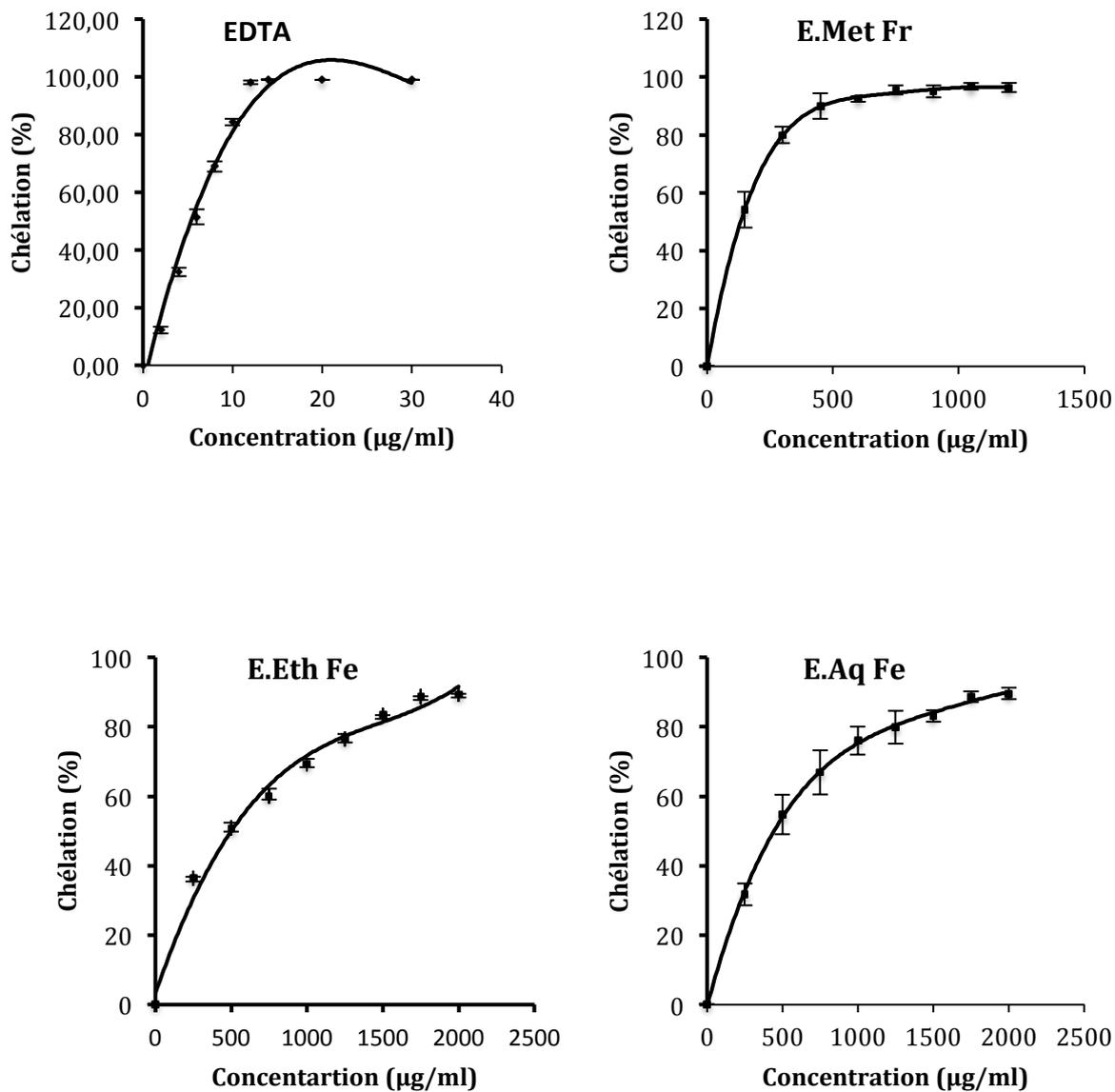
La chélation du fer ferreux a été évaluée en utilisant la ferrozine qui forme un complexe avec le fer résiduel dans le milieu réactionnel et forme un chromophore rouge (Fe (II) -Ferrozine) ayant un maximum d'absorption à 562 nm.

Les absorbances obtenues montrent que seuls l'extrait méthanolique des fruits et l'extrait éthanolique des feuilles possèdent une activité chélatrice importante vis-à-vis de l'ion ferreux (Figure 15).

Une chélation maximale de 99 % du fer ferreux est obtenue avec une concentration de 14 µg/ml d'EDTA. L'extrait méthanolique des fruits à 1050 µg/ml exerce une chélation maximale de 96 % tandis que l'extrait éthanolique des feuilles donne une chélation maximale de 89 % à une concentration de 2000 µg/ml. L'extrait aqueux des feuilles ne donne une chélation maximale de 89 % qu'à une concentration de 3500 µg/ml.



**Figure 14:** Activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique des fruits (E.Met Ft), de l'extrait éthanolique des feuilles (E.Eth F), et de l'extrait aqueux des feuilles (E.Aq F) de *Pistacia lentiscus* et de BHT vis-à-vis du radical DPPH. Les valeurs représentent les  $\pm$  SEM.



**Figure 15 :** Activité chélatrice des extraits de *Pistacia lentiscus* et de l'EDTA vis-à-vis du fer ferreux, exprimé en pourcentage de chélation. Extrait méthanolique des fruits (E.Met Ft), extrait éthanolique des feuilles (E.Eth F), et extrait aqueux des feuilles (E.Aq F). Les valeurs représentent les moyennes  $\pm$ SEM.

Le tableau 7 donne les valeurs d' IC50 obtenues avec l'EDTA, et les trois extraits de *Pistacia lentiscus*, ainsi que leur activité chélatrice exprimée en mg d'équivalent d'EDTA/g d'extrait.

**Tableau 7.** Activité chélatrice des extraits de *Pistacia lentiscus* et l'EDTA vis-à-vis du fer ferreux. E.Met : extrait méthanolique, E.Eth: extrait éthanolique, E.Aq : extrait aqueux. Les valeurs représentent les moyennes  $\pm$  SEM.

	IC50 ( $\mu\text{g/ml}$ )	Activité chélatrice (mg EDTA/g d'extrait)
EDTA	5,93 $\pm$ 0,15	
E.Met des fruits	195,74 $\pm$ 17,02	30,65 $\pm$ 2,62
E.Eth des feuilles	572,33 $\pm$ 54,78	10,46 $\pm$ 0,93
E.Aq des feuilles	1117,63 $\pm$ 95,08	5,36 $\pm$ 0,48

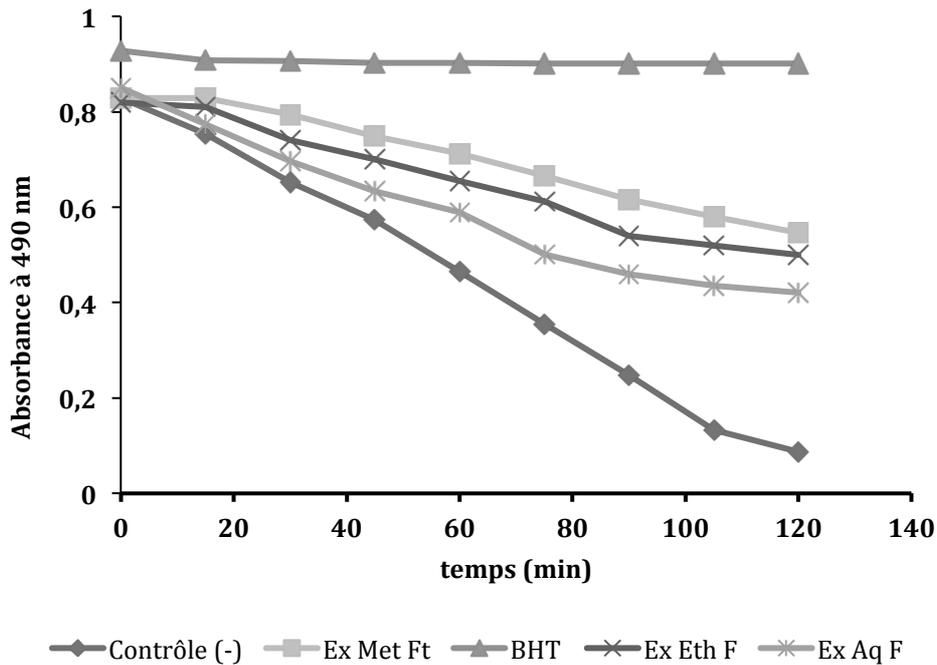
### II.3. Test du $\beta$ -carotène

La présence d'antioxydants pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du  $\beta$ -carotène. La cinétique de blanchissement du  $\beta$ -carotène en absence et en présence des extraits de *Pistacia lentiscus*, d'antioxydants standard et les activités antioxydantes (AA) sont représentées dans les Figures 16 et 17.

