

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIC ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUE
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم علوم المادة
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIERE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Option : Chimie Organique appliquée

Par :

Mlle. KAIFES Chaima

Mme. BESSAS Nacira

THEME :

**Influence des dates de la récolte sur la teneur des composés
phénoliques et l'évaluation des activités antiradicalaire et
inhibitrice de α -amylase sur les extraits de feuilles de
*Pistacia atlantica. Desf***

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

Mr. BEN AHMED Ziyad	M.C.A	Président
Mme. HAMIA Chahrazad	M.C.A	Examinatrice
Mme. AMI Yasmina	M.A.A	Encadreur
Mr. YOUSFI Mohamed	Professeur	Co-Encadreur

Année Universitaire 2020/2021

Remerciements

Tout d'abord, Nous remercions *Dieu* le tout puissant de nous avoir données la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce Mémoire.

Ce travail a été accompli au laboratoire de recherche « Sciences Fondamentales », Université Amar Telidji, Laghouat, dirigé par Mr *YOUSFI Mohamed*. Nous le remercions vivement de nous avoir accueilli au sein de son laboratoire.

Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement du *Professeur Mohamed YOUSFI* et *Madame Yasmina AMI*.

Nous les remercions pour la qualité de leur encadrement, leur patience et Leur disponibilité durant notre préparation de ce Mémoire.

Nous sommes conscientes de l'honneur que nous a fait *Docteur Ziyad BENHMED* en étant Président du Jury, et *Docteur Chabrazad HAMLIA*, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions également *Docteur Mohamed HARRATH* pour son aide et ses encouragements pendant tous nos jours de PFE.

Nous remercions également *Mademoiselle Djahida ELBEY*, *Docteur Mohamed BENALLIA*, *Professeur Boubaker SAIDAT* et *Professeur Amar DJERIDANE* pour leur aide et leurs encouragements.

Notre remerciement s'adresse aussi à tous nos *Enseignants* pour leur générosité et leur grande patience.

Nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidées et soutenues de près ou de loin.

Mlle C. KAIFES et Mme N. BESSAS

DEDICACES

*Je tiens à dédier ce modeste travail à la lumière de ma vie :
mes chers parents pour leur plus grand amour, soutien, encouragement
de la patience et de l'aide continue pendant mes années d'études.*

Que dieu les gardes.

Je dédie également ce travail à mes chers frères : Mohamed et Salah.

Et mes chères douces sœurs : Riham et Malak

A toute la famille « Kaifes ».

A mon cher binôme : Nacira

*Mes dédicaces vont tendrement à mes chères amies :
Houda, Rabab, Hadjer, Kawtar et Fatima.*

*A toute la promotion de chimie et spécialement à la promotion
de 5ème année chimie organique appliquée*

Chaima

DEDICACES

*C'est avec un grand respect que je dédie ce modeste mémoire,
Au plus beau cadeau que le bon dieu m'ait offert, à ceux que j'ai de plus précieux,*

*Mes Chers **Parents**, que Dieu vous protège.*

*A mon cher **Mari**, qui par sa compréhension et ses encouragements,
a soutenu sans cesse mes efforts durant la réalisation de ce travail.*

*A mon **Cher frère** et **Chères Sœurs**, sources constantes d'encouragements,
de soutien, de confiance et d'affection.*

*Une reconnaissance spéciale pour **Ma Sœur Cadette**, Je ne saurais te remercier
pour ce que tu fais pour nous tous, qu'**Allah** tout-puissant te protège.*

*A ma **Fille**, **Ma Princesse**.*

*A ma **Collaboratrice KAI FES C***

*A **Mme YAMI** et à tous mes Enseignants.*

*A toutes mes amies en particulier **Messaouda** et **Lamia**,
qu'elles trouvent ici l'expression de mon affection.*

A toute la promotion de chimie.

*J'exprime ma reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin
à accomplir ce modeste travail.*

Nacira

Liste des abréviations

A : Absorbance.
A : El Assafia.
A.G : Acide gallique.
Acét : Acétate d'éthyle.
B : Blanc.
C : Control.
CAP : Capacité.
CAT : Catéchine.
C_{Ac} : Concentration de l'acarbose.
C_E : Concentration de l'extrait.
C_{Vc} : Concentration de la vitamine C.
VCEAC : Capacité Antioxydante Equivalent en Vitamine C.
Vit.C : Vitamine C.
DNS : Acide 3,5-Dinitrosalicylique.
DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.
E : Enzyme.
EQ : Equivalent.
ERN : Espèces réactives de l'azote.
ERO : Espèces réactives de l'oxygène.
F : Femelle.
G : El Ghaicha.
Hex : Fraction Hexanique.
I : Enfouss.
M : Mâle.
MS : Matière sèche.
Nov : Novembre.
Oct : Octobre.
P.A : Pistacia Atlantica
PI : Pouvoir d'inhibition.
S : Substrat.
Sept : Septembre.
TP : Tampon.
T : Tercallel.
UV : Ultraviolet.
α : alpha.
% : Pourcentage.

Liste des Figures

Figure 1.1 : Carte de localisation géographique du Pistachier de l'Atlas en Algérie	2
Figure 1.2 : Port botanique du pistachier au printemps (à gauche) et en automne (à droite)	3
Figure 2.1 : Localisation et situation de la zone d'étude (carte du Nord de Sahara du Laghouat).....	6
Figure 2.2 : Feuilles du pistachier de l'Atlas a : feuilles rouges, b : feuilles vertes	9
Figure 2.3 : Matière sèche de feuilles <i>Pistacia atlantica</i>	9
Figure 2.5 : Structure de l'acide gallique.....	12
Figure 2. 6 : Protocole de dosage des phénols totaux	12
Figure 2.7 : Structure de tanins condensés.....	13
Figure 2.8 : Protocole du test qualitatif des tanins	13
Figure 2.9 : Protocole de dosage des tanins.....	14
Figure 2. 10 : Structure de DPPH et sa réduction par l'antioxydant A-H.....	15
Figure 2.11 : Protocole du test DPPH.....	16
Figure 2.12 : Protocole de l'activité enzymatique.....	19
Figure 3.1 : Photo des extraits a : Hexaniques, b : Acétates d'éthyle	21
Figure 3.2 : Courbe étalonnage de l'acide gallique.....	22
Figure 3.3 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.....	22
Figure 3.4 : Courbe d'étalonnage de la Vit C.....	26
Figure 3.5 : Courbe d'étalonnage de l'acarbose.....	31

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Différentes caractéristiques du <i>Pistacia atlantica</i>	3
Tableau 1.2 : Propriétés thérapeutiques et usages du <i>P. atlantica</i>	4
Tableau 2. 1 : Température et précipitations de la wilaya de Laghouat	7
Tableau 2. 2 : Principales données géographiques des sites étudiées d : degré, m : minute,	7
Tableau 2.3 : Date de récolte de vingt-cinq (25) variétés sélectionnées.....	8
Tableau 3.1 : Rendements des extraits hém et acét pour les échantillons des sites El Assafia (A), El Ghaicha (G), Tercallel (T) et Enfouss (I).....	20
Tableau 3.2 : Teneurs en phénols totaux et en tanins dans les fractions hém et acét en deux récoltes pour le site A.	23
Tableau 3.3 : Teneurs en phénols totaux et en tanins dans les fractions hém et acét pour le site G.....	24
Tableau 3.4 : Teneurs en phénols totaux et en tanins dans les fractions hex et acét pour le site T.....	25
Tableau 3.5 : Teneurs en phénols totaux et en tanins dans les fractions hém et acét pour le site I.....	25
Tableau 3.6 : Pouvoir inhibiteur, capacité et rapport d'activité (R) anti radicalaire pour le site A.....	27
Tableau 3.7 : Pouvoir inhibiteur, capacité et rapport d'activité anti radicalaire pour le site G.	28
Tableau 3.8 : Pouvoir inhibiteur, capacité et rapport d'activité anti radicalaire pour le site T.	28
Tableau 3.9 : Pouvoir inhibiteur, capacité et rapport d'activité anti radicalaire pour le site I.....	29
Tableau 3.10 : Pouvoir d'inhibition de l'activité enzymatique dans les deux fractions acét et hex pour les échantillons prélevés au niveau du site A.	31
Tableau 3.11 : Pouvoir d'inhibition de l'activité enzymatique dans les deux fractions acét et hém pour les échantillons prélevés au niveau du site G	32
Tableau 3.12 : Pouvoir d'inhibition de l'activité enzymatique dans les deux fractions acét et hex pour les échantillons prélevés au niveau du site T.....	32
Tableau 3.13 : Pouvoir d'inhibition de l'activité enzymatique dans les deux fractions acét et hém pour les échantillons prélevés au niveau du site I.....	33

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
1.Introduction générale	1
2. Matériels et Méthodes	6
2.1. Matériels et produits	6
2.1.1. Matériel végétal	7
2.2.1. Méthode d'extraction des polyphénols totaux	10
2.2.2. Calcul de Rendement	11
2.3. Analyse quantitative des composés phénoliques	11
2.3.1. Dosage des polyphénols totaux	11
2.3.2. Dosage des tanins condensés	13
2.4. Evaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH	15
2.4.1. Protocole de la courbe d'étalonnage de la vitamine C	15
2.5. Evaluation de l'activité enzymatique par α -amylase	16
2.5.1. Préparation	17
2.5.2. Courbe d'étalonnage par l'acarbose	17
3. Résultats et discussions	20
3.1. Rendement d'extraction	20
3.2. Quantification des composés phénoliques	21
3.2.1. Teneurs en composés phénoliques totaux	21
3.2.2. Teneurs en tanins	22
3.3. Evaluation de l'activité antiradicalaire par le test DPPH	26
3.4. Evaluation de l'activité enzymatique	31
4. Conclusion générale	36
Références bibliographiques	38
Annexes	41

Introduction générale

1. Introduction générale

Le recours à l'usage des plantes médicinales (riches en composés bioactifs naturels) a connu un regain d'attention et d'intérêt dans le monde. Compte tenu de la toxicité des molécules antioxydantes synthétiques, des produits chimiques, et le coût élevé des médicaments chimiques ; la population de l'Afrique en particulier utilisent encore la médecine traditionnelle pour répondre à leurs besoins de soins et de santé [OMS 2002], en explorant les bienfaits de la nature, tout en restant dans le cadre scientifique.

Désormais, plusieurs études phytochimiques se sont orientées vers l'évaluation et l'extraction de nouveaux agents comme principes actifs en quantité extrêmement faible, qui sont souvent liés aux métabolites secondaires des plantes médicinales, ayant un intérêt thérapeutique et pharmacologique, basé essentiellement sur la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires [Bougandoura et Bendimerad, 2012 ; Sylvain, 2010]. Le passage progressif d'une thérapie traditionnelle souvent empirique à la thérapie moderne acceptée scientifiquement s'effectue sur le fait d'isolement de principes actifs qui contribuent à l'amélioration des connaissances des structures [Azzi et al., 2012].

En effet, les composés phénoliques sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance progressive jouant un rôle clé dans la pigmentation, la croissance et la reproduction de la plante, ainsi que la résistance aux agents pathogènes et aux prédateurs notamment leur rôle d'antioxydants naturels contre les espèces réactives oxygénées et azotées ERO/ERN.

Néanmoins, une surproduction de ces espèces peut survenir, suite à une exposition à des substances oxydantes externes ou un déséquilibre dans les mécanismes de défense, les dommages aux biomolécules majeures (ADN, acides aminés, lipides, protéines) résultant le stress oxydatif [Aruoma, 1998]. Dont la cellule ne contrôle plus la présence excessive des radicaux oxygénés toxiques qui sont potentiellement impliqués dans de nombreuses maladies ou comme facteur provoquant des complications lors de leur évolution (diabète, cancer, maladies cardiovasculaires et neurodégénérative) [Moon et Shibamoto, 2009].

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des antioxydants naturels par l'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits polyphénols des feuilles de *Pistacia atlantica* (famille Anacardiaceae). Le choix de cette plante médicinale est fondé sur son utilisation étendue dans la médecine locale et traditionnelle en Algérie, qui constitue un genre de biodiversité morphologique et génétique remarquable dans le monde.

Le *Pistacia atlantica* dit pistache sauvage est nommé également :

- > **En Arabe** : Btom, Bettam, Battach, Iggt, Iqq, Idj
- > **En Berbère** : Tismelegt ou Tesemhalt [Kebour, 2004].

Ce fameux Bétoum des Dayas remonte aux années 1700 par le botaniste R. L. Desfontaines qui a distingué le *Pistachier de l'Atlas* du Frêne ; le décrira et présentera dans sa publication « Flora Atlantica » en 1798 pour la première fois au monde scientifique, qui a été ensuite inventoriée au sud de Laghouat par MATHIEU [Monjauze, 1980].

En effet, il est parmi les rares espèces d'arbres qui se produisent encore spontanément dans les zones semi-arides et arides (Sahara) de l'Afrique du Nord dont sa tolérance à la sécheresse [Rowshan et al., 2013].

