

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Sétif 1 Ferhat Abbas
Faculté des Sciences de La

Nature et de La vie



جامعة سطيف فرحات عباس
كلية العلوم الطبيعية والحياة

Département de Biochimie

N°.....Bioch /SNV/2025

MEMOIRE

Présenté par :

Anfal Bounecheda

Rayene Boulegroun

Pour l'obtention du diplôme de

Master

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie Appliquée

THÈME

Activité anti-inflammatoire et évaluation de la toxicité *in vivo* des extraits aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus* L

Soutenu publiquement le : 29/06 /2025

Devant le jury

Président : Dr BENMERZOUG ABDELMOUMEN

MCA

ENS de Ouaragla

Promoteur : Dr BENZIDANE NADIA

MCA

UFAS1

Examineur : Dr TADRENT WAFA

MCB

UFAS1

Laboratoire de Biochimie Appliquée

2024-2025

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, nous rendons grâce tout d'abord A Dieu, le Tout-Puissant, source de miséricorde, qui nous a donné le courage et la persévérance nécessaires pour mener ce projet à bien. C'est avec une profonde reconnaissance que nous Le remercions pour ses bienfaits tout au long de notre parcours.

Nous tenons à remercier notre encadreur Professeur Benzidane Nadia Vve Djenane pour son soutien continu, sa présence, son attention, sa confiance et ses conseils précieux et sages tout au long de ce travail. Cela reflète ses compétences et ses qualités humaines authentiques. Que Dieu vous protège, chère professeure.

On tient à exprimer notre profonde gratitude, aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer notre mémoire de fin d'études. Nous remercions tout particulièrement Benmerzoug Abdelmoumen : Ecole normale supérieure de Ouargla, pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider cette soutenance, pour ses remarques pour sa lecture attentive, ses observations constructives. On souhaite également remercier chaleureusement Docteur Tadrent Wafa pour l'attention portée à notre travail et pour ses remarques pertinentes qui ont enrichi cette étude.

Nous remercions tout particulièrement, Monsieur Kaarouche Hocine, coordinateur des activités paramédicales chef de service anatomie-pathologie CHU Sétif. Un grand monsieur. Nous remercions également Docteur Benouna Amina et Docteur Khalfi Asma CHU Sétif, pour leurs aides, leurs interprétations des coupes histologiques, leurs explications et conseils précieux, ainsi que leur vision pratique, pour laquelle nous leur sommes très reconnaissantes. Nous souhaitons exprimer notre sincère gratitude à Karima et Safia pour leur aide précieuse.

Nous remercions également nos familles chères pour leur encouragement et leur soutien.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire. Que chacun trouve ici l'expression de notre profonde gratitude.

DEDICACES

Celui qui a dit « Je l'ai » l'a réalisé

Le chemin n'a pas été court, et il n'aurait pas dû l'être.

Le rêve n'était pas proche, ni la route pavée de facilités, mais je l'ai fait et je l'ai réalisé.

Loué soit Dieu, avec amour, remerciements et gratitude, par la grâce duquel je vois aujourd'hui un rêve tant attendu devenir réalité et je suis fier.

*Je dédie ma remise de diplôme à mon ange pur et à ma force après Dieu, mon premier et éternel soutien, **ma mère**, sans vos prières, elle n'aurait pas existé. Je suis reconnaissant que dieu vous ait choisi pour moi parmi tous les êtres humains.*

*Je dédie mon accomplissement à celui dont je porte fièrement le nom, à celui qui a débarrassé mon chemin des épines pour m'ouvrir la voie de l'apprentissage, **mon cher père**.*

*Je dédie ma joie à ceux qui ont cru en mes capacités, mes chers frères **Khaled** et **Djallal Eddine**, que Dieu vous garde comme un soutien indéfectible.*

*Je remercie mon cher et distingué professeur **Benzidane Nadia** J'éprouve pour toi tout mon amour, toute ma reconnaissance et tout mon respect pour tes efforts et tes initiatives tout au long de notre travail. Puisses-tu rester un bon modèle pour moi.*

À toutes ma famille et mes amis....