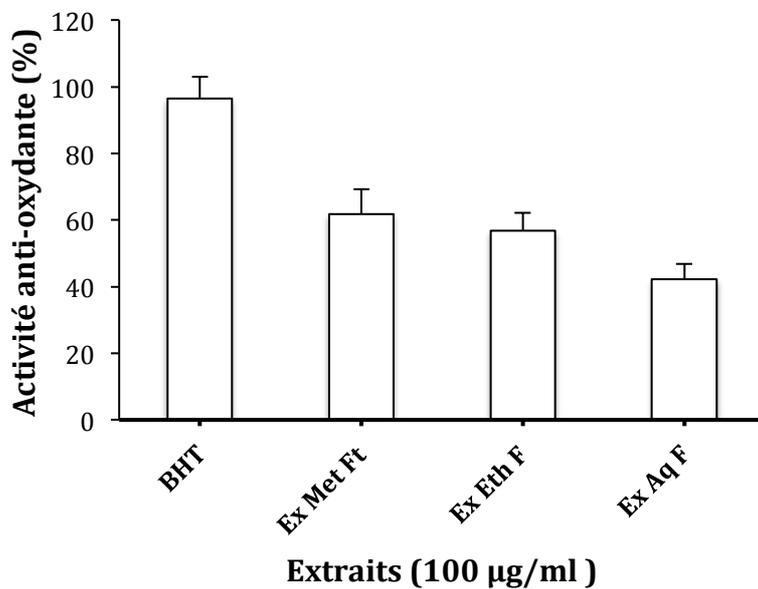
D'après ces résultats, il est évident que tous les standards et les extraits testés inhibent significativement ( $p < 0,01$ ) l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du  $\beta$ -carotène par rapport au contrôle négatif qui représente 97 % d'inhibition de blanchiment du  $\beta$ -carotène.

Avec des concentrations de 100  $\mu\text{g/ml}$  d'extraits, un taux 62 % d'inhibition de blanchiment de  $\beta$ -carotène est obtenu avec l'extrait méthanolique des fruits, tandis que l'extrait éthanolique des feuilles inhibe la blanchiment du  $\beta$ -carotène de 57 %, de plus, une inhibition intermédiaire de 42 % est obtenue avec l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus*.

Cependant, les résultats obtenus en utilisant des concentrations de 150  $\mu\text{g/ml}$  pour les extraits, ces résultats ne montrent pas une grande augmentation dans l'inhibition de blanchiment du  $\beta$ -carotène, seulement une augmentation de presque 10 % est obtenue alors que l'augmentation dans les concentrations est de 50 % (résultats non représentés schématiquement).



**Figure 16** : Cinétique de blanchissement du  $\beta$ -carotène à 490 nm en absence et en présence des extraits de *Pistacia lentiscus*, ou du BHT. L'extrait méthanolique des fruits (E.Met Ft), l'extrait éthanolique des feuilles (E.Eth F), ou par l'extrait aqueux des feuilles (E.Aq F). Les valeurs représentent les moyennes  $\pm$  SEM.



**Figure 17** : Activité anti-oxydante des extraits de *Pistacia lentiscus*, du BHT dans le système  $\beta$ -carotène/acide linoléique. Les valeurs représentent les moyennes  $\pm$  SEM.

## **DISCUSSION**

## **Discussion :**

### **I. Activité anti-inflammatoire *in vivo***

#### **I.1. Œdème de l'oreille**

L'inflammation aiguë est caractérisée par des symptômes classiques, comme la chaleur, la rougeur, le gonflement et la douleur. La mesure de l'œdème est donc un excellent outil pour la quantification de l'inflammation cutanée, induite par les agents phlogistique comme l'huile de croton. L'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton est une méthode largement utilisée pour étudier le processus inflammatoire de la peau, ainsi qu'identifier les agents anti-inflammatoires qui pourraient être utiles dans le traitement des troubles de la peau, et dans la recherche d'extraits et de composés anti-inflammatoires qui agissent à différents niveaux (Cabrini *et al.*, 2011).

Ce test nous a fourni des preuves que l'extrait méthanolique des fruits ainsi que l'extrait éthanolique des feuilles ont un effet anti-inflammatoire topique dans ce modèle d'inflammation cutanée chez la souris.

L'huile de croton est un agent phlogistique extrait de *Croton tiglium* L., il a un effet irritant sur la peau. L'application topique de cette huile qui contient des esters de phorbol, dont le principale est le 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA), induit une réaction inflammatoire aiguë caractérisée par une vasodilatation, infiltration des leucocytes polynucléaires dans les tissus, une augmentation dans l'IL-1 $\beta$  et la formation de l'œdème. Comme elle augmente l'activité de la xanthine oxydase et de peroxydation lipidique (Rahman *et al.*, 2011). L'épaisseur de l'œdème atteint son maximum 6 heures après l'application (Michel *et al.*, 2005). Ces changements sont déclenchés par la protéine kinase C (PKC), qui favorise une augmentation de l'activité de la phospholipase A2 (PLA2) (Wang *et al.*, 2002 ; Rahman *et al.*, 2011). La PLA2 catalyse l'hydrolyse des phospholipides membranaires en acide arachidonique, ce dernier est impliqué dans la synthèse des eicosanoïdes, prostaglandines et leucotriènes, ce qui constitue la première étape dans la réaction inflammatoire (Murakami *et al.*, 2005; Sato *et al.*, 2009). En outre, la PKC favorise également la sécrétion et l'activation de plusieurs médiateurs immunitaires comme les cytokines et les chemokines qui augmentent et maintiennent la réponse inflammatoire de la peau (Denning, 2004).

Lors du traitement de nos souris par 0,5 mg d'indométacine, cet anti-inflammatoire de référence induit une inhibition significative de l'inflammation de 54 %, ce résultat est similaire à celui obtenu par d'autres équipes (Han *et al.*, 2007).

Le traitement local des souris par les extraits alcooliques des fruits et des feuilles de *Pistacia lentiscus* (200mg/kg) conduit à une réduction significative de la taille de l'œdème par rapport à celle obtenue par l'indométacine. A la même dose, l'extrait aqueux des feuilles (200mg/kg) induit une inhibition plus faible que celle des extraits alcooliques.

Plusieurs mécanismes peuvent expliquer l'effet anti-inflammatoire observé par les extraits alcooliques des fruits et des feuilles, ainsi que l'effet de l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* bien que l'effet de ce dernier n'ait pas été aussi impressionnant que les deux extraits alcooliques.

En effet, la présence de tanins dans les fruits et les feuilles de *Pistacia lentiscus* est en partie responsable de cet effet. Selon Kim et ses collaborateurs (2006), l'acide gallique et ses dérivés sont responsables de l'inhibition de l'activation du p38 MAPK, et l'inhibition de la fixation du NF- $\kappa$ B, essentiels pour l'expression des cytokines pro-inflammatoires telles que l'histamine, TNF- $\alpha$  et IL-6. En plus, la capacité des tanins d'inhiber la phospholipase A2 est déjà établie, ce qui va participer à l'inhibition de prostaglandines et des leucotriènes (Glaser *et al.*, 1995; Chandra *et al.*, 2007; da Silva *et al.*, 2008). Cependant, la différence des niveaux d'inhibition entre les deux extraits alcooliques est probablement dû à la différence de solubilité des tanins dans les deux alcools (méthanol et éthanol), en effet, Daneshfar et ses collaborateurs (2008) montrent que l'acide gallique est plus soluble dans le méthanol que dans l'éthanol et l'eau respectivement, ce qui peut expliquer les différences d'inhibition remarquées entre les différents extraits.

Les flavonoïdes trouvés lors des criblages photochimiques (Romani *et al.*, 2002 ; Luigia *et al.*, 2007), peuvent expliquer cet effet anti-inflammatoire. En effet, l'application topique de la quercétine et la myricétine exerce une forte inhibition sur la cyclooxygénase (COX) et la lipooxygénase (Kim *et al.*, 1998). De plus, Xagorari et ses collaborateurs (2001) identifient le luteolin, présent dans les feuilles, comme le plus puissant flavonoïde testé dans l'inhibition du TNF- $\alpha$ , l'activation du NF- $\kappa$ B induite par lipopolysaccharide (LPS), et l'activation du AP-1.

La genistéine trouvée dans les feuilles de *Pistacia Lentiscus* inhibe la réaction inflammatoire induite par le TPA par le contrôle de la MAP kinase et/ou de la COX2 (Hwang *et al.*, 2009), il a été démontré aussi que la genistéine inhibe l'activation du STAT-1, NF- $\kappa$ B, l'expression d'iNOS ainsi que la production des NO (Mari Hämäläinen *et al.*, 2007)

Selon Conforti et ses collaborateurs (2008), la diminution de l'œdème de l'oreille est probablement due à la présence de composés dotés d'activité antioxydante comme l'anthocyanine, sachant que les espèces oxygénées réactives produites au cours de l'inflammation par les cellules phagocytaires, et durant le métabolisme de l'acide

arachidonique peuvent également activer la phospholipase A2 (Linda *et al.*, 2004; Geronikaki *et al.*, 2006). Les phytostérols trouvés dans les plantes, tel que le  $\beta$ -sitostérol ou le stigmastérol, ont une activité anti-inflammatoire topique vis-à-vis du TPA (Garcia *et al.*, 1999).

## **I.2. Perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique**

La perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique induit une augmentation en contenu péritonéal de prostaglandine ( $PGE_{2\alpha}$  et  $PGF_{2\alpha}$ ), sérotonine et histamine (Chen-Xiao *et al.*, 2011). Ceci conduit à une dilatation des artérioles et des veinules et une augmentation de la perméabilité vasculaire (Vogel et Vogel, 1997), une contraction et une séparation des cellules endothéliales en exposant la membrane basale, et par conséquent, l'extravasation des protéines plasmatiques vers la cavité péritonéale (Choi *et al.*, 2006; Okoli *et al.*, 2007).

Le prétraitement des souris par l'indométacine (0,5 mg/kg) réduit significativement la perméabilité vasculaire, avec un taux de 44 %. L'indométacine est un inhibiteur non sélectif de la cyclooxygénase 1 et 2 (COX-1 et COX-2). L'expression de la COX-2 durant l'inflammation est responsable de l'augmentation de production de prostaglandine  $PGE_2$ . En plus, l'indométacine inhibe la migration des cellules inflammatoires (Phelps *et al.*, 1971; Blackham *et al.*, 1975) et l'expression des molécules d'adhésion cellulaire (Endemann *et al.*, 1997; Diaz-Gonzalez *et al.*, 1998).