Les espèces les plus connues du *Pistacia* local sont *P. Vera*, *P. Lentiscus*, *P. Terebinthus*, et *P. atlantica* [Labeled, 2015] ; ce dernier est considéré comme le plus économique de ce genre [Benabdallah, 2012]. En Algérie, *P. atlantica* avec ses sous espèces en l'occurrence *Cabulica*, *Mutica*, *Kurdica*, *Atlantica*, existe à l'état disséminé dans plusieurs régions à savoir la région de Djelfa (Senalba, Ain Oussara, Messaad), Laghouat (partie sud) et Ghardaia (Ouest M'zab), Hoggar [Benabdallah, 2012]. Sa répartition est montrée sur la carte suivante :

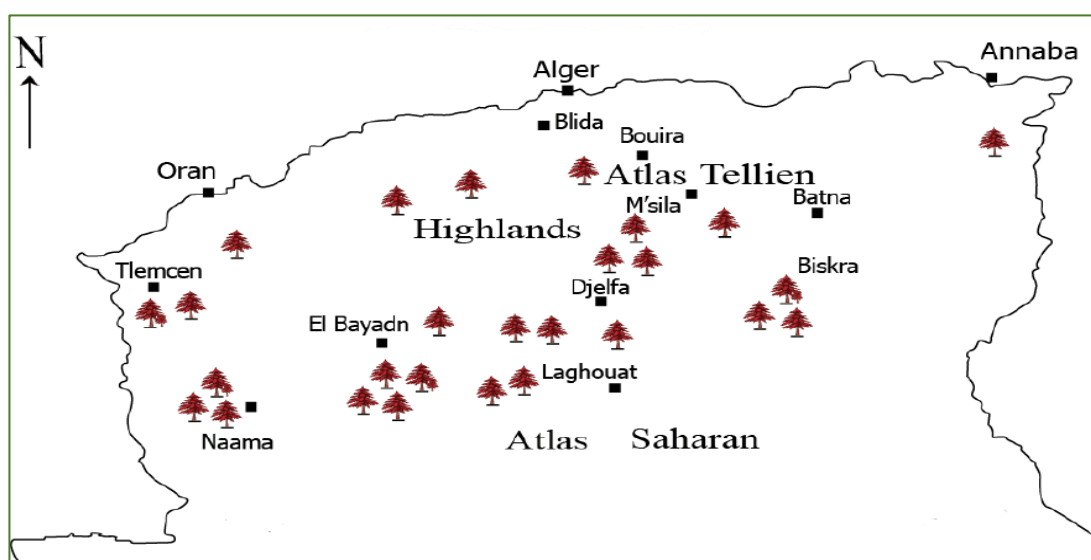


Figure 1.1 : Carte de localisation géographique du Pistachier de l'Atlas en Algérie [Chebouti-Meziou, 2014].

La classification botanique du pistachier de l'Atlas [Yaaqobi A., 2009] est synthétisée comme suit :

- Embranchement :
Tracheobionta
- Super-division : Spermatophyta
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe : Rosidae
- Ordre : Sapindales
- Famille : Anacardiaceae
- Genre : Pistacia
- Espèce : Pistacia Atlantica
l'Atlas



Figure 1.2 : Port botanique du pistachier au printemps (à gauche) et en automne (à droite)

Les caractéristiques générales (répartitions et caractéristiques morphologiques) du *Pistacia Atlantica* sont effectuées par des travaux antérieurs dans plusieurs sites [Monjauze, 1980 ; Belhadj et al., 2008, 2007 ; Benhassaini et al., 2007]. Quelques caractéristiques sont présentées dans le Tableau 1.1:

Tableau 1.1 : Différentes caractéristiques du Pistacia atlantica

Hauteur	7-20 m
Ecorce	Striée gris foncé
Tronc	Diamètre >1 m
Feuilles	Imparipennées : de 5-9 folioles Lancéolées : Longueur 26-70mm Largeur : 8-22mm Pétioles ailés Panicules extra-axillaires de 7-15cm de long
Flours	Dioïques et unisexuées Male : regroupées en inflorescences jointes à la base et soutenant des sacs polliniques jaunes de forme ronde Femelle : rassemblées en panicules courtes, portant des ovaires à ovule unique
Floraison	Les mâles ont tendance à fleurir avant les femelles
Fruits	Appelés « El Khodiri » pour leur couleur vert foncé à maturité

Aujourd'hui, plus de 150 composés ont été isolés et identifiés à partir de la sous-espèce *P. atlantica* [Ben Ahmed et al, 2021] d'importances phytochimiques qui sont présents dans diverses parties de cet arbre à savoir les fruits, les feuilles, l'écorce de tige, l'écorce de racine, tels que :

- Terpènes, les flavonoïdes, les tanins, les stéroïdes, les composés phénoliques ;
- Minéraux et oligo-éléments comme le fer, le plomb, le cuivre, le potassium, le sodium et le calcium ;
- Vitamines liposolubles telles que les tocophérols α , β , γ et δ ;
- Huiles essentielles ;
- Acides gras (l'acide oléique, linoléique et palmitique) ;
- Phytostérols, comme le bétasitostérol, stigmastérol, campestérol et delta-5-avénastérol.

Désormais, le *Pistacia atlantica* rentre dans différentes phytothérapies comme la lutte contre nombreuses maladies (voir Tableau 1.2), par conséquent, il peut aussi faire partie de diverses et nouvelles formules de principes actifs.

Le Tableau 2.1 regroupe certaines propriétés thérapeutiques du *P. atlantica* ainsi quelques usages contre certaines maladies (autres utilisations sont données dans l'Annexe B).

Tableau 1.2 : Propriétés thérapeutiques et usages du *Pistacia atlantica* [Mahjoub et al, 2018]

Propriétés phytothérapies	Son usage contre certaines maladies
✓ Analgésiques	✓ Troubles gastro-intestinaux
✓ Hépatoprotectrices	✓ Atteintes respiratoires
✓ Antidépresseurs	✓ Trouble du rythme cardiaque
✓ Dermatologiques	✓ Maladies rénales et les troubles neurologiques
	✓ Fractures osseuses et les troubles musculo-squelettiques

Des recherches récentes sont basées sur ces différentes propriétés pharmacologiques de diverses parties de *Pistacia Atlantica*, telles que les activités antimicrobiennes [Sifi, 2020], antioxydantes [Labdelli, 2020], antitumorales [Mahjoub et al, 2018] antihyperlipidémiques [Benhassaini et al.,2007] et antidiabétiques [Hamdan-Afifi, 2004].

L'enzyme est une protéine qui a un rôle de catalyseurs biologiques, qui accélèrent les réactions biochimiques de l'organisme par l'hydrolyse de l'amidon présent dans l'alimentation.

Le traitement du diabète par l'acarbose utilisés comme étant un inhibiteur est basé sur son affinité avec l'enzyme α -amylase qui est plus élevée que celle de l'amidon, qui se lie avec le site actif de l'enzyme résultant un blocage d'accès au substrat (amidon), donc sa prise orale réduit l'activité de cette enzyme et donc un effet hypoglycémiant d'où son utilisation comme antidiabétique [Qian et al, 1994]. Les niveaux de glucose des diabétiques peuvent être donc contrôlés après des repas par l'administration d'un inhibiteur d'amylase tel que l'acarbose qui est un produit naturel obtenu par la fermentation et est structurellement lié au substrat d'oligosaccharide d'amylase.

De plus, l'évaluation de l'effet des composés phénoliques des extraits de plantes sur l'activité (inhibition) enzymatique de l'alpha amylase prend l'ampleur dans les recherches actuelles. Plusieurs composés phytochimiques ont été signalés pour inhiber l'activité de α -amylase par conséquent, la digestion de l'amidon qui est responsable principalement de la réduction des sucres, tels que le maltose, sera retardée.

L'étude présentée est consacrée à la valorisation phytochimique des feuilles de *Pistacia atlantica*. Cette valorisation consiste à étudier la quantification des composés phénoliques des feuilles de cet arbre en fonction de la date de sa récolte et du genre dans les deux fractions hexanique et acétate d'éthyle afin de valoriser l'effet thérapeutique de cette plante par l'étude de ses activités antiradicalaire mesurée par le test DPPH et enzymatique par l'inhibition de α -amylase.

La partie expérimentale de la présente étude est structurée en deux axes :

- > Le premier axe comporte une présentation du matériel et différents protocoles expérimentaux réalisés au cours de notre travail d'une part.

D'autre part, nous avons préparé les extraits végétaux dans les deux fractions à savoir hexaniques et acétates d'éthyle à partir de la feuille du *Pistacia atlantica* suivi par la quantification des composés phénoliques totaux et en tannins condensés, présents dans ces échantillons par un dosage ainsi qu'à l'évaluation des propriétés antiradicalaires par le test DPPH des extraits préparés et son activité inhibitrice de α -amylase.

- > Le deuxième axe a été réservé à l'interprétation des résultats expérimentaux et leurs discussions.

Enfin une conclusion générale résume les principaux résultats obtenus lors de ce travail avec quelques recommandations.

**Matériels
&
Méthodes**

2. Matériels et Méthodes

La présente étude est basée essentiellement sur la détermination des teneurs en polyphénols totaux et en tanins, ainsi que l'évaluation de l'activité anti-radicalaire et activité enzymatique (α amylase) de cinquante (50) extraits issus de l'extraction liquide-liquide de deux fractions hexane et acétate d'éthyle, préparés à partir des feuilles du *Pistacia atlantica* de onze (11) arbres avec des sites et des dates de récoltes variées.

2.1. Matériels et produits

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche « Sciences Fondamentales », Université Amar Telidji, Laghouat.

- > Une liste de produits (solvants et réactifs) et du matériel (équipement) utilisés est présentée en Annexe.
- > Sites d'étude : Deux sites d'études ont été choisis selon la différence d'altitude, dont le premier se situe à El Assafia (à l'est) et le deuxième regroupe 3 points proches en termes d'altitude à savoir El Ghaicha et ses deux villages Enfouss et, Tercallel (au Nord), wilaya de Laghouat, illustrée dans la figure suivante :

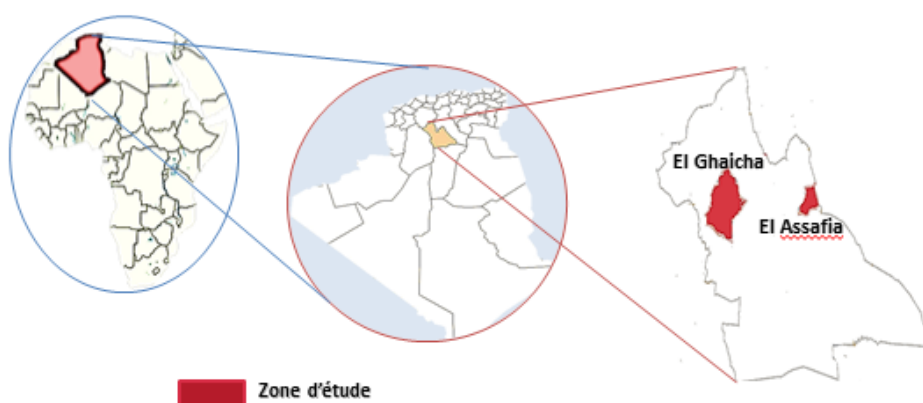


Figure 2.1 : Localisation et situation de la zone d'étude (carte du Nord de Sahara du Laghouat).

Les conditions climatiques de température et des précipitations de la wilaya de Laghouat en fonction du temps ainsi que les paramètres géographiques de nos sites sont présentés dans le Tableau 2.1.

Tableau 2. 1: Température et précipitations de la wilaya de Laghouat [historique-météo, 2020]

Mois	Température à mi-journée (°C)	Précipitations (mm)
Mai	27	11
Septembre	28	34
Octobre	22	7
Novembre	17	15

La description des sites a été faite suivant leurs paramètres géographiques qui sont représentés dans le **tableau (2.2)**.

Tableau 2. 2 : Principales données géographiques des sites étudiées d : degré, m : minute, s : seconde

Site	Latitude (dms)	Longitude (dms)	Altitude(m)	Etage bioclimatique
El Assafia (A)	33° 49' 60''N	2° 58' 60" E	755	Arde
El Ghaicha (G)	33° 59' 15" N	2° 01' 45" E	1420	Semi-aride et sec
Enfouss (I)	33° 59' 18" N	2° 05' 34" E	1418	
Tercallel (T)	33° 42' 33" N	2° 01' 04"E	1331-1363	

2.1.1. Matériel végétal

La collecte de notre plante (les feuilles) a été faite en 2020 par Mr M. YOUSFI et Mr. M. HARRATH à partir de onze (11) arbres dont 6 mâles et 5 femelles en différentes dates de récolte Mai-Septembre-Octobre-Novembre, qui sont représentés dans le **Tableau 2.3**.

Tableau 2.3 : Date de récolte de vingt-cinq (25) variétés sélectionnées.

Région	Type	Date de récolte
A ₁	Mâle	Mai- octobre
A ₂	Mâle	Mai- octobre
A ₃	Mâle	Mai- octobre
A ₄	Mâle	Mai- Octobre
G ₁		Mai- Septembre
	Femelle	
G ₂	Mâle	Mai- Septembre-Novembre
T ₀	Mâle	Mai- Septembre
	Femelle	Mai- Septembre-Novembre
T ₁		Mai- Septembre
	Femelle	
I ₁		Mai- Novembre
	Femelle	
I ₂		Mai- Septembre-Novembre
	Femelle	

Une différence de couleur a été constatée selon le mois de la collecte dont les feuilles ont une couleur verte pour la plupart mise à part un seul échantillon de couleur rouge pour le mois de Novembre (**I₁F Nov**).

La Figure 2.2 montre les photos de différentes couleurs (rouge et vert) des feuilles de *Pistacia atlantica*..



Figure 2.2 : Feuilles du pistachier de l'Atlas
a : feuilles rouges, b : feuilles vertes

a) **Échantillonnage :**

Après la récupération de la partie aérienne de la plante, les feuilles sont séparées ensuite séchées à l'air libre à température ambiante pendant quelques jours, puis stockés dans des sacs en papier jusqu'au temps de l'utilisation.

La matière végétale est préparée selon les étapes suivantes :

- b) **Tri des feuilles :** Le tri des feuilles s'est basé sur la même couleur et la même dimension.
- c) **Broyage :** Les échantillons séchés sont broyés manuellement à l'aide d'un mortier.
- d) **Tamisage :** Après broyage, une fine poudre (figure 2.3) est obtenue a l'aide d'un tamis de diamètre de 250 μm .