Anfal

À cette occasion,

Je dédie cette mémoire à tous,

*Plus particulièrement **À ma mère** qui a prié pour ma réussite dans mes études.*

***À mon père** qui m'a encouragé et a travaillé dur avec moi tout au long de mon parcours universitaire.*

*À ma sœur **Sirine** qui m'a convaincu de ma capacité à réussir.*

*À mon frère **Nazim** qui me succédera dans la réussite que j'ai obtenue aujourd'hui.*

*À mon professeur madame **Benzidane Nadia** qui m'a enseignée, guidée et guidée mes études sur le chemin qui m'a conduit à cette réussite.*

*Et, je la dédie également à tous mes amis qui m'ont soutenu surtout mon amie **Abir***

*Et à tous les membres de ma famille **ma tante et ma grand- mère.***

Rayene

Résumé

Pistacia lentiscus L. (*P. lentiscus*) est un arbuste à feuilles persistantes (famille des Anacardiaceae) principalement présent dans le bassin méditerranéen. Très utilisée en médecine traditionnelle en Algérie pour ses propriétés thérapeutiques. A cet effet, notre thématique de recherche a pour objectifs d'établir le profil toxicologique, d'évaluer l'effet antioxydant et effet anti-inflammatoire *in-vivo* des extraits aqueux de feuilles de *Pistacia lentiscus* (EAFPL). L'examen phytochimique réalisé sur extrait aqueux des feuilles a montré une richesse de cette plante en composés bioactifs tels que les flavonoïdes et les composés phénoliques. Les extraits aqueux de *Pistacia lentiscus* ont montré une activité anti-radicalaire envers le DPPH. Comparé au BHT (un puissant antioxydant synthétique) qui a une CI_{50} de 0.087 mg/ml, les extraits de *P. lentiscus* possèdent une activité antioxydante plus faible une CI_{50} de 0.11 mg/ml. Une étude de toxicité aiguë a été réalisée chez la souris NMRI afin d'évaluer les effets de l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus*. Deux doses orales ont été testées : 2g/kg et 5g/kg. Des signes cliniques tels que l'asthénie, l'anorexie et une réduction de la mobilité ont été observés dans les deux groupes traités. Aucun cas de mortalité n'a été noté à la dose de 2000 mg/kg, tandis que deux décès ont été enregistrés dans le groupe recevant 5000 mg/kg. Ces résultats suggèrent une toxicité dose-dépendante à forte concentration. *Pistacia lentiscus* est considérée comme une plante médicinale légèrement toxique. La DL_{50} est située entre 2000 mg/kg et 5000 mg/kg. Dans l'arthrite induite par la formaline chez les souris NMRI, le traitement administré par voie orale à des doses 100 mg/kg, 200 mg/kg et 300 mg/kg, a révélé une inhibition du gonflement des pattes dose dépendante. Modérée à 200 mg/kg et importante à 300 mg/kg. Les résultats d'analyse anatomiques ont montré que les extraits de la plante réduisaient l'épaisseur de l'œdème et présentent un potentiel thérapeutique contre l'arthrite. Les résultats finaux de cette étude sont satisfaisants et montrent que l'extrait aqueux de feuilles de *Pistacia lentiscus* L présente une activité anti-inflammatoire doses-dépendante. Cette étude soutient l'utilisation traditionnelle de cette plante pour traiter certaines maladies et pourrait constituer une base pharmacologique pour son utilisation thérapeutique dans les cas d'inflammation.

Mots clés : Activité anti-inflammatoire, Activité antioxydante, Composés phénoliques, DPPH, Effet antiarthritique, *Pistacia lentiscus* L, Œdème, Toxicité aiguë.

الملخص

شجرة الفستق اللينيسك (*Pistacia lentiscus* L.) وشجيرة دائمة الخضرة من فصيلة السماقيات (Anacardiaceae) ، تنتشر بشكل رئيسي في حوض البحر الأبيض المتوسط. تُستخدم هذه النبتة على نطاق واسع في الطب التقليدي في الجزائر ، بفضل خصائصها العلاجية. وتهدف دراستنا إلى تحديد السمي للنبات، وتقييم تأثيره المضاد للأوكسدة والمضاد للالتهاب داخل الجسم الحي لاستخلاص الأوراق المائي لنبات *Pistacia lentiscus* (EAFPL).