Le prétraitement des souris par les extraits alcooliques des fruits et des feuilles de *Pistacia lentiscus* confirment que ces deux extraits ont une activité anti-inflammatoire. Ces deux extraits inhibent significativement la perméabilité vasculaire chez les souris. Cette inhibition est statistiquement supérieure à celle obtenue par l'indométacine pour l'extrait méthanolique des fruits, et égale pour l'extrait éthanolique des feuilles, et plus faible pour l'extrait aqueux des feuilles.

La capacité d'inhiber la perméabilité vasculaire par les extraits alcooliques indique qu'ils sont aptes à moduler et contrôler l'amplification de la réaction inflammatoire.

La présence de tanins, anthocyanines, et flavonoïdes dans les fruits et les feuilles de *Pistacia lentiscus* contribuent à cet effet anti-inflammatoire, ces composés ont le pouvoir d'inhiber la production de médiateurs pro-inflammatoires tel que les leucotriènes, et les prostaglandines ( $PGI_2$ ,  $PGD_2$  et  $PGE_2$ ).

Les tanins présents dans les fruits et les feuilles de *Pistacia lentiscus* contribuent probablement à cet effet en inhibant la voie MAPK, ainsi que l'expression et la fixation du NF- $\kappa$ B, d'où l'inhibition de l'expression des gènes pro-inflammatoires et la production des

médiateurs inflammatoires comme le NO (Glaser *et al.*, 1995; Chandra *et al.*, 2007; da Silva *et al.*, 2008).

La présence des anthocyanidines permet d'expliquer la diminution de la perméabilité vasculaire, en effet, les anthocyanines réduisent la fragilité et perméabilité capillaire deux fois plus que la rutine, dans l'intensité et la durée. Aussi, les anthocyanines empêchent la libération et la synthèse de composés pro-inflammatoires tel que histamines, sérines, protéases, prostaglandines, et leucotriènes. Wang et ses collaborateurs (1999) ont montré que la cyanine inhibe les deux isoformes COX-1 et COX-2. Ces travaux ne montrent pas seulement un effet anti-inflammatoire excellent comparé au AINS (supérieur à l'aspirine), mais une meilleure inhibition de la COX-2.

Finalement, plusieurs acides gras tel que l'acide linoléique, acide myristique, acide palmitique, et acide stéarique, tous présents dans les fruits de *Pistacia lentiscus*, sont capables d'inhiber l'activité de la COX-1 et COX-2 (Calixto *et al.*, 2003).

### **I.3. Pleurésie induite par la $\lambda$ -carrageenane**

L'inflammation aiguë induite chez le rat par l'injection de la  $\lambda$ -carrageenane est un modèle standard et pratique, largement utilisé pour l'évaluation des propriétés anti-inflammatoires de différents agents (Cuzzocrea *et al.*, 1998 ; Jilroy *et al.*, 1999).

Le mécanisme cellulaire et moléculaire par lequel la  $\lambda$ -carrageenane induit le processus inflammatoire est connu. Elle stimule la libération de l'histamine et de la sérotonine par les mastocytes, débutant par cela une cascade d'évènements qui produisent d'autres médiateurs qui contribuent à l'établissement de la réaction inflammatoire aiguë (Cuzzocrea *et al.*, 1998). En effet, la carrageenane induit au cours de la phase précoce (1-2h) de la réaction inflammatoire, la production de facteurs pro-inflammatoires tels que l'histamine, la sérotonine, les leucotriènes, le PAF et les prostanoïdes. Ces facteurs provoquent des modifications vasculaires qui conduisent à l'exsudation plasmatique. Durant la phase tardive de ce processus inflammatoire (4-12h), ces facteurs chimioattractants induisent le recrutement des neutrophiles par chimiotactisme envers le site inflammatoire, où ils libèrent leur arsenal cytotoxique et d'autres médiateurs inflammatoires (Dawson *et al.*, 1991 ; Cuzzocrea *et al.*, 2000a, b).

Deux populations de cellules inflammatoires interviennent au cours de l'inflammation induite par la carrageenane. Les neutrophiles prédominent durant les 12 premières heures. Ils sont en suite remplacés par les monocytes qui se différencient en macrophages tissulaires. Ces mononucléaires dominent alors la réaction inflammatoire jusqu'à sa résolution après 48 heures (Jilroy *et al.*, 1999). L'infiltration des PMNs vers la cavité pleurale des rats durant les

4 premières heures qui suivent l'injection de la  $\lambda$ -carrageenane a été exploitée dans la présente étude pour évaluer l'effet anti-inflammatoire *in vivo* des extraits alcooliques des fruits et des feuilles ainsi que l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus*. Nous avons observé que l'administration orale de ces extraits aux rats, atténue significativement le développement de la pleurésie. En effet, le volume de l'exsudat et le nombre de PMNs ayant migré vers la cavité pleurale de ces rats ont été significativement réduits.

En plus de leurs inhibition de la production des médiateurs pro-inflammatoire, les métabolites secondaires des fruits et les feuilles de *Pistacia lentiscus* inhibent le recrutement des neutrophiles vers la cavité pleurale par l'inhibition de l'expression des molécules d'adhésions sur la paroi des cellules endothéliales des veines (Anné *et al.*, 1994)

Les anthocyanines bloquent la migration des leucocytes au site inflammatoire par l'inhibition des molécules d'adhésion ICAM-1 et VCAM-1, et ceci par la régulation du TNF- $\alpha$ . Tsuda et ses collaborateurs (2002) rapportent que l'administration du cyanidine 3-O- $\beta$ -glucoside inhibe l'inflammation induite par le zymosan. Aussi, le traitement par la cyanidine 3-O- $\beta$ -glucoside réduit l'augmentation des concentrations de NO, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , et CINC-1 (cytokine-inducec neutrophil chemoattractant 1). De plus, la cyanidine 3-O- $\beta$ -glucoside normalise les niveaux de plusieurs protéines de la phase aiguë, incluant  $\alpha_2$ -macroglobuline, albumine, et transferrine (Calixto *et al.*, 2004).

Les flavonoïdes inhibent la migration des leucocytes en bloquant leur adhésion à la paroi vasculaire (Manthey, 2000 ; Middleton *et al.*, 2000). Cet effet serait dû à l'inhibition de la synthèse de l'IL-1 et le TNF- $\alpha$ , principaux inducteurs de l'expression des molécules adhésives sur la paroi vasculaire (Cho *et al.*, 2000). Il a été rapporté en effet, que la quercétine bloque l'adhésion des leucocytes à la paroi endothéliale des veines ombilicale par l'inhibition de l'expression des ICAM-1 (Anné *et al.*, 1994).

L'acide gallique à son tour inhibe la migration des leucocytes en inhibant les molécules d'adhésion VCAM-1, ICAM-1, et E-selectin dans les cellules endothéliales vasculaires, cette inhibition est dû à l'inhibition l'IL-1, TNF- $\alpha$ , et le NF- $\kappa$ B (Takatoshi *et al.*, 1999).

Prenant ces données ensemble, les extraits alcooliques des fruits et des feuilles ainsi que l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* exerceraient leur effet anti-pleurétique par la réduction de la production des médiateurs inflammatoires impliqués dans le déroulement des étapes de la réaction inflammatoire aiguë induite par la  $\lambda$ -carrageenane, ainsi que par l'inhibition du recrutement des leucocytes vers la cavité pleurale en exerçant des effets anti-chimioattractants sur ces derniers.

## II. Activité antioxydante *in vitro*

### II.1. Effet scavenger du radical DPPH

Lorsqu'une solution de DPPH est mélangée avec une substance qui peut donner un atome d'hydrogène, cela donne lieu à la forme réduite (2) avec une perte de la couleur violette.

La décoloration sera directement proportionnelle au nombre de protons captés et peut être suivie par la lecture de l'absorbance du milieu réactionnel à 517 nm. Elle permet d'évaluer le taux de réduction du DPPH et fournit donc un moyen pratique pour mesurer le pouvoir antioxydant des extraits étudiés.

De nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des flavonoïdes et leur capacité antioxydante, les flavonoïdes les plus actifs sont ceux qui renferment des groupements 3'-4' dihydroxy sur le cycle B et/ou un groupement 3 OH sur le cycle C (Amic *et al.*, 2003).

Les résultats obtenus par ce test montrent que l'extrait méthanolique des fruits ainsi que l'extrait éthanolique des feuilles présentent un effet antioxydant remarquable vis à vis du radical DPPH. En effet, les extraits méthanolique des fruits, éthanolique et aqueux des feuilles présentent des IC<sub>50</sub> de  $3,69 \pm 1,99$ ,  $4,23 \pm 0,14$  et  $51,66 \pm 3,91$  µg/ml respectivement (APR~6,5, APR~6 et APR~0,5 respectivement). Ce pouvoir anti-oxydant est fort probablement dû aux composés phénoliques présents dans les fruits et les feuilles de *Pistacia lentiscus*, et qui sont connus comme substances antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (Kelly *et al.*, 2002).

Dans leurs travaux, Luigia et ses collaborateurs (2008) ont montré que les anthocyanines présentes dans les fruits de *Pistacia lentiscus* piègent à 92 % le radical DPPH pour une concentration de 0,005 mg/ml (sachant que le contenu total en anthocyanine dans les fruits de *Pistacia lentiscus* est de 0,05 µg/kg de fruits), effet comparable à celui de l'α-tocophérol. Ces mêmes auteurs suggèrent que cette activité scavenger est probablement due à la présence du monoglucoside de delphinidin, qui possède l'activité scavenger la plus élevée parmi les anthocyanines présentes dans les fruits de *Pistacia lentiscus*.