Figure 02.3 : Matière sèche de feuilles *Pistacia atlantica*.

2.2. Méthodes expérimentales

2.2.1. Méthode d'extraction des polyphénols totaux

Les extraits sont préparés suivant le protocole d'extraction donné dans la Figure 2.4.

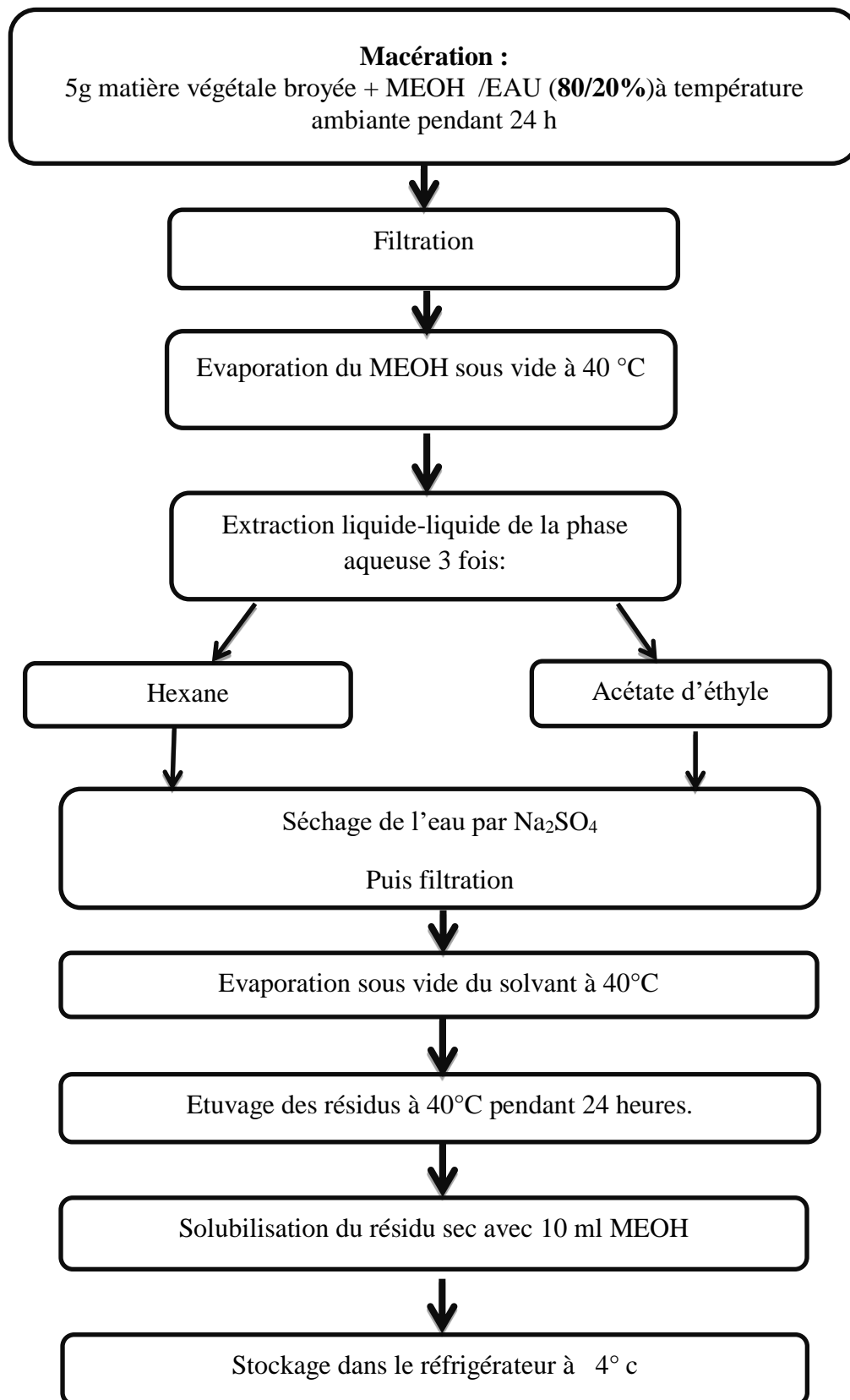


Figure 2.4 : Organigramme de l'extraction.

2.2.2. Calcul de Rendement

Le rendement en pourcentage (R %) est défini comme étant le rapport entre la masse de résidu d'extrait brut pour les deux fractions respectivement hexanique et acétate d'éthyle, et celle de la plante sèche en poudre.

Il est calculé par la formule suivante :

$$R \% = \frac{m_B}{m_S} \times 100 \quad \dots\dots (1)$$

Avec :

m_B : Masse de l'extrait brut.

m_S : Masse de la plante sèche en poudre.

- **Concentration des extraits**

Les concentrations de nos extraits ont été déterminées par la masse brute de chaque fraction (hexanique et acétate d'éthyle) solubilisée dans 10 ml de méthanol, exprimée en (g/l).

2.3. Analyse quantitative des composés phénoliques

L'étude phytochimique est réalisée sur les extraits afin de déterminer les teneurs de différentes classes phytochimiques contenues dans la plante étudiée. Il s'agit d'une analyse par spectrophotométrie UV-Visible.

2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le principe de ce dosage est adapté par [Singleton et Ross en 1965] et [Lister E, 2001] avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est un mélange de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$), et de l'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui se réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus du tungstène (W_8O_{23}) et molybdène (Mo_8O_{23}).

La coloration présente un maximum d'absorption à 760 nm dont l'intensité proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'échantillon [Vermerius. W, 2006].

Les quantités des composés phénoliques dans nos extraits sont calculées dans les mêmes conditions avec un standard suivant sa courbe d'étalonnage (acide gallique).

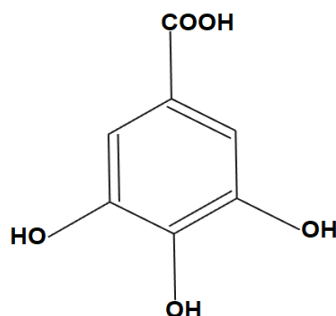


Figure 2.5 : Structure de l'acide gallique.

2.3.1.1. Protocole expérimentale du courbe étalonnage

Une courbe d'étalonnage a été effectuée en utilisant l'Acide Gallique (**Figure 2.5**) comme standard. Une gamme d'étalonnage a été préparée à partir d'une solution mère d'AG de différentes concentrations (**0.03 - 0,3 mg/ml**).

Les extraits ont été traités de la même manière que l'AG.

Le dosage des composés phénoliques totaux a été fait selon le protocole qui est schématisé dans la figure suivante :

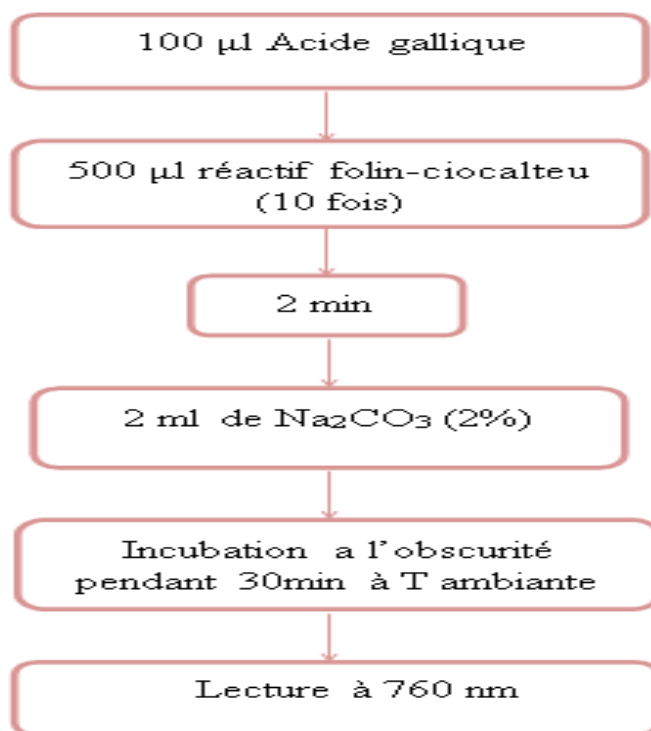


Figure 2.6 : Protocole de dosage des phénols totaux [**Khacheba. I, 2014**].

2.3.2. Dosage des tanins condensés

Le test des tanins condensés est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide ; il est spécifique des flavanols [Martin L. Price, 1978].

Ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine ou (tanin condensé) pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500 nm [MRABTI, 2018].

La figure ci-dessous représente la structure de tanins condensés.

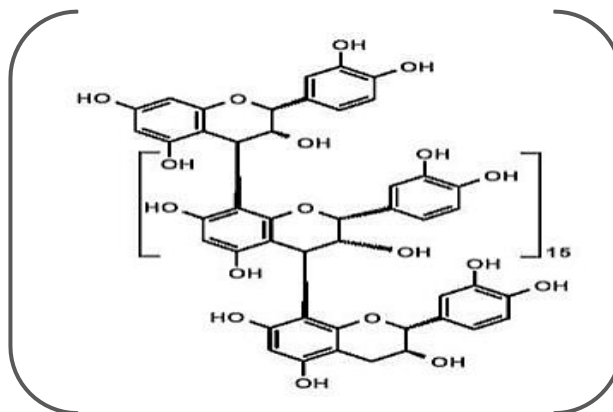


Figure 2.7 : Structure de tanins condensés [Nascimento.M.S, 2013]

2.3.2.1. Test qualitatif : ce test qualitatif s'effectue au préalable afin d'indiquer la présence des tanins et le type des tanins par une coloration verdâtre pour les tanins condensés ou bleu-noirâtre pour les tanins hydrolysables, selon le protocole suivant :

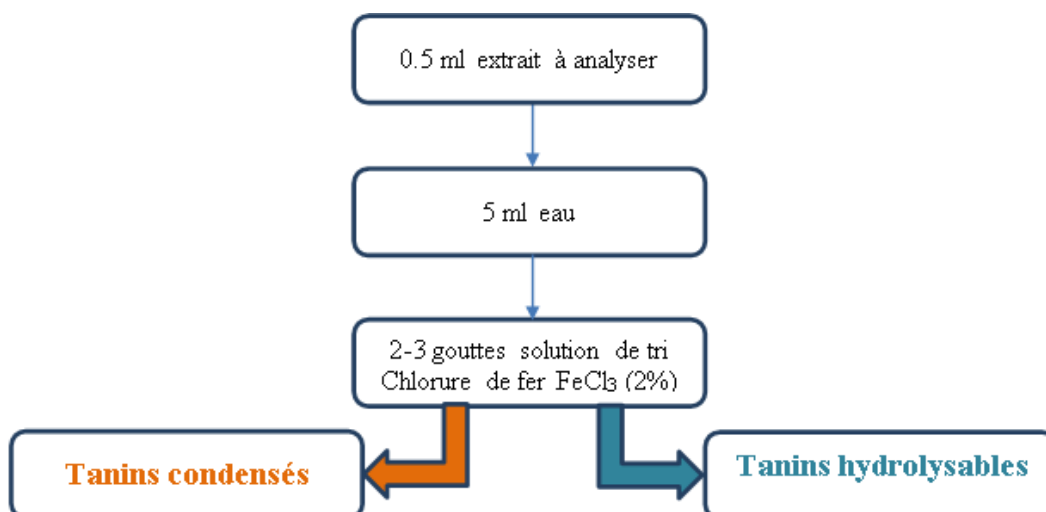


Figure 2.8 : Protocole du test qualitatif des tanins [DJEFFEL.L, 2017].

2.3.2.2. Protocole expérimentale du courbe étalonnage

La solution mère de la catéchine a été préparée par 0,03 g de la catéchine en poudre dans 100 ml de méthanol.

Une gamme d'étalonnage a été préparée à partir d'une solution mère de différentes concentrations (0,424 - 2,12 mg/ml).

Les résultats sont exprimés en mg équivalent en catéchine par g de matière sèche (mg EQ Cat/g de MS). Même traitement pour les extraits en remplaçant la catéchine.

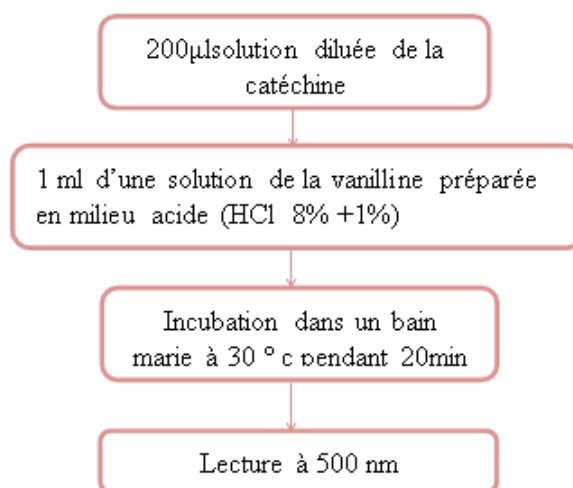


Figure 2.9 : Protocole de dosage des tanins.

- **Expression des résultats**

Les teneurs en phénols totaux et en tanins condensés dans les extraits étudiés sont calculés par la relation suivante :

$$T = \frac{A * d}{P} * \frac{V}{m} \dots\dots\dots(2)$$

Avec :

T : Teneur en composés phénoliques ou tanins de l'extrait en (mg/g)

A : Absorbance de l'extrait.

P : La pente de la courbe d'étalonnage du standard

d : Nombre de dilution

V : volume d'essai en (ml)

m : Masse de la matière sèche

2.4. Evaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH

L'évaluation de la capacité antioxydante (*in vitro*) des extraits bruts méthanoliques s'effectue par ce test, il s'agit d'un pouvoir piégeur du radical (DPPH[•] : 2,2, diphényl-1-picrylhydrazyl).