أظهرت التحاليل الكيميائية النباتية أن المستخلص المائي للأوراق غني بالمركبات النشطة بيولوجيًا، خاصة الفلافونويدات والمركبات الفينولية. وقد أظهر المستخلص نشاطاً مضاداً للجذور الحرة باستخدام اختبار DPPH ، لكنه أقل فعالية مقارنة بمضاد الأوكسدة الصناعي (BHT) حيث بلغت قيمة IC_{50} للمستخلص 0.11 ملغ/مل مقابل 0.087 ملغ/مل لـ (BHT).

أُجريت دراسة للسمية الحادة على فئران NMRI لتقييم تأثير المستخلص المائي للأوراق بجرعتين فمويًا: 2000 ملغ/كغ و 5000 ملغ/كغ. لوحظت أعراض سريرية مثل الضعف العام (الوهن)، فقدان الشهية، وانخفاض في النشاط الحركي في كلا المجموعتين. لم تسجل أي وفيات عند جرعة 2000 ملغ/كغ، بينما سجلت حالة وفاة عند جرعة 5000 ملغ/كغ. وتشير هذه النتائج إلى وجود سمية تعتمد على الجرعة عند التركيزات العالية. وبالتالي، يُعتبر *Pistacia lentiscus* نبتة طبية ذات سمية خفيفة، وتقدر الجرعة المميّنة النصفية (LD_{50}) بين 2000 و 5000 ملغ/كغ.

كما أظهرت دراسة تأثيره المضاد للالتهاب في نموذج التهاب المفاصل المستحث بالفورمالين على فئران NMRI ، أن المعالجة الفموية بجرعات 100، 200، و 300 ملغ/كغ أدت إلى تثبيط انتفاخ الأقدام بشكل يعتمد على الجرعة، وكان التثبيط متوسطاً عند 200 ملغ/كغ وملحوظاً عند 300 ملغ/كغ. وأكد التحليل التشريحي أن المستخلصات ساهمت في تقليل سمك الوذمة، مما يدل على وجود إمكانات علاجية ضد التهاب المفاصل.

تُظهر نتائج هذه الدراسة أن للمستخلص المائي لأوراق *Pistacia lentiscus* L. نشاطاً مضاداً للالتهاب يعتمد على الجرعة، وتدعم استخدامه التقليدي في علاج بعض الأمراض، وقد يُشكّل أساساً فارماكولوجياً لاستخدامه في الحالات الالتهابية.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للالتهاب، المركبات الفينولية، مستخلص الأوراق المائي، التأثير المضاد للالتهاب المفاصل، *Pistacia lentiscus* L، السمية الحادة، النشاط المضاد للأوكسدة DPPH .

Abstract

Pistacia lentiscus L. is an evergreen shrub from the Anacardiaceae family, widely distributed in the Mediterranean basin. In Algeria, it is traditionally used for its therapeutic properties. In this context, the aim of our study was to establish the toxicological profile and to evaluate the in vivo antioxidant and anti-inflammatory effects of the aqueous leaf extracts of *Pistacia lentiscus* (PLEAF). Phytochemical analysis of the aqueous extract revealed a high content of bioactive compounds, particularly flavonoids and phenolic compounds. The extracts showed free radical scavenging activity in the DPPH assay, although slightly lower than that of BHT ($IC_{50} = 0.11$ mg/mL compared to 0.087 mg/mL for BHT). An acute toxicity study was conducted in NMRI mice to evaluate tolerance at doses of 2 g/kg and 5 g/kg. Clinical signs such as asthenia, anorexia, and reduced mobility were observed in both treated groups. No mortality was recorded at 2000 mg/kg, while two deaths occurred at 5000 mg/kg. The estimated LD_{50} is therefore between 2000 mg/kg and 5000 mg/kg, indicating moderate toxicity at high doses. Furthermore, the anti-inflammatory activity was investigated in a formalin-induced arthritis model in NMRI mice. Oral administration at doses of 100, 200, and 300 mg/kg resulted in a dose-dependent inhibition of paw swelling, with moderate inhibition at 200 mg/kg and inhibition at 300 mg/kg. Histopathological analysis confirmed a reduction in edema, highlighting the plant's therapeutic potential against arthritis. In conclusion, the findings of this study demonstrate that the aqueous leaf extract of *Pistacia lentiscus* L possesses dose-dependent anti-inflammatory activity. These results support its traditional use and may provide a pharmacological basis for its application in the treatment of inflammatory conditions.