Bhourri et ses collaborateurs (2010) notent que l'acide digallic, isolé de l'extrait aqueux des fruits de *Pistacia lentiscus*, a une activité potentielle vis-à-vis le radical ABTS<sup>+</sup> pour une concentration de 0,15 et 0,2 mg/ml. Ceci peut être expliqué par le fait que la molécule de l'acide digallic qui est un flavonoïde riche en groupements hydroxyles et les flavonoïdes stabilisent les espèces réactives de l'oxygène en réagissant avec le composé réactif du radical. En sachant que les fruits de *Pistacia lentiscus* sont caractérisés par la présence de flavonoles

et dérivés galloyl, est qui inclus galloyl-glucosides, ellagitannins et acides galloyl-quinic. Ce dernier constat est confirmé en 2011 par Bhoury et ses collaborateurs, où ils montrent que l'acide digallic isolé des fruits de la plante est un scavenger très efficace vis-à-vis le radical DPPH avec une IC50 de 0.035 µg/ml.

Les travaux de Baratto et ses collaborateurs (2003) montrent que les dérivés quinic 3,5-O-digalloyl quinic, 3,4,5-O-trigalloyl quinic, acide gallique, et le 5-O-galloyl quinic, extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus* ont une activité scavenger importante vis-à-vis du radical DPPH. La présence de l'α-tocophérol (0,005308 %) dans les feuilles de *Pistacia Lentiscus*, explique l'activité antioxydante des extraits (Kivaçak et Akay, 2005).

## II.2. Chélation du fer ferreux

L'activité chélatrice est très importante du fait qu'elle réduit la concentration des métaux de transitions catalyseurs de la peroxydation lipidique. En effet, le fer peut stimuler l'oxydation des lipides par la réaction de Fenton, et accélère également cette oxydation en décomposant les hydroperoxydes en radicaux peroxyles et alcoxyles qui peuvent à leur tour entretenir la réaction de peroxydation lipidique (Elmastas et al, 2006).

Les résultats obtenus par ce test montrent que les extraits alcooliques de *Pistacia lentiscus* possèdent une activité chélatrice dose dépendante en capturant les ions ferreux avant qu'ils soient complexés avec la ferrozine, cette activité est très faible par rapport à celle de l'EDTA, elle est encore plus faible pour l'extrait aqueux des feuilles.

À partir des profils de chélation obtenus (Figure 15), il semble que la linéarité des tracés avant la saturation est plus importante dans le cas de l'EDTA; ligand hexadénate dont la constante de liaison avec le fer est de l'ordre de  $4,9 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$  (Kolayli *et al.*, 2004 ). Cependant pour les extraits cette linéarité est moins importante. Cela reflète simplement la nature complexe des extraits contenant un ou plusieurs chélateurs ayant des affinités différentes pour le fer, en concurrence avec la Ferrozine. Toutefois, l'effet chélateur est saturable à la haute concentration d'extrait.

L'activité plus au moins élevée de l'extrait méthanolique des fruits et l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* par rapport à l'extrait aqueux des feuilles est probablement due à la présence de composés chélateurs dans les deux premiers extraits. En effet, Wissem et ses collaborateurs (2008) rapportent que les tanins présents dans les fruits de *Pistacia lentiscus* sont caractérisés par leur action chélatrice. De plus, l'anthocyanines présentes dans les fruits de *Pistacia lentiscus* on déjà prouvés leurs pouvoir chélateur envers les métaux, et leurs effets protecteurs contre la peroxydation est lié a la capacité de fixer le fer (Ilhami *et al.*, 2005).

Cependant, la composition phytochimique des feuilles de *Pistacia lentiscus* (Romani *et al.*, 2002) peut expliquer l'effet chélateur de l'extrait éthanolique du fait de la présence de flavonoïdes dont l'activité chélatrice est déjà établie dans des études précédentes (Frei *et al.*, 2003; Přemysl *et al.*, 2011)

Gulaçti et ses collaborateurs (2007) ont montré que l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia terebinthus* a une activité chélatrice comparable à celle obtenue avec la quercétine, et ceci est due à la présence de composés phénoliques et de flavonoïdes.

Ces constatations pourraient indiquer que non seulement les composés phénoliques qui sont à l'origine de la principale activité chélatrice, mais en fait c'est un mélange d'acides organiques, d'acides aminés et de sucres qui peuvent contribuer à la séquestration des métaux de transition (Wong *et al.*, 2006).

### **II.3. Test de blanchissement du $\beta$ -carotène**

Dans cette analyse la capacité antioxydante de l'extrait méthanolique des fruits, éthanolique ou aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* a été déterminée par la mesure de l'inhibition des composés organiques volatils et les hydro-péroxydes conjugués diène résultant de l'oxydation de l'acide linoléique (Tepe *et al.*, 2006).

Les fruits et les feuilles de *Pistacia lentiscus* sont riches en composés polyphénoliques (Romani *et al.*, 2002 ; Luigia *et al.*, 2007). Les polyphénols trouvés dans les fruits de *Pistacia lentiscus* sont des flavonoïdes de type  $\alpha$ -aglycones et  $\beta$ -glycosides (Hamad *et al.*, 2011) et anthocyanine (majoritairement le cyanidine 3-O-glucoside) (Luigia *et al.*, 2007), alors que les feuilles sont riches en myricétine, quercétine, isoflavone et acides phénoliques tous doués d'activité antioxydantes.

Takahama (1983) a montré que les flavonoïdes ont la capacité de terminer la réaction en chaîne de la peroxydation des lipides par le piégeage du radical peroxyde LOH.

Plusieurs travaux suggèrent que les phytostérols comme le stigmastérol sont responsables, en partie, de la prévention du développement des maladies dûes aux espèces réactives oxygénées (Vivacons et Moreno, 2005). De plus, Yoshida et Niki (2003) ont montré l'effet antioxydant des phytostérols  $\beta$ -sitostérol, stigmastérol, et campestérol, contre la peroxydation 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).

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).

## **CONCLUSION GENERALE**

## Conclusion générale:

L'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de *Pistacia lentiscus* ont été évalués dans ce travail. Les résultats obtenus montrent que les extraits ont une activité anti-inflammatoire et antioxydante. Cependant, cette activité est différente selon le degré de solubilité des composés secondaires de *Pistacia lentiscus*.

*In vivo*, l'extrait méthanolique des fruits et l'extrait éthanolique des feuilles montrent une activité anti-inflammatoire importante par rapport à l'extrait aqueux des feuilles. En effet, lors du test d'inhibition du développement de l'œdème de l'oreille induit par l'huile de croton chez la souris permet de conclure que l'extrait méthanolique des fruits et l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* appliqués localement possèdent un effet anti-inflammatoire significativement supérieur à celui de l'indométacine, alors que l'extrait aqueux des feuilles à un effet anti-inflammatoire moins important que les deux extraits alcooliques aux doses utilisées.

Ces résultats sont confirmés lors des tests de perméabilité chez les souris et la pleurésie chez les rats, ce dernier test suggère aussi que nos extraits inhibent le recrutement des cellules immunitaires dans le site inflammatoire.

Les tests antioxydants *in vitro* montrent aussi que les extraits alcooliques et aqueux ont une activité antioxydante vis-à-vis le radical DPPH, un effet chélateur pas très important vis-à-vis du fer ferreux, et un effet protecteur contre l'oxydation de l'acide linoléique couplée à celle du  $\beta$ -carotène.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire et antioxydante des extraits de *Pistacia lentiscus* montre que cette plante possède un pouvoir pharmacologique, ce qui supporte son usage traditionnel pour le soulagement de diverses affections inflammatoires.

Les résultats obtenus lors de cette étude sont intéressants, mais des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires de ces effets. Ces études doivent être aussi orientées vers la détermination des composés actifs dans les extraits de *Pistacia lentiscus* et l'évaluation leurs effets sur les de signalisations impliqués dans le processus inflammatoire, ainsi que les enzymes impliquées dans la production des espèces oxygénées réactives.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## Références bibliographiques

- Abdel-Rahman A and Soad A (1975). Mastic as antioxidant. *J Am Oil Chem Soc*, 52, 423.
- Al-said, M, Ageel A, Parmar N and Tarik M (1986). Evaluation of mastic a crude drug obtained from *Pistacia lentiscus* for gastric and duodenal anti-ulcer activity. *J Ethnopharmacol*, 15, 271-278.
- Ali-Shtayeh MS, Yaghmour R, Faidi, Y, Salem K and Al-Nuri M (1998). Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the palestinian area. *J Ethnopharmacol*, 60, 265-271.
- Ali-Shtayeh MS, Yaniv Z and Mahajna J (2000). Ethnobotanical survey in the palestinian area: a classification of the healing potential of medicinal plants. *J Ethnopharmacol*, 73, 221-232.
- Amic D, Davidovic-Amic D, Beslo D and Trinajstic N (2003). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemical Acta*, 76, 55-61.
- Anné S, Agarwal M, Nair MP, Schwartz SA, Ballow M, Kandaswami C and Middleton E Jr (1994). Inhibition of endotoxin-induced expression of intercellular adhesion molecule-1 and leukocyte adhesion to endothelial cells by plants flavonoids quercetin. *J Allergy Clin Immunol*, 93, 276.
- Antal Diana Simona, Garban Gabriela and Garban Zeno (2003). The anthocyanins : biologically active substance of food and pharmaceutical interest. *The annals of the university of dunarea de Jos of Galatani, Fascicle IV-Food technology*, 106-115.
- Baratto Maria Camilla, Massimiliano Tattinib, Carlotta Galardic, Patrizia Pinellic, Annalisa Romanic, Francesco Visiolid, Riccardo Basosia and Rebecca Pogni (2003). Antioxidant activity of galloyl quinic derivatives isolated from *P. lentiscus* Leaves. *Free Radic Res*, 37 (4), 405-412.
- Barnes Peter J (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids : molecular mechanisms. *Clinical Science*, 94, 557-572.
- Barton G M (2008) A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *J Clin Invest*, 118, 413-420.
- Bartosikova , Necas, Suchy and Kubinova (2003). Antioxydative effects of morine in ischemia, reperfusion of kidney in the laboratory. *Drug and Chemical Toxicology*, 72, 87-94.
- Bernard Weill and Frédéric Batteux (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. *De Boeck Supérieur*, 23
- Besle J, Lamaison J, Pradel P, Fraisse D, Viala D and Martin B (2004). Les flavonoïdes, des fourrages au lait. *Renc Rech Ruminants*, 11, 67-70.
- Bhourri Wissem, Ines Skandrani, Mohamed Ben Sghair, Marie-Geneviève Djoux Franca, Kamel Ghedira and Leila Chekir Ghedira (2011). Digallic acid from *Pistacia lentiscus* fruits induces apoptosis and enhances antioxidant activities. *Phytother Res*, Epub.
- Bhourri Wissem, Safa Derbel, Ines Skandrani, Jihed Boubaker, Ines Bouhlel, Mohamed B. Sghaier, Soumaya Kilani, Anne M. Mariotte, Marie G. Dijoux-Franca, Kamel Ghedira and