Le radical DPPH a une coloration violette foncée qui va se transformer en jaune pâle lorsqu'il est réduit par les composés antioxydants en lui donnant un proton ou un électron, ce qui diminue son absorbance à 517 nm [Guessan J.D., 2007].

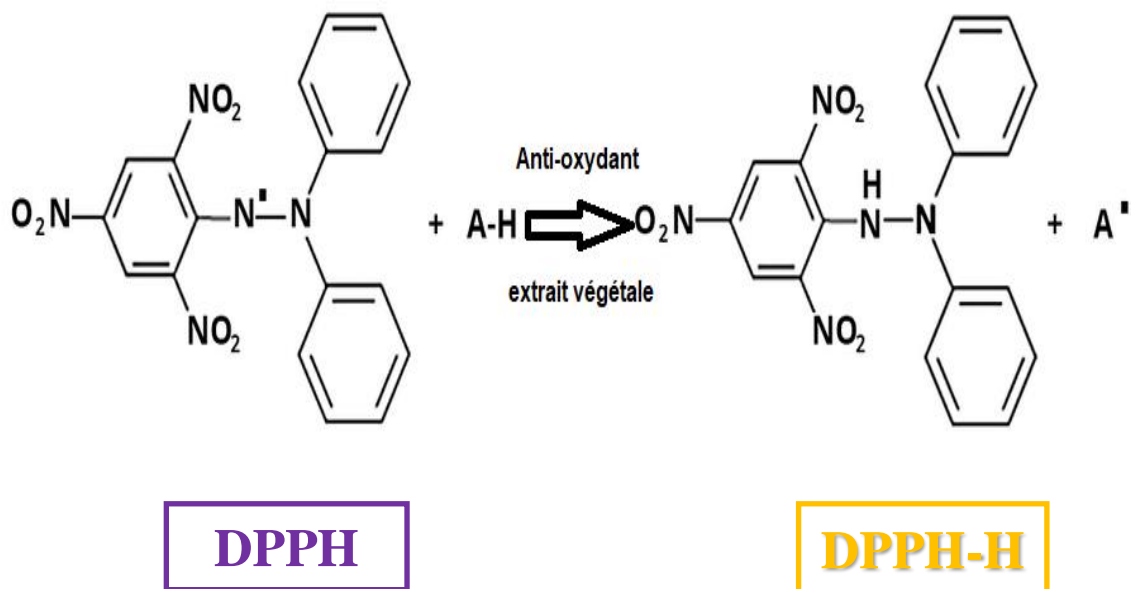


Figure 2.10 : Structure de DPPH et sa réduction par l'antioxydant A-H.

2.4.1. Protocole de la courbe d'étalonnage de la vitamine C

- ✓ Une préparation de la solution mère par 0,0284 g de l'acide ascorbique (Vit C) comme étant le standard en poudre dans 100 ml de l'eau distillée.
- ✓ Une gamme d'étalonnage a été préparée à partir de cette solution mère de différentes concentrations (0.0015 – 0.003 g/l).

Les résultats des capacités antioxydantes (VCEAC) sont exprimés en (mg EQ Vit.C/g de MS).

Le test a été fait selon le protocole suivant :

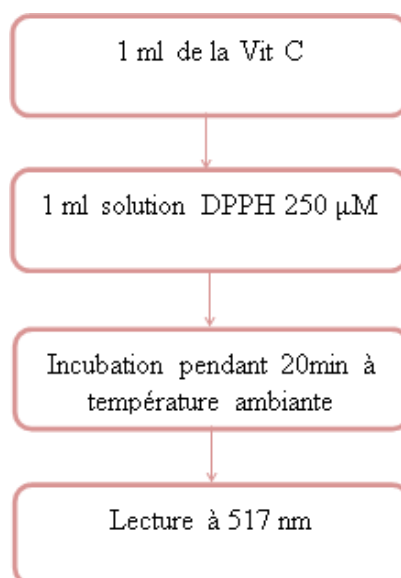


Figure 2.11 : Protocole du test DPPH.

L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm contre un blanc qui contient du méthanol pur.

Le pouvoir d'inhibition (**PI%**) est calculé suivant la relation :

$$\text{(PI \%)} = \frac{A \text{ control} - A \text{ test}}{A \text{ control}} * 100 \quad \text{.....(3)}$$

Avec :

A control : Absorbance du contrôle

A test : Absorbance d'échantillons

2.5. Evaluation de l'activité enzymatique par α -amylase

La présente étude s'intéresse à évaluer l'action des composés phénoliques de l'extrait du *Pistachia atlantica* sur l'activité (inhibition) enzymatique de l' α -amylase.

- **Principe**

Le principe de la méthode de l'activité enzymatique peut être mesuré par différentes techniques physico-chimiques (colorimétrie, spectrophotométrie...etc.) ; en suivant la disparition du substrat ou l'apparition de produit (production du maltose) par les absorbances mesurées.

2.5.1. Préparation

Une série de préparation des réactifs doit se réaliser avant le test de l'activité enzymatique comme suit :

a) Préparation de l'enzyme (α -amylase)

L'enzyme α -amylase utilisée dans notre étude est *Aspergillus Oryzae* EC 3.2.1.1 (source fongique). Elle se présente sous forme lyophilisée. Son activité à pH=6,9, pour une température de 37°C. Sa conservation à - 4°C.

Une solution fille a été préparée à partir d'une solution mère d'enzyme (0.01 g d'enzyme dans 1 ml de solution tampon).

b) Préparation de substrat

Notre substrat s'agit d'une solution d'amidon (source pomme de terre) à 10 g/l qui est préparée dans de l'eau distillée bouillante.

c) Réactif Acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS)

La solution de DNS a été préparée dans 200 ml d'eau distillée par :

- 1 g de DNS
- 20 g tartrate de K et de Na
- 0.05g sulfite de Na
- 2g NaOH

La solution obtenue est de couleur jaune orangé.

d) Tampon

La solution tampon a été préparée dans 1 L d'eau distillée (pH=7) à partir de :

K₂HPO₄ : 0.87g

KH₂PO₄ : 0.68g

KCl : 9g

2.5.2. Courbe d'étalonnage par l'acarbose

Une gamme d'étalonnage a été préparée à partir d'une solution mère d'acarbose de différentes concentrations (3-9 g/l) préparée dans le tampon phosphate (pH=6.9) suivant le protocole ci-dessous (**Figure 2.12**), les résultats sont exprimés en mg équivalent en acarbose par g de matière sèche (**mg EQ Acar/g MS**).

Le pourcentage d'inhibition de nos extraits phénoliques des deux fractions hexanique et acétate d'éthyle est calculer selon l'équation (4).

$$(PI \%) = \frac{A \text{ control} - A \text{ inhib}}{A \text{ control}} * 100 \dots\dots(4)$$

Avec :

PI% : Pouvoir d'inhibition.

A control : Absorbance du contrôle sans inhibiteur ;

A inhib : Absorbance de l'inhibiteur de α -amylase.

Mode Opérateur

a) Contrôle négatif

- ✓ Un tube blanc : 300 μ l de solution tampon + 100 μ l solution enzymatique après incubation de 5mn à 37⁰C on ajoute 100 μ l d'eau distillée.
- ✓ Un tube contrôle négatif : 300 μ l de solution tampon + 100 μ l solution enzymatique après incubation de 5mn à 37⁰C on ajoute 100 μ l de la solution d'amidon (substrat).
Pour chaque contrôle, on prépare un tube blanc qui le correspond.

b) Contrôle positif

- ✓ Un tube blanc : 200 μ l de solution tampon +100 μ l de solution d'extrait + 100 μ l solution enzymatique, après incubation de 5mn à 37⁰C on ajoute 100 μ l d'eau distillée.
- ✓ Un tube d'essai (inhibition) : 200 μ l de solution tampon + 100 μ l de solution d'extrait + 100 μ l de solution enzymatique après incubation de 5mn à 37⁰C on ajoute 100 μ l de la solution d'amidon (substrat).

Le tout sera incubé une deuxième fois pendant 5mn à 37⁰C, 1ml de solution de DNS a été ajouté afin de stopper la réaction puis une dernière incubation est réalisée de 10 mn à 100⁰C dans un bain marie bouillant et déposé après dans un bain d'eau froide ce qui provoquera un choc thermique conduisant à l'arrêt de la réaction. Avant la lecture spectrophotométrique à 530 nm 2ml d'eau distillée ont été ajoutée.

La réaction d'inhibition a été répétée trois fois pour chaque extrait.

L'organigramme ci-dessous récapitule le protocole suivi pour l'activité enzymatique (α -amylase).

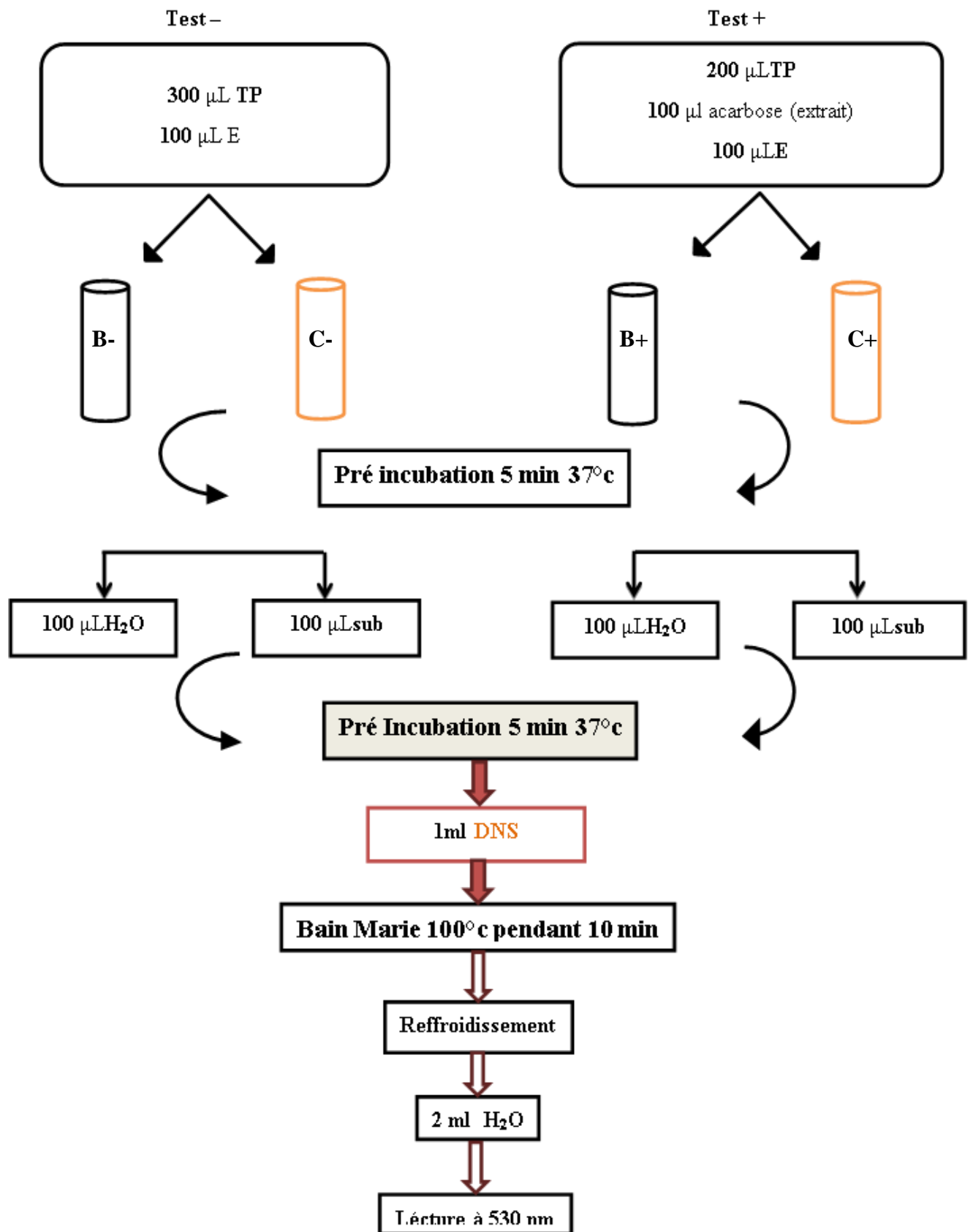


Figure 2.12 : Protocole de l'activité enzymatique.

**Résultats
&
Discussions**

3. Résultats et discussions

3.1. Rendement d'extraction

Les valeurs des rendements en pourcentage des extraits bruts de nos échantillons de chaque fraction (hexane et acétate) des feuilles de *Pistacia atlantica* des deux régions à savoir basse altitude (El Assafia (**A**)) et haute altitude (El Ghaicha (**G**), Tercallel (**T**) et Enfouss (**I**)) en plusieurs mois sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau 3.1 : Rendements des extraits hém et acét pour les échantillons des sites El Assafia (**A**), El Ghaicha (**G**), Tercallel (**T**) et Enfouss (**I**)

	Hexane				Acétate			
	Mai	Sep	Oct	Nov	Mai	Sep	Oct	Nov
A₁M	1,02		0,73		10,44		13,22	
A₂M	0,45		0,71		4,73		8,53	
A₃M	0,74		0,70		19,85		13,44	
A₄M	0,90		0,69		14,10		12,74	
G₁F	0,82	0,75			22,43	32,30		
G₂M	0,58	0,41		0,54	13,35	4,34		18,23
T₀M	0,89	0,60			23,36	14,30		
T₀F	0,22	0,16		0,93	15,11	11,13		10,16
T₁F	0,47	0,66			14,03	11,41		
I₁F	0,53			0,60	14,13			12,81
I₂F	0,76	0,74		0,74	20,70	11,51		9,08

- D'après ces valeurs, on constate que la variation des rendements est enregistrée selon le site et la saison de la récolte ainsi qu'au genre des arbres et notamment aux différentes phases d'extraction (acét et hex).
- Les pourcentages du rendement varient entre (**4,34-32,3%**) pour les extraits acét, et (**0,45 - 1,02%**) pour ceux d'hex où le plus grand correspond à l'échantillon G₁F (acét) du mois de Sept.
- Globalement les rendements des extraits acét sont plus élevés que les extraits hex.
- Les échantillons donnent les meilleurs rendements en mois de Mai, à l'exception d'**A₁M**, **A₂M** et **G₁F**, ce qui confirme l'influence de la saison sur les teneurs.
- Certaines valeurs des rendements sont très proches à titre d'exemple on site **A** en mois d'Oct de la phase hex ainsi **T₁F**, **G₁F** et **I₂F** de la fraction acét en mois de Sept.