- Leila Chekir Ghedira (2010). Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia Lentiscus* fruits. *Toxicol In Vitro*, 24, 509–515.
- Bianchi M E (2007). DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol*, 81, 1-5.
- Blackham A, and Owen RT (1975). Prostaglandin synthetase inhibitors and leukocyte emigration. *J. Pharm. Pharmacol*, 27, 201-202
- Blain, Jouzeau, Netter and Jeandel (2000). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. *Rev Méd Interne*, 21, 978-88.
- Bruneton J (1999). Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales, 3eme édition, Tec et Doc (ED) Paris, 658-666.
- Burt, A D and Smith TW (2001). Healing and repair. In: Macsween, R.M.N., Whaley, K. (Eds.), Muir's Textbook Of Pathology, 13th Ed. Thomas Press Ltd., India, 132–143.
- Cabrini Daniela Almeida, Henrique Hungermoresco, Priscila Imazu, Cintia Delai Da Silva, Evelise Fernandes Pietrovski, Daniel Augusto Gasparin Buenomendes, Arthur Da Silveira Prudente, Moacir Geraldo Pizzolatti, Inês Maria Costa Brighente and Andmichel Fleith Otuki (2011). Analysis of the potential topical anti inflammatory activity of averrhoa carambola l. In mice. *Evid Based Complement Alternat Med*. Epub :908059.
- Calixto JB, Campos MM, Otuki MF and Santos AR (2003). Anti-Inflammatory Compounds of Plant Origin. Part I. Action on Arachidonic Acid Pathway, Nitric Oxide and Nuclear Factor  $\kappa$  B (NF- $\kappa$ B). *Planta Med*, 69, 973-983.
- Calixto JB, Campos MM, Otuki MF and Santos AR (2004). Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part II. modulation of pro-inflammatory cytokines, chemokines and adhesion molecules. *Planta Med*, 70(2). 93-103.
- Cao G, Sofic E and Prior R L (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids. Structure–activity relationships. *Free Radic Biol Med*, 22(5), 749–760.
- Chandra Inns, Ponnappa Kc, Sadashiva Ct, Priya Bs, Nanda Bl, Gowda Tv, Vishwanath Bs and Rangappa Ks (2007). Chemistry and structural evaluation of different phospholipase a<sub>2</sub> inhibitors in arachidonic acid pathway mediated inflammation and snake venom toxicity. *Curr Top Med Chem*, 7, 787-800.
- Charles N Serhan, Peter A Ward and Derek W Gilroy (2010). Fundamentals of Inflammation. *Cambridge University Press*, 2-3.
- Chen-Xiao Zhang, Zi-Ru Dai and Qiu-Xing Cai. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of *Sipunculus nudus* L. Extract. *Available Online 22 July 2011*
- Chia-Fung K, Shun C and Burgess JR (1995). Deficiency of vitamin E and selenium enhances calcium-independent phospholipase A<sub>2</sub> activity in rat lung and liver. *The journal of nutrition*, 125(6), 1419-1429.
- Cho KJ, Yun CH, Yoon DY, Cho YS, Rimbach G, Packer L and Chung AS (2000). Effect of bioflavonoids extracts from the bark of *Pinus maritime* on proinflammatory cytokine interleukin-1 production in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7. *Toxicol Appl Pharmacol*, 168, 64-71.

- Choi JH, Jung B H, Kang O H, Choi H J, Park P S, Cho S H, Kim Y C, Sohn D H, Park H, Lee JH and Kwon D Y. (2006). The anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of ethyl acetate fraction of *Cynanchi paniculati Radix*. *Biol Pharm Bull*, 29, 971–975.
- Chung KT, Wong TY, Wei CI, Huang YW and Lin Y (1998). Tannins and human health: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 38(6), 421-64.
- Conforti F, Sosa S, Marrelli M, Menichini F, Statti G A, Uzunov D, Tubaro, A Menichini F and Della Loggia R (2008). In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of mediterranean dietary plants. *J Ethnopharmacol*, 116, 144–151
- Congiu Raffaele, Falconieri Danilo, Bruno Marongiu, Alessandra Piras and Silvia Porcedda (2002). Extraction and isolation of *Pistacia lentiscus* L. essential oil by supercritical CO<sub>2</sub>. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(4), 239–244.
- Coste H (1937). Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes. Second Tirage, Paris - Librairie des Sciences et des Arts.
- Cotran R S, Kumar V and Collins T (1999). *Robbin's Pathological Basis Of Disease*, 6th Ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 54–92.
- Cushine T P T and Lamb A J (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agent*, 26, 343-356.
- Cuzzocrea S, Mazzon E, Calabro G, Dugo L, De Sabro A, Van De Loo Faj and Caputi Ap (2000a). Inducible nitric oxide synthase-knockout mice exhibit resistance to pleurisy and lung injury caused by carrageenan. *Am Respir Crit Care Med*, 162, 1859-1866.
- Cuzzocrea S, Santagati S, Sautebin L, Mazzon E, Calabro G, Serraino I, Caputi Ap and Maggi A (2000b). 17 $\beta$ -Estradiol anti-inflammatory activity in carrageenan-induced pleurisy. *Endocrinol*, 141(4), 1455-1463.
- Cuzzocrea S, Zingarelli B, Hake P, Salzman Al and Szabo C (1998). Anti-inflammatory effects of mercaptoethylguanidine, a combined inhibitor of nitric oxide synthase and peroxynitrite scavenger, in carrageenan-induced models of inflammation. *Free Radic Biol Med*, 24(3), 450-459.
- Da Silva SI, Calgarotto Ak, Chaar Js and Marangoni S (2008). Isolation and characterization of ellagic acid derivatives isolated from *Casearia Sylvestris* Sw aqueous extract with anti-pla<sub>2</sub> activity. *Toxicon*, 52, 655-666.
- Daneshfar Ali, Ghaziaskar Hassan S and Homayoun Nasrolah (2008). Solubility of Gallic Acid in Methanol, Ethanol, Water, and Ethyl Acetate, *J Chem Eng Data*, 53(3), 776-778.
- Daniela Impellizzeri, Emanuela Esposito, Emanuela Mazzon, Irene Paterniti, Rosanna Di Paola, Valeria Maria, Antonio Procopio, Domenico Britti and Cuzzocrea (2011). Oleuropein aglycone, an olive oil compound, ameliorates development of arthritis caused by injection of collagen type ii in the mice. *J Pharmacol Exp Ther*. Epub, PMID: 21880869.
- Das H C, Wang J H and Lien E (1994). Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoides: a structure system-activity relation ship analysis. *Journal of Food Engineering*, 69, 133-136.

- Dawson J, Sedgwick Ad, Edwards Jew and Lees P (1991). A comparative study of the cellular, exudative and histological responses to carrageenan, dextran and zymosan in the mouse. *Int J Tissue React*, 13(4), 171-185.
- Dedoussis, G, Kaliora A, Psarras S, Chiou A, Mylona A, Papadopoulos N and Andrikopoulos N K (2004). Antiatherogenic effect of Pistacia lentiscus via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis*, 174, 293-303.
- Defraigne J and Pincemail C (2008). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev Med Liège*; 63, 10-19.
- Delattre J, Beaudeau JL and Bonnefont-Rousselot (2005). Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*, 1- 405.
- Denning M F (2004). Epidermal keratinocytes: regulation of multiple cell phenotypes by multiple protein kinase c isoforms. *Int J Biochem Cell Biol*, 36 (7), 1141–1146.
- Deodhar SD, Sethi R and Srimal RC (1980). Preliminary study on antirheumatic activity of curcumin. *Indian J Med Res*, 71, 632-634.
- Diaz-Gonzalez, and Sanchez-Madrid (1998). Inhibition of leukocyte adhesion: An alternative mechanism Of Action For Anti-inflammatory Drugs. *Immunol Today*, 19, 169-172.
- Dina Atmani, Nassima Chaher, Meriem Berboucha, Karima Ayouni, Hakima Lounis, Hania Boudaoud, Nadjet Debbache and Djebbar Atmani (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected algerian medicinal plants. *Food Chem*, 112, 303–309.
- Dob T, Dahmane D and Chelghoum C (2006). Chemical Composition of the Essential Oils of Pistacia lentiscus L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 17, 642-644.
- Elmastas M, Gulcin I, Isildak O, Kufrevioglu O I, Ibaoglu K, and Aboul-Enein, H. Y. (2006). Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts. *Journal Of The Iranian Chemical Society*, 3(3), 258–266.
- Endemann G, Abe Y, Bryant C M, Feng Y, Smith C W and Liu D Y (1997). Novel anti-inflammatory compounds induce shedding of L-selectin and block primary capture of neutrophils under flow conditions. *J. Immunol*, 158, 4879-4885.
- Favier A (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanisme chimique*, 108-115.
- Ferreira A, Proenc C, Serralheiro M L M and Araujo M E M (2006). The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J of Ethnopharmacol*, 108, 31–37.
- Ferreria A, Proenca C, Serralheiro M L M and Araujo M E M (2006). The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plant from portugal. *J Ethnopharmacol*, 108: 31-37.
- Flynn DL and Rafferty MF (1986). Inhibition of human neutrophil 5-lipoxygenase activity by gingerdione, shogaol, capsaicin and related pungent compounds. *Prostaglandins Leukotr Med*, 24, 195-198.
- Formica J V and Regelson W (1995). Review of the biology of quercetine and related bioflavonoids. *Food Chem Toxicol*, 33, 1061-1080.

- Frei B and Higdon Jv (2003) . Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. *J Nutr*, 133(10), 3275-3284.
- Frutos P, Hervás G, F Giráldez and A Mantecón (2004). Review : Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2 (2), 191-202.
- Galdino Pm, Nascimento Mvm, Sampaio Bl, Ferreira Rn, Paula Jr and Costa Ea (2009). Antidepressant-like effect of *Lafoensia pacari* a. St.hil. Ethanolic extract and fractions in mice. *J Ethnopharmacol*, 124, 581-585.
- García MD, Saenz MT, Gomez MA and Fernandez MA (1999) Topical Antiinflammatory Activity of Phytosterols Isolated from *Eryngium foetidum* on Chronic and Acute Inflammation Models. *Phytother. Res.* 13, 78–80.
- Gardeli C, Papageorgiou V, Mallouchos A, Theodosis K and Komaitis M (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107, 1120-1130.
- Geronikaki AA and Gavalas AM (2006). Antioxidants and inflammatory disease: synthetic and natural antioxidants with anti-inflammatory activity. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 9, 425-442.
- Ghedira K (2005). Flavonoids: structure, biological activities, prophylactic function and therapeutic uses. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
- Glaser KB, Sung MI, Hartman Da, Lock YW Bauer J, Walter T, Carlson RP (1995). Cellular and topical in vivo inflammatory murine models in the evaluation of inhibitors of phospholipase A<sub>2</sub>. *Skin Pharmacol*, 8, 300-308.
- Govindarajan VS and Sathyanarayana MN (1991). Capsicum production, technology, chemistry, and quality. Part V. Impact on physiology, pharmacology, nutrition, and metabolism; structure, pungency, pain, and desensitization sequences. *Food Science and Nutrition*, 29, 435-474.
- Grant wyllie S, Joseph J Brophy, Vassilios Sarafis and Hobbs (1990). Volatile Components of the Fruit of *Pistacia Lentiscus*. *Journal of Food Science*, 55 (5), 1325–1326.
- Gulaçtı Topçu, Mehmet Ay, Ali Bilici, Cengiz Sarikurkcu, Mehmet Ozturk and Ayhan Ulubelen (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia Terebinthus*. *Food Chem*, 103, 816–822.
- Halliwell A, Gutteridge M C (1990). The antioxidant of human extracellular fluids. *Archives of biochemistry and biophysics*, 280, 1-8.
- Halliwell B and J M C Gutteridge (1999). Free radicals in biology and medicine (3rd ed.), *Oxford University Press*, 1-60.
- Hamad H Hasan, Ibrahim H Habib, Mariam H Gonaïd and Mojahidul (2011). Comparative phytochemical and antimicrobial investigation of some plants growing in al jabal al-akhdar. *J Nat Prod Plant Resour*, 1 (1), 15-23.
- Hämäläinen M, Nieminen R, Vuorela P, Heinonen M and Moilanen E (2007). Anti-inflammatory effects of flavonoids: genistein, kaempferol, quercetin, and daidzein inhibit STAT-1 and NF-kappaB activations, whereas flavone, isorhamnetin, naringenin, and pelargonidin inhibit only NF-kappaB activation along with their inhibitory effect on iNOS

- expression and NO production in activated macrophages. *Mediators Inflamm.* Epub : 45673.
- Han T, Li H L, Zhang QY, Han P, Zheng H C, Rahman K and Qin L P (2007). Bioactivity-Guided Fractionation For Anti-Inflammatory And Analgesic Properties And Constituents Of *Xanthium Strumarium* L. *Phytomedicine*, 14, 825–829
- Hiermann A, Schramm Hw and Laufer S (1998). Anti-inflammatory activity of myricetin-3-o-beta-d-glucuronide and related compounds. *Inflamm Res*, 47 (11), 421-7.
- Huwez F U and Al-Habbal M J (1986). Mastic in the treatment of benin gastric ulcers. *Gastroenterologia Japonica*, 21, 273-274.
- Hwang Jin-Tack, Yun-Kyoung Lee, Jang-In Shin, and Ock Jin Park (2009). Anti inflammatory and anticarcinogenic effect of genistein alone or in combination with capsaicin in tpa-treated rat mammary glands or mammary cancer cell line. *Ann N Y Acad Sci*, 1171, 415–420
- Ilhami G, Dali Berashvili and Akç Gepdiremen (2005). Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from *Perilla pankinensis* decne. *J Ethnopharmacol*, 101, 287–293.
- Jacob Vaya and Saeed Mahmood (2006). Flavonoid content in leaf extracts of the fig (*Ficus carica* L.), carob (*Ceratonia siliqua* L.) and pistachio (*Pistacia Lentiscus* L.). *Biofactors*, 28 (4), 169-175.
- Janakat S and Al-Merie H (2002). Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*. *J Ethnopharmacol*, 83, 135-138.
- Januario A H, Santos S L, Marcussi S, Mazzi M, Pietro R C L R, Sato D N, Ellena J, Sampaio S V, Franca S and Soares A (2004). Neo-clerodane diterpenoid, a new metalloprotease snake venom inhibitor from *Baccharis trimera* (Asteraceae): antiproteolytic and anti-hemorrhagic properties. *Chemico-Biological Interactions*, 150, 243-251.
- Jilroy D, Colvillr-Nash PR, Willis D, Chivers J, Paul-Clark MJ and Willoughby DA (1999). Inducible cyclooxygenase may have anti-inflammatory properties. *Nat Med*, 5(6), 698-701.
- Kalpakcioglu B and Senel K (2008). The interrelation of glutathione reductase, catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and glucose-6-phosphate in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 27, 141 -145.
- Kartal N, Sokmen M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M and Sokmen A (2007) Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chemistry*, 100, 584–589.
- Kelly E Heim, Anthony R Tagliaferro and Dennis J Bobilya (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572–584.
- Kelly E Heim, Anthony R Tagliaferro, Dennis J Bobilya (2002). Flavonoid Antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem*, 13, 572–584
- Kim H P, Son K H, Chang H W and kong S S (2004). Antiinflammatory plant flavonoids and cellular action macanism. *J Pharmacol .Sci*, 96, 229-254.

- Kim HP, Mani I, Iversen L, Ziboh V (1998). Effects of naturally-occurring flavonoids and biflavonoids on epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase from guinea-pigs. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 58(1), 17-24
- Kim HP, Son KH, Chang HW and Kuang SS (1996). Flavonoids: Potential anti-inflammatory agents. *Nat Prod Sci*, 2(1), 1-8.
- Kim Sang-Hyun, Chang-Duk Jun, Kyongho Suk, Byung-Ju Choi, Hyunjeung Lim, Seunja Park, Seung Ho Lee, Hye-Young Shin, Dae-Keun Kim and Tae-Yong Shin (2006). Gallic acid inhibits histamine release and pro-inflammatory cytokine production in mast cells. *Toxicol Sci*, 91 (1), 123-131.
- Kiuchi F, Iwakami S and Shibuya M (1992). Inhibition of prostaglandin and leukotriene biosynthesis by gingerols and diarylheptanoids. *Chem Pharm Bull*, 40, 387-391.
- Kivçak and Akay S (2005). Quantitative Determination Of alpha-Tocopherol In *Pistacia Lentiscus*, *Pistacia Lentiscus* Var. Chia, and *Pistacia Terebinthus* by Tlc-Densitometry and colorimetry. *Fitoterapia*, 76, 62–66.
- Kohen R and Nyska A (2002). Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*, 30(6), 620-650.
- Kolayli S, Ocak M, Kucuk M and Abbasoglu R (2004). Does caffeine bind to metal ions. *Food Chem*, 84, 383-388.
- Kordali S, Cakir A, Zengin H and Duru M (2003). Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in turkey. *Fitoterapia*, 74, 164-167.
- Kou J, Si M, Dai G, Lin Y and Zhu D (2006). Antiinflammatory activity of *Polygala japonica* extract. *Fitoterapi*, 77, 411–415.
- Kumar Vinay, Abul K Abbas, Nelson Fausto and Richard Mitchell (2007). *Robbins Basic Pathology*, 8th Edition, 20-60
- Le K, Chiu F and Ng K (2007) Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, 105, 353-363.
- Le K, Chiu F and Ng K (2007).identification and quantification of antioxidants in *Fructus Lycii*. *Food Chem*, 105, 353-363
- Lev E and Amar Z (2002). Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in the Kingdom of Jordan. *J Ethnopharmacol*, 82, 131-145.
- Li K, Geng, Simonsen J and Karchesy (2004). Novel wood adhesives from condensed tannins and polyethylenimine. *Internationa Journal of Adhesion and Adhesives*, 24, 327-333.
- Linda S, Einbonda, Kurta Reynertsona, Xiao-Dongluoa, Margaretj Basileb, Edward J and Kennelly (2004). Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food Chem*, 84, 23–28.
- Liyana-Pathirana C and Shahidi F (2006). Antioxydant propertes of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum Aestivium* L.) And their milling fractions. *J Sci Food Agric*, 86, 477-485.