- Absence d'influence de la saison sur le rendement en extrait hex de l'échantillon **I₂F** contrairement aux extraits acétate où la saison influe nettement sur son rendement (décroissant).
- Le rendement du genre femelle est très grand pour le site G (**G₂F**) qui traduit l'accumulation des composés phénoliques dans les feuilles de cet arbre en Mai et en Sept dans les deux fractions hex et acét. En revanche, la zone T donne des valeurs plus élevées pour le genre mâle (**T₀M**) à la même période uniquement en fraction acét.
- D'après les résultats obtenus, on constate une variation du rendement vis à vis l'altitude ainsi que la saison et le genre de l'arbre ont une influence dans certain cas, ceci revient véritablement aux facteurs environnementaux (précipitation, rayons UV...etc).

La figure ci-dessous montre la différence de coloration obtenue des extraits obtenus :

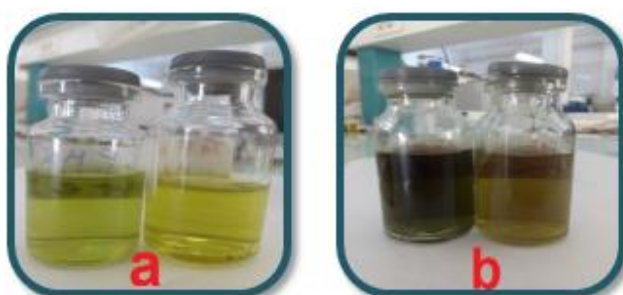


Figure 3.1 : Photo des extraits
a : Hexaniques, **b** : Acétates d'éthyle

Les divers extraits obtenus présentent une différence de coloration apparente pour les deux fractions à savoir acétate d'éthyle et hexanique qui sont respectivement vert foncé et jaune.

3.2. Quantification des composés phénoliques

3.2.1. Teneurs en composés phénoliques totaux

Une analyse quantitative est effectuée par la spectrophotométrie visible afin de calculer la quantité en phénols totaux. Les valeurs de ces derniers pour chaque extrait ont été déterminées à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique obtenue (**voir Figure 3.2**).

Les résultats sont exprimés en mg équivalent en A.G par g de matière sèche (mg EQAG/g M.S).

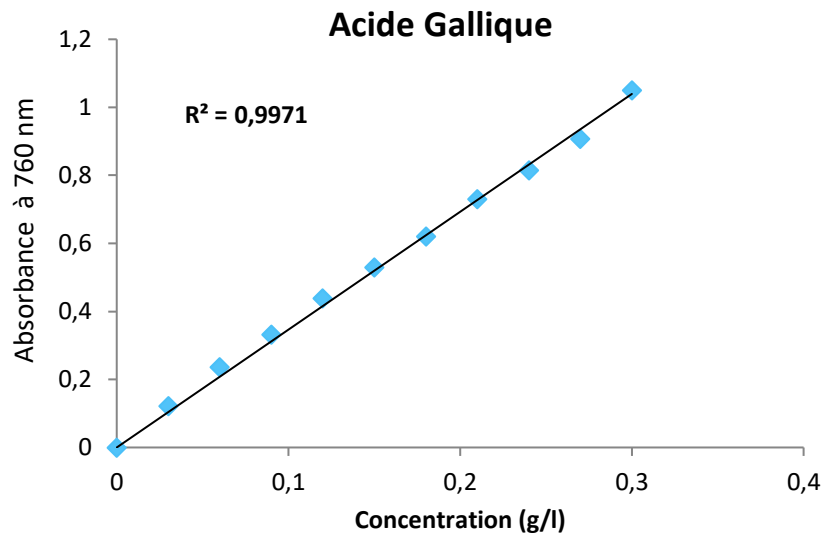


Figure 3.2 : Courbe étalonnage de l'acide gallique.

Les teneurs obtenues sont montrées dans le **tableau 3.2**.

3.2.2. Teneurs en tanins

Test qualitatif des tanins : Ce test nous montre que les feuilles de *Pistacia atlantica* sont riches en tanins par une mise en évidence des tanins condensés confirmée par l'apparition d'une couleur verdâtre de nos extraits dans la fraction acétate d'éthyle tandis qu'une absence totale dans la fraction hexanique.

La courbe étalonnage de la catéchine obtenue :

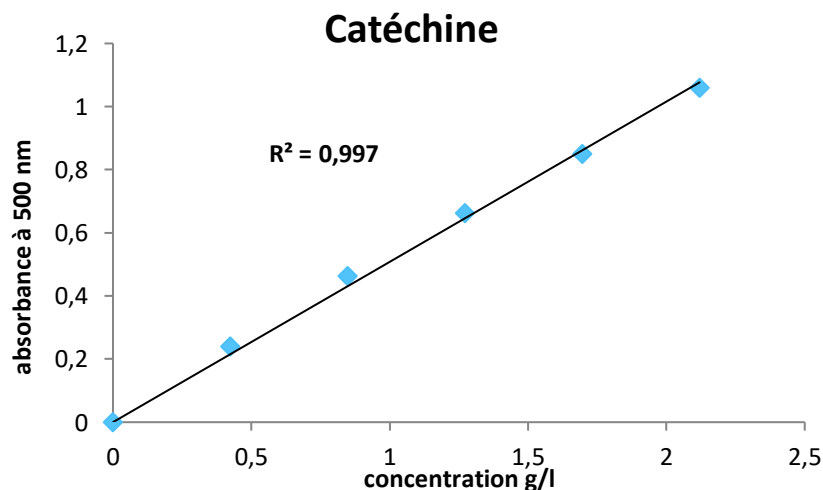


Figure 3.3 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

Les teneurs en tanins condensés des différents extraits de la plante étudiée ont été calculées à partir de l'équation (2) du courbe d'étalonnage de la catéchine exprimées en équivalent de mg de la catéchine /g matières sèche.

a) Site A

Ces teneurs sont variables entre les échantillons de 0,18 à 8,13 mg par g MS pour les feuilles comme indiqué dans le **tableau 3.2**.

Tableau 3.2 : Teneurs en phénols totaux et en tanins dans les fractions hém et acét en deux récoltes pour le site A.

	Phénols totaux						Tanins	
	Mai			Oct			Mai	Oct
	Acét	Hex	Acét	Hex	Acét			
	A₁M	263,77	0.015	165,47	0.237	2.73	6.87	
A₂M	31,64	0.016	58,24	0.22	0.18	1,54		
A₃M	230,13	0.07	131,83	0.1	8,13	2,07		
A₄M	160,18	0.27	150,26	0.14	0,95	1,24		

- A la lumière de ces résultats, on remarque que les extraits de la fraction acét (Mai et Oct) ont une valeur plus élevée par rapport à la fraction hém qui est logique puisque les composés phénoliques passent dans l'acétate d'éthyle qui pourrait être dû à la polarité intermédiaire de ce solvant permettant la solubilisation des composés phénoliques.
- Les teneurs de phénols totaux sont importantes (31,64 -263,77mg/g) ce qui confirme que les feuilles de *Pistacia atlantica* sont enrichissantes en composés phénoliques. Le dosage de ces derniers révèle le classement croissant suivant aux différents échantillons du site El Assafia en mois de Mai respectivement **A₄M**, **A₃M**, **A₁M**. Ces teneurs importantes en phénols totaux peuvent être expliquées par la richesse des arbres du site A caractérisé notamment par sa localisation dans un sol agricole riche en eau d'irrigation permettant d'accélérer davantage cette croissance selon [HARFOUCHE. A, 2005].
- En revanche, l'échantillon **A₂M** se caractérise par une faible teneur en phénols et en tanins.

- Une croissance des teneurs en tanins est remarquée dans tous les échantillons sauf **A₃M**, à titre d'exemple le **A₁M** pour le mois de Mai augmente de 2,73 jusqu'à 6,87 mg EG CAT/g MS en mois d'Oct inversement à celle des polyphénols (263,77- 165,47mg EQ AG/g), qui correspond à la condensation des polyphénols en tanins en automne.
- Le dosage des tanins montre que la plus grande teneur correspond à l'échantillon **A₃M** en mois de Mai et à l'échantillon **A₁M** pour le Mois d'Oct.
- Cette variation est due peut-être à leurs positions vis-à-vis les rayons UV ainsi autres facteurs intrinsèques de chaque arbre.

b) **Site G**

Tableau 3.3 : Teneurs en phénols totaux et en tanins dans les fractions hém et acét pour le site G

	Teneurs (mg/g)								
	Phénols totaux						Tanins		
	Mai		Sept		Nov		Mai	sept	Nov
	Acét	Hex	Acét	Hex	Acét	Hex	Acétate		
G₂M	92.15	0.099	30.04	0.076	177.8	0.026	1.11	0.76	1.41
G₁F	148.79	0.28	153.85	0.27			0.99	7.34	

- La teneur en phénols s'avère importante par rapport au site **G** du genre femelle dans les deux fractions acét et hém dans les mois de Mai et Septembre comparé au genre mâle grâce à la formation des feuilles femelles avant les feuilles mâles.
- En mois de Novembre, la teneur en phénols pour le genre mâle est importante dans la phase acét de l'ordre de 177.8 mg/g, influencée peut-être aux chutes de pluies avant la collecte en ce mois, contrairement à la fraction hém où la teneur est plus grande en mois de Mai. En ce qui concerne **G₁F**, on a une légère augmentation de la teneur du mois de Mai à Sept dans la fraction acét avec une stabilité dans la fraction hém traduit l'absence de l'influence saisonnière sur cet arbre. Cependant, les valeurs des tanins changent avec la saison où on enregistre la plus grande valeur de (7.34 mg/g) dans les feuilles femelles du mois de Sept.

c) Site T

Tableau 3.4 : Teneurs en phénols totaux et en tanins dans les fractions hex et acét pour le site T

	Teneurs (mg/g)								
	Phénols totaux						Tanins		
	Mai		Sept		Nov		Mai	Sept	Nov
	Acét	Hex	Acét	Hex	Acét	Hex	Acét		
T₀M	99.09	0.37	97.94	0.67			3.25	5.56	
T₀F	116.1	0.017	99.99	0.016	61.83	0.75	2.66	5.9	2.65
T₁F	112.9	0.03	93.24	0.185			2.42	6.68	

- L'analyse de l'ensemble des résultats obtenus pour la région T montre que les extraits Acét en polyphénol totaux, sont proches dans les deux saisons à savoir Mai et Sept, contrairement aux tanins qui présentent une augmentation en fonction de la saison.
- On constate une approche de valeurs en fonction de la date de la récolte pour les 3 extraits en tanins avec des valeur plus au moins voisines de l'ordre de 6 mg/g pour le mois de Sept, et 2,66 mg/g en mois de Mai.
- Dans fraction hém, l'ensemble des teneurs sont faibles toutefois **T₀M** prend la meilleure teneur (0,67mg/g).

d) Site I

Tableau 3.5 : Teneurs en phénols totaux et en tanins dans les fractions hém et acét pour le site I

	Teneurs (mg/g)								
	Phénols totaux						Tanins		
	Mai		Sept		Nov		Mai	Sept	Nov
	Acét	Hex	Acét	Hex	Acét	Hex	Acét		
I₁F	109.95	0.024			84.49	0.11	1.54		12.69
I₂F	108.44	0.091	95.82	0.25	88.7	0.31	1.06	1.03	1.04

- Une légère décroissance est enregistrée du mois de Mai vers Nov pour l'échantillon **I₁F**, mais qui reste constante dans les deux arbres du même genre (femelle) pour la fraction acét inversement à celle d'hém qui augmente.

- En revanche, on constate une croissance nette en tanins, du mois de Mai en mois de Novembre pour l'échantillon **I₁F** supérieure à celle de **I₂F**, qui pourrai être expliquée par la coloration rouge des feuilles collectées en ce mois de Novembre due notamment à la formation des tanins en ce mois.

Enfin, il faut noter que la quantité des phénols totaux dans les extraits méthanoliques déterminée est trop élevée en mois de Mai pour la majorité des échantillons par rapport à la quantité des tanins. Cette grande différence est peut-être due au fait que les feuilles de *P. Atlantica* contiennent en plus des composés phénoliques de structures chimiques différentes à part les tanins. De plus, les valeurs des rendements sont variables pour l'échantillon du site A, par exemple l'échantillon **A₁M** présente un rendement de 10,44% avec une teneur maximale en polyphénols totaux interprétée par possibilité de contenir d'autres composés ayant des groupements hydroxyle réagissant avec le Folin-Ciocalteu d'où la forte teneur en phénols élevée (**263,77mg/g**) avec un rendement faible.