- Luigia Longo, Francesca Platini, Anna Scardino, Oscar Alabiso, Giuseppe Vasapollo and Luciana Tessitore (2008). Autophagy inhibition enhances anthocyanin-induced apoptosis in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer Ther*, 7, 2476-2485.
- Luigia Longo, Scardino Anna and Vasapollo Giuseppe (2007). Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrina* L. *Innovative Food Science And Emerging Technologies*, 8 (3), 360-364.
- Maataoui BS, Hunyeur A and Hilalis (2006). Activités Antiradicalaires d'extraits De Jus De Fruits Du Figuier De Barbarie (*Opuntia Ficus Indica*). *Lebanese Science Journal*, 7(1), 3-8.
- Magiatis P, Melliou E, Skaltsounis A, Chinou I B and Mitaku S (1999). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* var.chia. *Planta Med*, 65, 749-751.
- Manga H M, Brkic D, Marie D E P and Quetin-Leclercq J (2004). In vivo anti-inflammatory activity of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *J Ethnopharmacol*, 92, 209–214.
- Manna Sk, Mukhopadhyay A and Aggarwal Bb (2000). Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF-kappaB, activator protein-1, and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation. *J Immunol*, 164(12), 6509-6519.
- Manthey JM (2000). Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirc*, 7, 28-34.
- Manthey JM (2000). Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirc*, 7, 28-34.
- Marner FJ, Freyer A and Lex, J (1991). Triterpenoids from gum mastic, the resin of *Pistacia Lentiscus*. *Phytochemistry* 30, 3709-3712.
- Marone P, Bono, Leone, Bona, Carretto and Perversi (2001). Bactericidal activity of *Pistacia lentiscus* mastic gum against *Helicobacter pylori*. *Journal of Chemotherapy*, 13, 611-614.
- Mazza Giuseppe and Miniati Enrico (1992). Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains. CRC Press, 1st edition, 30-34
- Medzhitov R (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454, 428-435.
- Michel F Otuki, Fabiana Vieira-Limab, Angela Malheiros, Rosendo A Yunesb and Joao B Calixto (2005). Topical antiinflammatory effects of the ether extract from *Protium Kleinii* and a-amyrin pentacyclic triterpene. *Eur J Pharmacol*, 507, 253–259
- Middleton E JR, Kandaswami C and Heoradies TC (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacol Rev*, 52, 673-751.
- Middleton E JR, Kandaswami C and heoradies TC (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacol Rev*, 52, 673-751.

- Mira L, Fernandez MT, Santos M, Rocha R, Florencio MH and Jennings KR (2002). Interactions of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity. *Free Radic Res*, 36(11), 1199-1208.
- Molyneux P (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (dpph) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar J Sci Technol*, 26(2), 211-219.
- Moon JK and Shibamoto T (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *J Agric Food Chem*. 57(5), 1655-1666.
- More D and White J (2005). Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde, Flammarion, 18-24.
- Mosquera O, Correa Y, Buitrago D and Nino J (2007). Antioxidant activity of twenty five plants from colombian biodiversity. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 102, 631- 634.
- Murakami M, Masuda S, Shimbara S, Ishikawa Y, Ishii T and Kudo I (2005). Cellular distribution, post-translational modification, and tumorigenic potential of human group III secreted phospholipase A(2). *J Biol Chem*, 280, 24987-24998.
- Nathan C (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420, 846-852.
- Nicolas Jean-François, Florence Cousin and Jean Thivolet (2001). Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. *John Libbey Eurotext*, 2001, 55-58.
- Nizamutdinova IT, Kim YM, Chung JI, Shin SC, Jeong YK, Seo HG, Lee JH, Chang KC and Kim HJ (2009). Anthocyanins from black soybean seed coats preferentially inhibit TNF- $\alpha$ -mediated induction of VCAM-1 over ICAM-1 through the regulation of GATAs and IRF-1. *J Agric Food Chem*, 57(16):7324-7330.
- Nourshargh Sussan, Fritz Krombach, and Elisabetta Dejana (2006). The role of JAM-A and PECAM-1 in modulating leukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues. *Journal of Leukocyte Biology*, 80, 714-718.
- Okamura H, Mimura A and Yakou Y (1993). Antioxydant activity of Tannins and flavonoid in *Eucalyptus rostarta*. *Phytochem*, 33, 557-561.
- Okuda T, Kimura Y, Yoshida T and Hatanv T (1983). Studies on the activities of tannins And Related coumpounds from medicinal plant and drugs. Inhibition effects of lipid peroxidation in mithchordria and microsome of liver. *Chem pharm Bull*, 31, 1625-1631.
- Ong Kian C and Khoo Hoon-Eng (1997). Biological effects of myricetin. *General Pharmacology: The Vascular System*, 29(2), 121-126.
- Özlem Tokuşoglu, Mustafa Kemal Ünal, and Fadim Yemiş (2005). Determination of the phytoalexin resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) in peanuts and pistachios by high-performance liquid chromatographic diode array (HPLC-DAD) and gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). *J Agric Food Chem*, 53(12), 5003-5009
- Palevitch D and Yaniv Z (2000). Medicinal plants of the Holy Land. *Modan Publishing House*, 9-88.
- Papageorgiou V P, Bakola, Christianopoulou N M and Apazidou K K (1997). Gas chromatographymass spectroscopic analysis of the acidic triterpenic fraction of mastic gum. *Journal of Chromatography*, 729, 263-273.

- Paraschos S, Magiatis P, Mitaku S, Petraki K, Kaliaropoulos A, Maragoudakis P, Mentis A, Sgouras and Skaltsounis (2007). In vitro and in vivo activity of chios mastic gum extracts and constituents against *Helicobacter pylori*. *Antimicrob. Agents Chemother*, 51, 551-559.
- Parma NS, Kumar P and Rajesh KT (2004). Early signs of oxidative stress in wheat plants subjected to zinc deficiency. *Journal of plant nutrition*, 27(3), 451-463.
- Phelps P, and Mccarty DJ (1971). Suppressive effect of indomethacin on crystal-induced inflammation in canine joints and on neutrophilic motility *in vitro*. *J Pharmacol Exp Ther*, 158, 546-553
- Prempeh ABA and Mensah-Attipoe J (2008).in vivo inhibition of prostaglandin E2 production by crude aqueous extract of the root bark of *Zanthoxylum xanthoxyloides*. *Ghana Medical Journal* , 42, 2.
- Přemysl Mladěnka, Kateřina Macáková, Tomáš Filipický, Libuše Zatloukalová, Luděk Jahodář, Paolo Bovicelli, Ilaria Proietti Silvestri, Radomír Hrdina and Luciano Saso (2011). In vitro analysis of iron chelating activity of flavonoids. *J Inorg Biochem*, 105, 693–701.
- Přemysl Mladěnka, Kateřina Macáková, Tomáš Filipický, Libuše Zatloukalová, Luděk Jahodář, Paolo Bovicelli, Ilaria Proietti Silvestri, Radomír Hrdina and Luciano Saso (2011). In vitro analysis of iron chelating activity of flavonoids. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 105, 693–701.
- Prichard A J N (2004). The use of essential oils to treat snoring. *Phytotherapy Research*, 18, 696-699.
- Rahman S, Ansari R A, Rehman H and Parvez S (2011). Raisuddin, nordihydroguaiaretic acid from creosote bush (*Larrea Tridentata*) mitigates 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced inflammatory and oxidative stress responses of tumor promotion cascade in mouse skin, *Evid Based Complement Alternat Med*. Epub
- Rive-Evans, Miller CA and Paganga G (1996). Structureantioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radicals In Biology And Medicine*, 20, 933–956.
- Rogério AP, Fontanari C, Melo MC, Ambrosio SR, De Souza GR, Pereira PS, França SC, Da Costa FB, Albuquerque DA and Faccioli LH (2006). Anti-inflammatory, analgesic and antioedematous effects of *Lafoensia pacari* extract and ellagic acid. *J Pharm Pharmacol*, 58, 1265-1273.
- Romani P, Pinelli C, Galardi N, Mulinacci M and Tattini (2002). Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia Lentiscus* L. *Phytochem Anal*. 13(2), 79-86.
- Salvayre R, Auge N and Nègre-Salvayre A (2003). Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose. *L'athérosclérose : Physiopathologie, Diagnostics, Thérapeutiques.*, J.F., Toussaint, M.P., Jacob, L., Lagrost, J., Chapman, Eds. Masson: Paris, 14, 269-290.
- Sato H, Kato R, Isogai Y, Saka G, Ohtsuki M, Taketomi Y, Yamamoto K, Tsutsumi K, Yamada J, Masuda S, Ishikawa Y, Ishii T, Kobayashi T, Ikeda K, Taguchi R, Hatakeyama S, Hara S, Kudo I, Itabe H and Murakami M (2008). Analyses of group III secreted phospholipase a<sub>2</sub> transgenic mice reveal potential participation of this enzyme in plasma