3.3. Evaluation de l'activité antiradicalaire par le test DPPH

La courbe étalonnage de la Vit C est représentée comme suis :

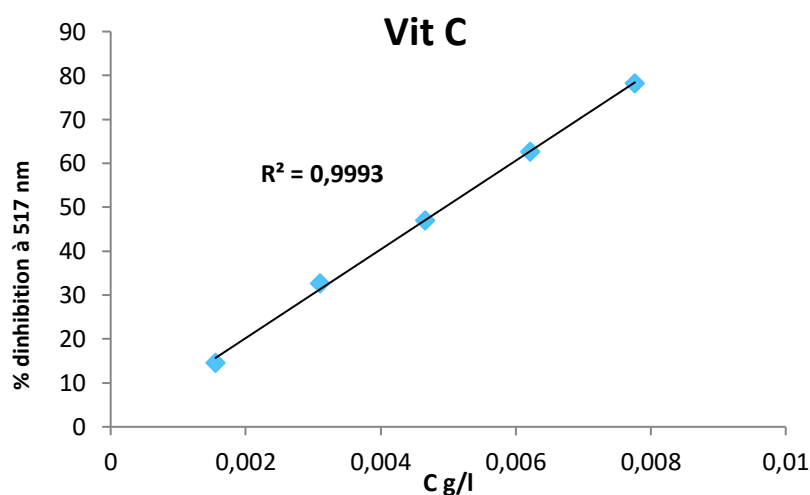


Figure 3.4 : Courbe d'étalonnage de la Vit C.

L'efficacité antioxydante des extraits phénoliques testés exprimée par le rapport R qui représente la concentration de l'inhibiteur nécessaire pour inhiber les radicaux libres dans le milieu réactionnel. De même, nous avons calculé la concentration de l'antioxydant de référence la vitamine C pour le même pouvoir inhibiteur que l'extrait, afin de comparer l'activité de nos extraits par rapport à la Vit C. Les valeurs calculées des concentrations et du rapport R pour les différentes concentrations des extraits sont regroupées dans le **tableau 3.6**.

a) Site A

Tableau 3.6 : Pouvoir inhibiteur, capacité et rapport d'activité (R) anti radicalaire pour le site A

		Activité anti-radicalaire				
		Acétate				
		PI%	VCEAC _{mg/g}	C _{AS} (mg/l)	C _E (mg/l)	R = C _{AS} /C _E
A₁M	Mai	32,88	260.42	3,26	0,65	4,9
	Oct	62,20	492.11	6,16	0,82	7,4
A₂M	Mai	55,53	218.86	5,50	0,59	9,26
	Oct	51,91	411.03	5,14	0,53	9,6
A₃M	Mai	40,41	319.86	4,00	1,2	3,2
	Oct	51,48	406.69	5,10	0,84	6,05
A₄M	Mai	59,56	471.53	5,90	0,88	6,69
	Oct	39,76	314.56	3,94	0,79	4,94

Les capacités de nos extraits acét varient de **218.86 à 492.11** (mg par g de matière sèche) comme indiqué ci-dessus.

A partir du tableau :

- L'extrait **A₄M** en mois de Mai enregistre une valeur maximale en capacité de l'ordre de 471.53 mg/g, alors que pour le mois d'Oct c'est **A₁M** qui prend le dessus avec une valeur de l'ordre de 492.11 mg/g.
- Ces résultats indiquent que les extraits **A₁M**, **A₂M** et **A₃M** ont une bonne activité contre le radical DPPH en mois d'Oct par rapport à celle du mois de Mai, qui va dans le même sens avec les tanins sauf **A₃M** où une diminution de ces derniers est constatée. Ces activités antioxydantes proviennent probablement de la présence de ces tanins pour **A₁M** et **A₂M**. Néanmoins, pour **A₄M** et **A₃M** l'activité ne dépend pas des tanins.
- De même, les rapports de concentrations dévoilent des capacités antiradicalaires très importantes par rapport à la vitamine C, environ 3 à 9 fois plus que l'acide ascorbique respectivement pour **A₂M** Oct et **A₃M** Mai envers le DPPH.
- **A₁M** présente la meilleure teneur en phénol totaux en mois de Mai, par contre il ne donne pas la meilleure valeur VCEAC, ceci est interprété que peut être les phénols totaux ne sont pas responsable de l'activité antiradicalaire et que d'autres composés ayant des structures chimiques semblable de celle des polyphénols qui absorbent dans la même longueur d'onde,

contrairement à **A₂M** qui marque une élévation de composés phénoliques éventuellement responsable de son activité contre le DPPH.

b) Site G

Tableau 3.7 : Pouvoir inhibiteur, capacité et rapport d'activité anti radicalaire pour le site G.

		Activité anti-radicalaire				
		Acétate				
		PI%	VCEAC mg/g	C _{AS} (mg/l)	C _E (mg/l)	R = C _{AS} /C _E
G ₂ M	Mai	50,38	399.05	4,99	0,84	5,9
	Sept	49,30	195.06	4,88	0,54	8,9
	Nov	60,08	475.95	6	1,14	5,2
G ₁ F	Mai	47,20	372.34	4,67	1,41	3,3
	Sept	48,96	385.64	4,85	2,03	2,4

- La capacité de **G₂M** est plus élevée en mois de Nov de l'ordre de 475.95mg/g qui correspond à la teneur maximale en polyphénols qui peuvent être responsable de l'activité par le test DPPH.
- Une corrélation positive a été déterminée entre VCEAC et teneurs en polyphénols par coefficient de 0,88, ce qui traduit que l'inhibition contre le radical DPPH provoquée par les phénols totaux.
- En comparant l'activité des extraits à celle du standard de référence (Vit C), on trouve qu'ils sont environ 2 à 9 fois plus actifs que l'acide ascorbique envers le DPPH notamment pour les échantillons mâles que femelles.

c) Site T

Tableau 3.8 : Pouvoir inhibiteur, capacité et rapport d'activité anti radicalaire pour le site T.

		Activité anti-radicalaire				
		Acétate				
		PI%	VCEACmg/g	C _{AS} (mg/l)	C _E (mg/l)	R=C _{AS} /C _E
T ₀ M	Mai	53,21	421.04	5,27	1,46	3,6
	Sept	46,01	363.45	4,56	0,90	5,
T ₀ F	Mai	41,66	329.64	4,13	0,95	4,4
	Sept	40,11	316.93	3,97	0,70	5,7
	Nov	39,37	311.64	3,90	0,64	6,14
T ₁ F	Mai	38,36	303.58	3,80	0,88	4,34
	Sept	39,93	316.01	3,95	0,71	5,54

- Les capacités antioxydantes VCEAC déterminées sont regroupées dans le **Tableau 3.8** qui sont très proches pour tous les mois à l'exception **T₀M** qui donne une meilleure valeur de l'ordre de 421,04mg/g. En se focalisant sur les deux échantillons **T₀M** et **T₀F**, on déduit que le mâle donne de valeurs légèrement supérieures à celle trouvée pour l'arbre femelle, ceci observé pour chaque mois ce qui nous permet de dire que le genre peut influencer dans certain cas en fonction de la saison de la collecte.
- Une efficacité en activité d'environ 3 à 5 fois plus que l'acide ascorbique est constatée pour l'ensemble des extraits.
- Bien que **T₀F Nov** représente la valeur minimale en composés phénoliques trouvée en ce mois, il reste le plus puissant avec un grand rapport R de l'ordre de 6,13.

d) Site I

Tableau 3.9 : Pouvoir inhibiteur, capacité et rapport d'activité anti radicalaire pour le site I.

		Activité anti-radicalaire				
		Acétate				
		PI%	VCEAC (mg/g)	C _{AS} (mg/l)	C _E (mg/l)	R=C _{AS} /C _E
I ₁ F	Mai	38,45	304.82	3,81	0,88	4,3
	Nov	42,87	338.91	4,25	0,80	5,3
I ₂ F	Mai	48,80	386.25	4,83	1,30	3,7
	Sept	42,30	335.09	4,19	0,72	5,8
	Nov	43,65	345.32	4,32	0,59	7,6

- Les capacités antioxydante des extraits de **I₁F** et **I₂F** obtenues sont comparables aux teneurs des composés phénoliques du mois de Nov où il y a une stabilité plus au moins dans les valeurs dans le même sens, alors que l'extrait **I₂F** présente une puissance au DPPH de l'ordre de 7 fois plus que la vitamine C.
- Une variation légère des teneurs des échantillons **I₂F** et **I₁F** dans chaque mois Mai et Nov.
- Afin de connaître la capacité antioxydante de nos extraits par rapport aux antioxydants de référence, nous avons comparé les valeurs de concentration des extraits par rapport à la vitamine C (**Tableau 3.9**) où l'activité antioxydante de nos extraits phénoliques évaluée par le test DPPH dépassent les concentrations calculées de la vitamine C qui est connue comme un puissant antioxydant.
- En résumé, l'ensemble des extraits de sites de haute altitude à savoir G, T et I connus par un hiver pluvieux et froid (mise à part **G₂M** Nov et **T₀M** Mai) ont des capacités proches qui ne sont pas strictement corrélées, tandis qu'aux échantillons du site A de basse altitude présentent

une instabilité dans les valeurs de capacité antioxydante contre DPPH revient probablement au caractère spécifique pour chaque individu étudié de *Pistacia atlantica*. Quoiqu'il en soit, l'étude de [Chelghoum, M, 2020] menée sur l'influence de l'altitude a montré que les feuilles des régions montagneuses ont une composition chimique et activité antioxydante plus prononcée que celles des dayas (Tilghemt, altitude inférieure) dans des conditions climatiques classiques.

- Toutes les valeurs des capacités VCEAC du site A sont prometteuses en mois d'Oct contrairement aux mois de Mai, due peut-être aux dernières précipitations en Oct. En effet, cette variation est peut-être due aux conditions environnementales et facteurs climatiques : la lumière, la saison, le type de sol.
- Nous avons pu aussi montrer que les phénols et les tanins n'étaient pas soumis de la même manière à l'influence des facteurs environnementaux influencent directement le profil métabolique de la plante avec une grande variation de la teneur en composés phénoliques et en tanins dans les feuilles de *Pistacia atlantica* suivant divers paramètres à savoir la floraison et la fructification de cet arbre qui change avec les zones d'études (arides et semi-arides). L'effet de l'altitude sur la teneur en polyphénols dans les feuilles reste à confirmer notamment pour le site A par des analyses statistiques (ANOVA) et chimiques (HPLC).

Afin de trouver une relation entre l'activité antiradicalaire et le contenu en composés phénoliques présent dans les différents extraits, nous avons calculé le coefficient de corrélations représentant les variations des VCEAC en fonction des différents contenus en phénols totaux et en Tanins (voir **tableau 3.10**).

Tableau 3.10 : Corrélation entre phénols totaux, Tanins et VCEAC.

Corrélation Site	A	G	T	I
VCEAC/ phénols totaux (mg/g)	-0,003	0,88	0,1	-0,04
VCEAC / Tanins (mg/g)	0,23	0,18	0,03	-0,09

A travers le tableau ci-dessus, de très faibles corrélations négatives et positives ont été enregistrées entre le potentiel antioxydant VCEAC et le contenu en phénols totaux ou avec les tanins représentés de l'ordre de -0,04 et 0,1. Tandis que le coefficient de corrélation de 0,88 par rapport aux polyphénols a révélé que ces composés sont responsables de l'activité antiradicalaire.

3.4. Evaluation de l'activité enzymatique

La courbe étalonnage d'inhibition enzymatique obtenue :

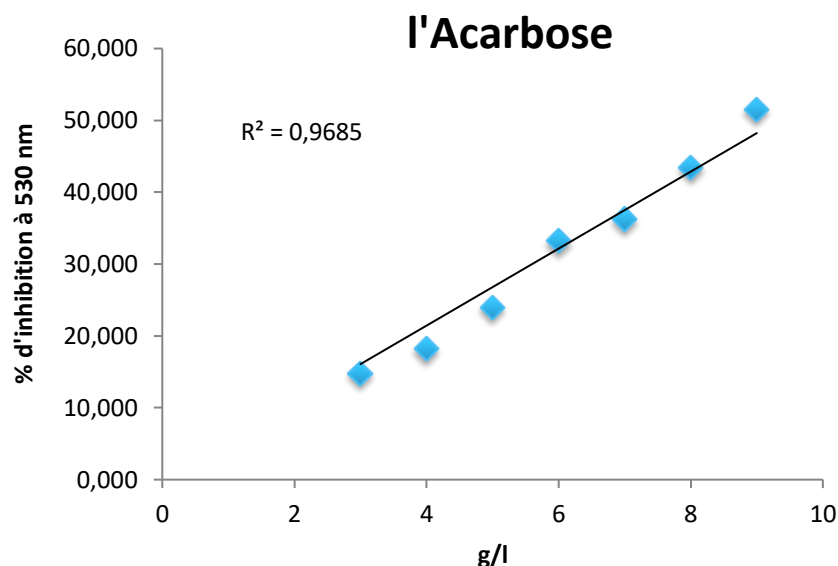


Figure 3.5 : Courbe d'étalonnage de l'acarbose.

Les résultats obtenus à l'aide des mesures spectrophotométriques réalisées sur l'activité enzymatique de l' α -amylase montrent que les extraits de notre plante ont un pouvoir inhibiteur élevé dans la phase acét que celle d'héx.

a) Site A

Tableau 3.10 : Pouvoir d'inhibition de l'activité enzymatique dans les deux fractions acét et hex pour les échantillons prélevés au niveau du site A.