- lipoprotein modification, macrophage foam cell formation, and atherosclerosis. *J Biol Chem* 283, 33483-33497.
- Sato H, Taketomi Y, Isogai Y, Masuda S, Kobayashi T, Yamamoto K and Murakami M (2009). Group III secreted phospholipase A<sub>2</sub> transgenic mice spontaneously develop inflammation. *Biochem J*, 421, 17-27.
- Scartezzini P and Speroni E (2000). Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *J Ethnopharmacol*, 71(1-2), 23-43.
- Singh U, Devaraj S and Jialal I (2005). VITAMIN E, OXIDATIVE STRESS, AND INFLAMMATION. *Annual Review of Nutrition*, 25, 151-175.
- Sone Y, Moon JK, Mai TT, Thu NN, Asano E, Yamaguchi K, Otsuka Y and Shibamoto T (2011). Antioxidant/anti-inflammatory activities and total phenolic content of extracts obtained from plants grown in Vietnam. *J Sci Food Agric*, 91(12), 2259-2264.
- Srivastava KC and Mustafa T (1992). Ginger (*Zingiber officinale*) in rheumatism and musculoskeletal disorders. *Medical Hypotheses*, 39, 342-348.
- Tadeg H, Mohammed A, Asres K and Gebre-Mariam T (2005). Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. *J Ethnopharmacol*, 100, 168–175.
- Tadeg H, Mohammed A, Asres K and Gebre-Mariam T (2005). Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 168–175.
- Tahrouch S, Audary C, Rapior S, Moudolot L, Gargadenneca and Fruchner A (2000). Polyphenol investigation of *Argania spinosa* (Sapotaceae) endemic tree from Morocco. *Acta Bot. Gallica*, 147(3), 225-232.
- Takahama U (1983). Redox reactions between kaempferol and illuminated chloroplasts. *Plant Physiol*, 71(3), 598–601.
- Takatoshi Murase, Noriaki Kume, Tadashi Hase, Yusuke Shibuya, Yoshinori Nishizawa, Ichiro Tokimitsu and Toru Kita (1999). Gallates inhibit cytokine-induced nuclear translocation of NF-κB and expression of leukocyte adhesion molecules in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19, 1412-1420.
- Tepe B, Sokmen M, Akpulat HA and Sokmen A (2006). Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* Species from turkey. *Food Chem*, 95, 200-204.
- Trabelsi Hajer, Olfa Aicha Cherif, Faouzi Sakouhi, Pierre Villeneuve, Justin Renaud, Nathalie Barouh, Sadok Boukhchina and Paul Mayer (2011). Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. *Food Chemistry*. Epub.
- Tracey K J (2002). The inflammatory reflex. *Nature* 420, 853-9.
- Tsuda T, Horio F and Osawa T (2002). Cyanidin 3-*O*-beta-glucoside suppresses nitric oxide production during a zymosan treatment in rat. *Journal of Nutrition Science Vitaminol*, 48, 305-310.
- Valko M, CJ Rhodes, J Moncol, M Izakovic and M Mazur (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, 160, 1–40.

- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M and Telser J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39(1), 44-84.
- Van Acker SA, Van Den Berg DJ, Tromp MN, Griffioen DH, Bennenkom, WP, Van Der Vijgh WJ and Bast A (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 331-342.
- Vane J R (1971). Inhibition of Prostaglandin Synthesis as a Mechanism of Action for Aspirin-like Drugs. *Nature new biology*, 231, 232-235.
- Villar A, Sanz M J and Payo M (1987). Hypotensive effect of *Pistacia lentiscus* L. *Int J Crude Drug Res*, 25, 1-3.
- Vivacons M and Moreno JJ (2005). Beta-sitosterol modulates antioxidant enzyme response in raw264.7 macrophages. *Free Radical Biology & Medicine*, 39, 91-97.
- Vogel HG and Vogel WH (1997). Drug discovery and evaluations, *Pharmacological Assays*. Springer, Berlin, 402-403.
- Wang H, Nair MG, Strasburg GM, Chang YC, Booren AM, Gray JI and Dewitt DL (1999). Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *J Nat Prod*, 62(2), 294-296.
- Wang X, Lan M, Wu HP, Shi YQ, Lu J, Ding J, Wu KC, Jin JP and Fan DM (2002). Direct effect of croton oil on intestinal epithelial cells and colonic smooth muscle cells. *World J Gastroenterol*, 8(1), 103-107.
- Weill B, Batteux F and Dhainaut J (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris), 12-23.
- Wong SP, Leong LP and William Koh JH (2006) antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chem*, 99, 775-783.
- Xagorari A, Papapetropoulos A, Mauromatis A, Economou M, Fotsis T and Roussos (2001). Luteolin inhibits an endotoxin-stimulated phosphorylation cascade and proinflammatory cytokine production in macrophages. *J Pharmacol Exp Ther*, 296, 181-187.
- Yasilada E, Honda G, Sezik E, Tabata M, Fujita T, Tanaka T, Takeda Y and Takalshi Y (1995). Traditional medicine in Turkey. V: Folk medicine in the inner Taurus Mountains. *J Ethnopharmacol*, 46, 133-152.
- Yegnanarayan R, Saraf AP and Balwani JH (1976). Comparison of anti-inflammatory activity of various extracts of *Curcuma longa* (Linn). *Indian J Med*, 64, 601-608.
- Yochum L, Kusli L, Meyer K and Folsom A (1999). Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. *Am J Epidemiol*, 149, 943-949.
- Yoshida Y and Niki E (2003). Antioxidant effects of phytosterol and its components. *Journal Of Nutritional Science And Vitaminol*, 49, 277-280.

## Résumé

Les activités anti-inflammatoire et antioxydante de l'extrait méthanolique des fruits, éthanolique et aqueux de feuilles de *Pistacia lentiscus* ont été étudiés *in vivo* et *in vitro* respectivement.

Le traitement locale de l'œdème de l'oreille par 2 mg d'extrait méthanolique des fruits ou l'extrait éthanolique des feuilles induit une diminution très significative ( $p < 0,001$ ) de l'inflammation par rapport au groupe témoin, de 70 % et 65 % respectivement. L'extrait aqueux des feuilles donne un effet inhibiteur plus faible (51 %), mais presque égal à celui de l'indométacine aux doses utilisées.

Le traitement par 200 mg/kg d'extrait alcoolique des fruits et des feuilles par voie orale provoque une inhibition de 56 % et 46 % de la perméabilité vasculaire respectivement. L'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* provoque une plus faible inhibition de 28 %.

L'effet des extraits sur la pleurésie induite par la carrageenane montrent que l'administration orale de 400 mg/kg d'extrait méthanolique des fruits, éthanolique ou aqueux des feuilles provoque une diminution significative dans le développement de la pleurésie et la migration des PMNs.

L'effet antioxydant des mêmes extraits sont testés *in vitro* en utilisant les tests du DPPH, la chélation des métaux et le test de  $\beta$ -carotène/acide linoléique montre que ces extraits possèdent une forte activité scavenger de radical DPPH et une forte capacité d'inhiber la peroxydation lipidique. Cependant, seuls les extraits alcooliques des fruits et des feuilles ont un effet sur la chélation des métaux.

## Summary

The anti-inflammatory and antioxidant of methanolic extract of the fruits, ethanolic and aqueous extracts of leaf of *Pistacia lentiscus* were studied *in vivo* and *in vitro* respectively.

Local treatment of edema ear with 2 mg of methanolic extract of fruits or ethanolic extract of leaves induced a significant decrease ( $p < 0.001$ ) in inflammation compared to the control group, 70% and 65% respectively. The aqueous extract of the leaves gives a lower inhibitory effect (51%), but almost equal to that of indomethacin at used doses.

Treatment with 200 mg / kg of alcoholic extract of fruits and leaves orally causes an inhibition of 56% and 46% in vascular permeability respectively. The aqueous extract of leaves of *Pistacia lentiscus* caused a lower inhibition, only 28%.

The effect of extracts on carrageenan-induced pleurisy show that oral administration of 400 mg/kg of methanolic extract of the fruits, ethanol or aqueous extracts of leaves causes a significant reduction in the development of pleurisy and migration of PMNs.

The antioxidant effect of the same extracts are tested *in vitro* using the DPPH test, metal chelating and  $\beta$ -carotene/linoleic acid test shows that these extracts possess strong DPPH radical scavenger activity and high capacity inhibit lipid peroxidation. However, only the alcoholic extracts of fruits and leaves have an effect on the metal chelating.

## ملخص

خلص الميثانولي للفواكه، الإيثانولي والمائي لأوراق نبتة *Pistacia lentiscus* المضادة للالتهاب والمضادة للاكسدة دراسة حيوية و اختباريا على التوالي.

المعاملة الموضوعية لذمة الأذن بـ 2ملغ من المستخلص الميثانولي للفواكه أو المستخلص الإيثانولي للأوراق تبدي تأثيراً عالياً ضد الإلتهاب ( $p < 0,001$ ) مقارنة مع مجموعة الفئران الشاهدة. 70 و 65 % على التوالي. أما المستخلص المائي للأوراق يبدي تأثيراً أقل لكن مساوٍ للأندوميثاسين.

المعاملة عن طريق الفم بـ 200ملغ/كغ من المستخلصات الكحولية للفواكه و الاوراق يؤدي الى تثبيط بـ 56% و 45% في النفاذية الوعائية. المستخلص المائي فيؤدي إلى أقل إنخفاض في النفاذية الوعائية (28%).

في تأثير المستخلصات على ذات الجنب عند الجرذان، المعاملة عن طريق الفم بـ 400ملغ/كغ للجرذان تظهر أن المستخلصات تسبب إنخفاض كبير لذات الجنب وهجرة PMNs

النشاطية المضادة للاكسدة دراسة بإستعمال إختبارات DPPH، الفعل المخليبي على المعادن أو إختبار  $\beta$ -كاروتين/حمض اللينولييك. النتائج بينت أن المستخلصات تملك نشاطية عالية في إزاحة جذر DPPH كما يملك قدرة عالية على تثبيط أكسدة الليبيدات في إختبار  $\beta$ -كاروتين/حمض اللينولييك. أما في إختبار الفعل المخليبي على المعادن، فقط المستخلصات الكحولية التي تبدي تأثيراً.