		Activité Enzymatique									
		Acét					Héx				
		PI%	Cap (mg/g)	C _{Ac} (mg/l)	C _E (mg/l)	R= C _{Ac} /C _E	PI%	Cap (mg/g)	C _{Ac} (mg/l)	C _E (mg/l)	R= C _{Ac} /C _E
A ₁ M	Mai	81,43	60,77	15,20	26,12	0,58	19,07	7,11	3,56	5,1	0,69
	Oct	50,84	37,9	9,49	33,10	0,28	18,30	6,82	3,42	3,67	0,93
A ₂ M	Mai	43,95	32,64	8,20	11,88	0,69	19,88	7,38	3,71	2,24	1,65
	Oct	61,67	46,01	11,51	21,33	0,53	19,11	7,12	3,57	3,57	0,99
A ₃ M	Mai	81,39	60,69	15,19	49,66	0,30	30,52	11,38	5,70	3,72	1,53
	Oct	74,36	55,35	13,88	33,69	0,41	33,49	12,46	6,25	3,5	1,78
A ₄ M	Mai	74,94	55,9	13,98	35,27	0,39	36,39	13,57	6,79	4,48	1,51
	Oct	83,83	62,48	15,64	31,91	0,49	21,34	7,95	3,98	3,47	1,14

- La capacité enzymatique est meilleure en fraction acét que la fraction hém.

On ce qui concerne les capacités inhibitrices des extraits **A₁M** et **A₃M**, poursuivent le même sens dans la fraction Acét en mois de Mai, tandis que les extraits **A₁M** et **A₂M** dans la phase hém donnent le même comportement pour tous les mois.

b) Site G

Tableau 3.11 : Pouvoir d'inhibition de l'activité enzymatique dans les deux fractions acét et hém pour les échantillons prélevés au niveau du site G

		Activité Enzymatique									
		Acétate					Hexane				
		PI%	Cap (mg/g)	C _{Ac} (mg/l)	C _E (mg/l)	R= C _{Ac} /C _E	PI%	Cap (mg/g)	C _{Ac} (mg/l)	C _E (mg/l)	R= C _{Ac} /C _E
G₂M	Mai	80,47	60.05	15,01	33,38	0,449	26,59	9.92	4,96	2,92	1,69
	Sept	36,28	54.10	6,77	5,43	1,24	31,46	11.73	5,87	2,05	2,86
	Nov	81,27	60.66	15,16	45,57	0,33	23,74	8.86	4,43	2,71	1,63
G₁F	Mai	89,91	66.83	16,77	56,32	0,29	25,35	9.42	4,73	4,13	1,14
	Sept	84,29	62.56	15,73	81,20	0,19	31,84	11.81	5,94	3,76	1,58

- D'après le Tableau, on constate une stabilité remarquable plus ou moins dans la phase hém ainsi que la phase acét pour chaque échantillon en fonction de la date de récolte à titre d'exemple en mois de Mai les deux extraits G₂M et G₁F présentent des valeurs voisines.

c) Site T

Tableau 3.12 : Pouvoir d'inhibition de l'activité enzymatique dans les deux fractions acét et hex pour les échantillons prélevés au niveau du site T

		Activité Enzymatique									
		Acétate					Hexane				
		PI%	Cap (mg/g)	C _{Ac} (mg/l)	C _E (mg/l)	R= C _{Ac} /C _E	PI%	Cap (mg/g)	C _{Ac} (mg/l)	C _E (mg/l)	R= C _{Ac} /C _E
T₀M	Mai	87,57	65.29	16,34	58,46	0,27	42,52	15.85	7,93	4,47	1,77
	Sept	39,67	29.52	7,40	35,85	0,20	40,77	15.17	7,61	3,03	2,51
T₀F	Mai	72,52	54.06	13,53	37,81	0,35	27,69	10.32	5,17	1,11	4,65
	Sept	61,24	45.59	11,43	27,9	0,41	20,68	7.69	3,86	0,8	4,82
	Nov	51,72	38.58	9,65	25,41	0,37	35,11	13.09	6,55	4,65	1,41
T₁F	Mai	68,65	51.19	12,81	35,11	0,36	31,84	11.87	5,94	2,35	2,52
	Sept	65,87	49.11	12,29	28,56	0,43	31,38	11.7	5,86	3,3	1,77

- En fraction acét, l'activité enzymatique est meilleure en mois de Mai (65,29mg/g) diminuée jusqu'à environ sa moitié en mois de Sept (29,52mg/g) pour l'extrait **T₀M**, ce qui permet de dire qu'il est le plus actif en équivalent d'Acarbose par rapport aux autres échantillons alors que les capacités dans la phase hex restent voisines pour toute la période de la collecte. Cette stabilité est remarquée également pour **T₀F** et **T₁F (acét)** qui sont proches dans les deux mois (Mai et Sept)
- Le mois de Mai enregistre les teneurs les plus élevées pour tous les échantillons dans la fraction acét.
- Concernant la phase hex, on constate une stabilité pour **T₀M** et **T₁F** en fonction de la saison où une capacité enzymatique de l'ordre de 15mg/g dans le mois de Mai et Sept est indiquée. De même pour **T₁F** qui prend le même sens.
- Si on compare les capacités des extraits aux standards de référence (Acarbose), on trouve que l'efficacité ne revient pas au grand pouvoir inhibiteur à titre d'exemple, **T₀M** possédant la plus grande capacité n'est pas actif.
- Il nous semble également important d'indiquer que l'efficacité de **T₀F** hex est nettement supérieure à celle de l'Acarbose (Mai et Sep) avec une capacité inhibitrice sur l'enzyme faible.
- D'une manière générale, les extraits acét sont 2 à 4 fois moins actifs que l'Acarbose, alors que les échantillons hex sont 1 à 5 fois plus efficaces que l'Acarbose suivant cet ordre décroissant : **T₀F** Nov, **T₁F** Sep, **T₀M** Mai, **T₀M** Sep, **T₁F** mai, **T₀F** Mai, **T₀F** Sep.

d) Site I

Tableau 3.13 : Pouvoir d'inhibition de l'activité enzymatique dans les deux fractions acét et hex pour les échantillons prélevés au niveau du site I

		Activité Enzymatique									
		Acétate					Hexane				
		PI%	Cap (mg/g)	C _{Ac} (mg/l)	C _E (mg/l)	R=C _{Ac} /C _E	PI%	Cap (mg/g)	C _{Ac} (mg/l)	C _E (mg/l)	R=C _{Ac} /C _E
I₁F	Mai	80,19	59.84	14,96	35,34	0,42	39,07	14.57	7,29	2,66	2,74
	Nov	66,12	49.25	12,34	32,08	0,38	9,69	3.6	1,81	3	0,6
I₂F	Mai	77,26	57.62	14,42	51,8	0,27	26,43	9.85	4,93	3,78	1,3
	Sept	52,52	39.2	9,80	28,76	0,34	24,64	9.19	4,60	3,71	1,23
	Nov	57,23	42.66	10,68	22,72	0,47	22,62	8.43	4,22	3,72	1,13

La capacité des échantillons dans la fraction acét est plus importante que la fraction hex, où la variation des teneurs n'est pas importante pour les deux extraits dans les deux mois (Mai et Nov). En mois de Mai on a les meilleurs teneurs dans les deux fractions, des deux échantillons **I₁F** et **I₂F**. Ceci peut être expliqué par l'effet activateur qui est dû à la concentration élevée en composés phénoliques.

Il est clair que le rapport R de comparaison entre la concentration des extraits avec la concentration de l'Acarbose est proche de 1 dans la phase hex pour **I₂F** dans les 3 mois de récolte étudiés. De ces résultats on peut conclure que l'efficacité de cet extrait est similaire à l'Acarbose. En revanche, en comparant le rapport R de l'extrait **I₁F** par rapport au standard de référence, nous constatons qu'il est variable selon le mois de la récolte où en mois de Mai, il est plus puissant que l'Acarbose, par contre en mois de Nov, il devient inactif devant ce standard. Cette constatation peut être expliquée par le fait que la composition et la structure chimique des composés phénoliques influent sur l'efficacité inhibitrice par alpha amylase par la spécificité et la capacité de cet inhibiteur de bloquer le site actif de cette enzyme. Citant le cas de **I₁F** qui est riche en tanins le mois de Nov (12,69mg/g), donc on peut suggérer que les tanins ayant des structures plus importantes que les polyphénols et en plus de leur encombrement quelle ne peuvent pas réagir avec α amylase à travers ses sites actifs. Toutefois son inefficacité vis-à-vis l'acarbose.

Ainsi, on aperçoit que malgré le même pouvoir inhibiteur dans la phase acét (**A₁M** et **A₃M**), les extraits ne donnent pas forcément une efficacité vis-à-vis l'Acarbose. Quant à la phase hex, l'ensemble des extraits présentent une puissance assimilable à l'activité de l'Acarbose mise à part le **A₁M** Mai qui est inactif inversement aux **A₃M** qui est avéré puissant.

Par ailleurs, la seule explication peut être traduite par l'existence de certaines molécules responsables de cette activité inhibitrice notamment les terpènes présentes dans la phase apolaire.

Une variation saisonnière est enregistrée comme le cas de **T₀F** par décroissance en teneur de polyphénols du mois de Mai vers mois Nov respectivement (116,1 ; 99,99 ; 61,83mg eq AG/g MS qui va dans le même sens que l'activité inhibitrice de l' α -amylase pour le même extrait à la même période, qui a été montré auparavant dans la littérature par [**Ben Ahmed et Yousfi, 2018**].

Selon [**Chelghoum. M., 2021**], les extraits phénoliques des zones montagneuses sont plus riches en composés phénoliques et plus actifs en favorisant la production des molécules très

bioactives en réponse au stress exercé par l'environnement, qui n'est pas trouvé dans notre étude, surtout une absence de corrélation vis-à-vis du site A avec les autres sites.

Conclusion générale

4. Conclusion générale

Le règne végétal reste un vaste domaine afin de rechercher des agents hypoglycémisants oraux efficaces en réduisant les effets secondaires (légers ou absence totale). C'est pour cela, on s'est intéressé à évaluer l'effet inhibiteur des extraits préparés à partir des feuilles de *Pistacia atlantica* (anacardiées) vis-à-vis de l' α -amylase, qui est très utilisée dans la pharmacopée traditionnelle de notre région pour ces multiples vertus thérapeutiques.

Le travail présenté s'articule autour de l'influence de la date de récolte sur le contenu en phénols totaux ainsi la détermination de l'activité antiradicalaire et inhibitrice alpha amylase provenant de deux sites (G ; T et I) et A par l'étude des principaux composés phénoliques de la fraction acétate et hexanique.

Du point de vue phytochimique, cette plante médicinale s'est révélée riche en composés phénoliques en adoptant la méthode de Folin–Ciocalteu et nous avons mis en évidence la présence des tanins par l'apparition de coloration verdâtre avec FeCl_3 .

Par ailleurs, les résultats montrent que les teneurs des composés phénoliques dans les différents extraits sont variables qui s'étalent entre 31,64 -263,77mg/g. Les taux des composés phénoliques totaux les plus élevés ont été détectés dans les extraits de la fraction acétate d'éthyle. Tandis que les teneurs les plus faibles sont remarquées dans les extraits hexaniques. Aussi, nous avons constaté l'effet de la saison sur les proportions de polyphénols pour certains extraits à savoir **A₁M** et **A₃M**, **I₁F** et **I₂F** ; **G₂M** comparativement aux autres mois de récolte. En Revanche, une absence de l'effet de saison est indiquée sur les autres extraits voir **T₀F** et **T₀M** et **G₁F**.

L'activité antioxydante de nos extraits a été évaluée par le test de l'effet scavenger du radical libre DPPH exprimée en VCEAC qui varient entre 195.06 et 492.11mg Eq Vit C/g. Les extraits des feuilles du *Pistacia Atlantica* possèdent un potentiel antioxydant important. Cela démontre que cette activité antioxydante est due à leurs teneurs en polyphénols totaux, à l'exception d'**A₁M** Mai ayant une forte teneur en phénols totaux avec une VCEAC faible.

- ✓ Une efficacité en activité d'environ 3 à 5 fois plus que l'acide ascorbique est constatée pour l'ensemble des extraits.
- ✓ Le genre peut influencer l'activité antiradicalaire par le test DPPH dans certain cas en fonction de la saison de la collecte comme le cas du site T (**T₀M** et **T₀F**) également pour le site G où **G₂M** est plus puissant que **G₂F**.

Les résultats obtenus suggèrent que les feuilles de *Pistacia atlantica* peuvent former une bonne source d'inhibiteurs efficaces de l'enzyme alpha-amylase. En comparant le rapport R d'efficacité des extraits vis-à-vis l'Acarbose utilisé comme un standard, nous constatons que dans la fraction acétate d'éthyles, l'ensemble est inactif sauf **G₂M Sep**. Cependant, dans la fraction hexanique la plupart des extraits sont avérés actifs avec une variation du R en fonction de la saison de la collecte prenant le cas de **I₁F** (très puissant en mois de Mai mais il devient inactif devant ce standard en mois de Nov), revient à la composition et la structure chimique des composés phénoliques ou bien une synergie qui influent sur l'efficacité inhibitrice par α -amylase.

- ✓ A partir de ces résultats, on suppose que les tanins ayant des structures plus importantes que les polyphénols et en plus de leur encombrement quelle ne peuvent pas réagir avec α amylase à travers ses sites actifs. Toutefois son inefficacité vis-à-vis l'acarbose.
- ✓ D'une manière générale, les extraits acétates sont 2 à 4 fois moins actifs que l'Acarbose, alors que les échantillons hexaniques sont 1 à 5 fois plus efficaces que le standard Acarbose suivant cet ordre décroissant : **T₀F Nov**, **T₁F Sep**, **T₀M Mai**, **T₀M Sep**, **T₁F mai**, **T₀F Mai**, **T₀F Sep**.

Néanmoins, ce résultat, obtenu pour *Pistacia atlantica*, reste à confirmer avec des analyses chimiques notamment la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

Ce travail nous a permis l'obtention des résultats encourageants mais reste une étude préliminaire qui ouvre des perspectives telles que :

- Une étude approfondie pour le site A est recommandée.
- Des études et analyses complémentaires sont nécessaires pour identifier, isoler et purifier des molécules bioactives.
- Etablir des relations structure/activité solide par une multiplication du nombre d'essai.
- Utiliser d'autres solvants d'extraction.
- Réaliser d'autres tests de l'activité antioxydante.
- Détermination de la composition chimique des extraits phénoliques.
- Evaluation d'autres activités comme l' α -glucosidase.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

- Abdenbi, A. (2014). Etude Eco-Biologique et conservation par séchage convectif du Pistachier de l'atlas (Bétoum, Algérie occidentale). *Food Science and Engineering*, 96-106.
- Afifi, H. I. (2004). Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. *Ethnopharmacology*, 93, 117-121.
- Ait. Said, S, F. C. (2011). Inter-population variability of leaf morphoanatomical and terpenoid patterns of *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *Atlantica* growing along an aridity gradient in Algeria. *Flora*, 206, 397-405.
- Amar, Z, L. E. (2002). Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in the kingdom of Jordan. *Ethnopharmacology*, 82(2-3), 131-145.
- Aruoma, & Q.I. (1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Am Oil Chem Soc*, 75, 199–212.
- Barrero, A. F. (2005). Chemical composition of the essential oils of *Pistacia atlantica* Desf. *Essential Oil Research*, 17, 52-54.
- Ben Ahmed, Z. Y. (2021). Four *Pistacia atlantica* sub species (*atlantica*, *cabulica*, *kurdica* and *mutica*). *Ethnopharmacology*, 265, 113-329.
- Benabdallah, F. Z. (2012). *Etude morphologique des feuilles et des fruits du pistachier de l'atlas (Pistacia atlantica Desf.) et valorisation des huiles essentielles des feuilles et de l'oléorésine*. Université mohamed Kheider de Biskra.
- Benhassaini, H, B. M. (2007). The chemical composition of fruits of *Pistacia atlantica* Desf. Subsp. *atlantica* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(2).
- Bougandoura, N, e. B. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*(9), 14– 19.
- Bozorgi, M, M. Z.-A. (2013). Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. 33. Tehran.Iran: the Scientific World Journal.
- Chebouti-Meziou, N. A, M. Y.-B. (2014). Effect of cold and scarification on seeds germination of *Pistacia atlantica* L. for rapid multiplication. *Bot*, 46(2), 441-446.
- Chelghoum, M, G. H. (2020). Total Tocopherols, Carotenoids, and Fatty Acids Content Variation of *Pistacia atlantica* from Different Organs' Crude Oils and Their Antioxidant Activity during Development Stages. *Chem. Biodiversity*.

- Chelghoum. M., G. H. (2021). Influence of altitude, precipitation, and temperature factors on the phytoconstituents, antioxidant, and α -amylase inhibitory activities of *Pistacia atlantica*, Rahmani. F. Z, Khenifer. F, Yousf. M. *Food Measurement and Characterization*.
- DJEFFEL.L. (2017). Contribution à l'étude phytochimique de quelques métabolites secondaire (tanins, flavonoïdes, alcaloïdes) du calice de *Carlina acaulis* de la région de Tlemcen. Université Aboubekr Belkaid de Tlemcen: mémoire de Master.
- El-Hilaly. J, H. M. (2003). Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taouante province (Northern Morocco). *Ethnopharmacology*, 86, 149-158.
- Guessan J.D., B. A.-G. (2007). In vitro assays for bioactivity-guided isolation of antisalmonella and antioxidant compounds . *African Journal of Biotechnology*.
- Hanane, B. (2017). *Effet inhibiteur des extraits de Zygophyllum*. Mémoire , Université Abou Bekr Belkaid , Biologie, Tlemcen.
- HARFOUCHE. A, C.-M. N. (2005). Comportement comparé de quelques provenances algériennes de pistachier de l'Atlas introduites en réserve naturelle de Mergueb (Algérie). (2), 135-142.
- Historique-meteo. (2020). <https://www.historique-meteo.net/afrique/algerie/laghouat/2020>.
- Ihcn Khacheba, A. D. (2014). Twenty Traditional Algerian Plants Used in Diabetes Therapy as. *Carbohydrate Chemistry*, 10, 12.
- Joon-Kwan. M, T. S. (2009). Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *Agric. Food Chem*, 57, 1655–1666.
- Kebour., D. (2004). *Micropropagation, clonage et embryogenese somatique du pistachier de l'atlas (PistaciaatlanticaDesf)*. Mémoire de Magister, , Université Saad dahlab de Blida.
- Khacheba. I, D. A. (2014). Twenty Traditional Algerian Plants Used in Diabetes Therapy as. *Carbohydrate Chemistry*, 10, 12.
- Labdelli A., R. A. (2020). Nutritional Content and Antioxidant Capacity of the Seed and the Epicarp in Different Ecotypes of *Pistacia atlantica* Desf. Subsp. *Atlantica*. *plants*, 13(2).
- Lister E, W. P. (2001). Measurement of total phenolics and ABTS assay for antioxidant activity. (*personal communication*), *Crop Research Institute: Lincoln, New Zealand*.
- M. Yousfi, A. D. (2009). Isolation and characterization of a new hispolone derivative from antioxidant Extracts of *Pistacia atlantica*. *Phytotherapy Research*, 23, 1237-1242.
- Mahbubeh Bozorgi, Z. M.-A. (2013). Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. 33. Tehran.Iran: the Scientific World Journal.

- Mahjoub, F, A. K. (2018). Pistacia atlantica Desf. Phytochemicals and pharmacology. *medicine and life*, 11(3), 180–186.
- Martin L. Price, S. V. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Agric. Food Chem*, 26, 1214-1218.
- Mecherara-Idjeri. Hassani. S, A. C. (2008). Composition and chemical variability of the essential oil from Pistacia lentiscus L. *essential oil Research*, 20, 32-38.
- Monjauze., A. (1980). Connaissance du bétoum Pistacia atlantica desf. *R.F. F.*, 9, 356-363.
- MRABTI, H. N. (2018). *Étude Pharmacologique Toxicologique de l'Arbutus unedo L.au Maroc*. Thèse de doctorat , Université Mohammed V de Rabat, Morocco .
- Nascimento.M.S, S. M. (2013). *Phenolic Extractives and Natural Resistance of Wood*. doi:10.5772-52777.
- Oboh.G, O. O. (2016). Influence of Gallic acid on α -amylase and α -glycosidase inhibitory properties of acarbose.
- Ozturk, E. A. (2011). Ethnomedicinal studies on the plant resources of East Anatolia, Turkey. *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, 19, 756-777.
- Peksel. A, A.-A. I. (2010). Evaluation of antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of the extracts of Pistacia lentiscus Desf leaves. *Food Biochemistry*, 34, 451-476.
- Qian.M, H. R. (1994). The active center of a mammalian alpha-amylase. Structure of the complex of a pancreatic alpha-amylase with a carbohydrate inhibitor refined to 2.2-A resolution. *Biochemistry*, 33(20), 94-6284.
- Rowshan, V. B. (2013). Volatile compounds of Pistacia atlantica Desf. Galls and leaves by Combi-PAL system technique. *Engineering and Applied Sciences*, , 796-798.
- Sifi. I, Y. M. (2020). Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de galles du Pistachier de l'Atlas (Pistacia atlantica Desf.) en Algérie. *Phytothérapie*, 18(6), 399-406.
- Tzakou. O, B. I. (2007). Volatile metabolites of Pistacia atlantica Desf. From Greece. *Flavour and Fragrance*, 22, 358-362.
- Vermerius. W, N. R. (2006). Phenolic compound biochemistry. *Springer, Dordrecht, ISBN ; 101*, 4020-5163.
- Yaaqobi A., E. H. (2009). Etude biologique de Pistacia atlantica Desf de la région orientale du Maroc. *Biomatec Echo*, 23, 1237-1242.
- Yousfi. M, N. B. (2002). Fatty acids and sterols of Pistacia atlantica fruit oil. *the American Oil Chemists' Society*, 79, 1049-1050.
- Yousfi.M, D. B. (2009). Isolation and characterization of a new hispolone derivative from antioxidant Extracts of Pistacia atlantica. *Phytotherapy Research*, 23(9), 1237-1242.

Annexes

Annexes B

Tableau : Utilisation traditionnelles de *Pistacia atlantica*.

Région	Parti végétal utilisée	Utilisation traditionnelles
Algérie	Fruit	Maux d'estomac, toux, stress, tonique et antidiarrhéique (Yousfi M., 2002) (Mecherara-Idjeri S., 2008)
Grèce	Fruit	Arôme de bouche, bronzage et comme fourrage (Tzakou O., 2007)
	Partie aérienne	Vétérinaire (Tzakou O., 2007)
Iran	Fruit	Antidiarrhéique (Bozorgi M., 2013)
	Résine	Ulcère gastroduodéal, assainisseur de bouche, antiseptique, apéritif, adoucissant, troubles gastro-intestinaux et mal du transport (Bozorgi M., 2013)
Jordanie	Résines & écorce	Douleurs articulaires, maux de dents, cicatrisant (Ait. Said S., 2011)
	Fruit	Maux d'estomac (Amar Z., 2002)
	Feuilles	Anti-diabétique (Afifi, 2004)
Maroc	Feuilles	Infection oculaire (El-Hilaly J., 2003)
	Résines	Renforteur de tissu gingival, désodorisant respiratoire, toux, frissons et maladies de l'estomac (Barrero, 2005)
Turquie	Fruit	Maladie de la bouche (Ozturk, 2011)
	Feuille	Comme légumes et nourriture (Peksel A., 2010)
	Résine	Cicatrisation des plaies (Ozturk, 2011)

Résumé

الملخص:

يتم استخدام النباتات الطبية بشكل كبير، نظرًا للتسمم والآثار الجانبية غير المرغوب فيها للجزيئات الاصطناعية. في هذا السياق، يتعلق العمل الحالي بدراسة كيميائية نباتية للبوليفينول الموجود في أوراق الفستق الاطلسي حيث تم إجراء تقييمًا لأنشطتهم المضادة للجذور الحرة بواسطة DPPH والمثبط ضد α -اميلاز بشكل اختياري. أظهر التحليل الكمي لمستخلصاتنا تركيزًا عاليًا من 31.64 إلى 263.77 مغ مكافئ حمض الغاليك / غ المادة الجافة في البوليفينول ومنخفض في التانين في جزء الأسيتات، وهو متغير حسب الموسم ونوع الشجرة، على عكس مستخلص الهكسان الذي يتضمن نسبة أقل. أظهرت نتائج النشاط المضاد للجذور الحرة ازاحة لجذر DPPH (195,06 و 492,11مغ مكافئ Vit C / غ). بالإضافة إلى ذلك، لوحظ تثبيط مشابه لتثبيط الأكاربوز خاصة في مرحلة الأسيتات. تؤكد هذه الدراسة ثراء هذا النبات في المركبات الفينولية بالإضافة إلى قدرته التثبيطية تجاه، الفا اميلاز في جزء الهكسان أو حتى 5 مرات أكثر نشاطًا.

الكلمات المفتاحية: الفستق الاطلسي، المركبات الفينولية، التانين، النشاط المضاد للجذور الحرة، الفا اميلاز .

Résumé :

L'utilisation des plantes médicinales reste en progression constante, vu la toxicité et les effets secondaires indésirables des molécules de synthèse. Dans ce contexte, le présent travail porte sur une étude phytochimique des polyphénols contenus dans les feuilles de *Pistacia atlantica*. Une évaluation de leurs activités antiradicalaire par DPPH et inhibitrice vis-à-vis α -amylase a été éventuellement effectuée. L'analyse quantitative de nos extraits a montré une concentration importante de 31,64 à 263,77mg (EqAG)/g MS en polyphénols et réduite en tanins dans la fraction acétate, qui est variable selon la saison et le genre d'arbre, contrairement à l'extrait hexanique qui comprend des teneurs plus faibles. Les résultats de l'activité antiradicalaire ont révélé un effet piègeur important du radical DPPH (195,06 et 492,11mg Eq Vit C/g). De plus, une inhibition comparable à celle de l'acarbose a été observée en particulier dans la phase acétate. Cette étude confirme la richesse de cette plante en composés phénoliques ainsi que son potentiel inhibiteur vis-à-vis de l' α -amylase dans la fraction hexanique voir 5 fois plus actif.

Mots clés : *Pistacia atlantica*, composés phénoliques, tanins, activité antiradicalaire, α -amylase

Abstract:

The use of medicinal plants continues to grow steadily, given the toxicity and unwanted side effects of synthetic molecules. In this context, the present work presents a phytochemical study of the polyphenols found in the leaves of *Pistacia atlantica*. An evaluation of their anti-free radical activity by DPPH and inhibitory effect on α -amylase was further carried out. The quantitative analysis of our extracts showed a high concentration of 31.64 to 263.77 mg (EqAG) / g MS in polyphenols and a reduced concentration in tannins in the acetate fraction, which is variable depending on the season and the type of tree, unlike the hexane extract which includes lower contents. The results of the anti-radical activity revealed a strong scavenging effect of the DPPH radical (195.06 and 492.11 mg Eq Vit C / g). Furthermore, an inhibition effect comparable to that of acarbose was observed especially in the acetate phase. This study confirms the richness of this plant in phenolic compounds as well as its inhibitory potential on the α -amylase in the hexane fraction, even 5 times larger more active.

Key words: *Pistacia atlantica*, phenolic compounds, tannins, anti-radical activity, α -amylase.