Keywords : Acute toxicity, Anti-arthritic effect Anti-inflammatory activity, Antioxidant activity, Edema, Phenolic compounds, *Pistacia lentiscus* L.

Liste des abréviations

A549 : lignée cellulaire humaine largement utilisée en recherche, dérivée d'un cancer du poumon

AINS : Anti-inflammatoire Non Stéroïdiens.

AIS : Anti-inflammatoire Stéroïdiens.

ALAT : Alanine aminotransférase

AlCl₃ : Trichlorure d'Aluminium

ASAT : Aspartate aminotransférase

BHT: Butylhydroxytoluène

CL50 : Concentration létale 50

COX : Cyclo-oxygénases

CRP : C-réactive protéine

DAMP : Damage-Associated Molecular Patterns

DL50 : Dose létaliennne médiane

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

DT2: Diabète de type 2

EAFPL : Extrait Aqueux des Feuilles de *Pistacia lentiscus*

FeCl₃ : Trichlorure ferrique

Formaline : formaldéhyde à 2,5%

GSH : Glutathion

GSR : Glutathion réductase

GSSG : Glutathion oxydé

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

H₃PMO₁₂O₄₀ : Acide phosphomolibdique

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique

Hep G2: Lignée cellulaire issue d'un hépatocarcinome

MCF7: Michigan Cancer Foundation– Clone 7. Tumeur mammaire (adénocarcinome)

MO₈O₂₃ : Molybdène

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

NaCl : Chlorure de Sodium.

NF-KB : Facteur Nucléaire Kappa-B

NMRI : Naval Medical Research Institute

O₂^{•-} : L'anion superoxyde

OCDE : Organisation de Coopération et du Développement économique

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

ONOO⁻ : Peroxynitrite

P. lentisque : *Pistacia lentiscus*

PAF : Facteur d'activation Plaquettaire

PAMP : Pathogen-Associated Molecular Patterns

PC3 : Lignée cellulaire humaine dérivée d'un adénocarcinome de la prostate

ROS : Radicaux libres dérivés de l'oxygène

Rpm : Rotations par minute

SD : Standard déviation

SEM : Erreur standard moyenne

SM1 : Solution mère 1

SM2 : Solution mère 2

SMASH : Standardized Microscopic Arthritis Scoring of Histological Sections

SOD : Superoxyde dismutase

SRAS : Syndrome Respiratoire Aigüe Sévère

SRAS-Cov-2 : severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

HO• : Radical hydroxyle

IL : Interleukine.

Jak : Janus Kinase

LB : Lymphocytes B

LOX : Lipoxygénase

LT : Lymphocytes T

MAPK : Protéine Kinase Activée par les
Mitogènes

STAT : Transducteur de Signal et Activateur de la
Transcription

TF : Facteur Tissulaire

TLR : Récepteur de type Toll

TNF- α : Tumeur Necrosis factor alpha

Tr / min : Tour par Minute.

VIH : Virus de l'immunodéficience Humaine

W₈O₂₃ : Oxyde métallique de tungstène

XO : Xanthine oxydase

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Les différents métabolites secondaires répertoriés chez <i>Pistacia lentiscus</i> L	12
Tableau 2 :	Toxicité des huiles essentielles	19
Tableau 3 :	Inflammation aiguë versus inflammation chronique systémique	24
Tableau 4 :	Les cellules de l'inflammation	25
Tableau 5 :	Les principaux anti-inflammatoires stéroïdiens avec leurs rôles	29
Tableau 6 :	Activité anti-inflammatoire de quelques plantes médicinales	30
Tableau 7 :	Verreries appareillages et produits utilisés dans ce travail	35
Tableau 8 :	Les concentrations de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique	39
Tableau 9 :	Les concentrations de la gamme d'étalonnage de la quercétine	41
Tableau 10 :	Caractéristiques organoleptiques, et rendements obtenus à partir des feuilles <i>Pistacia lentiscus</i>	52
Tableau 11 :	Teneur des extraits aqueux de feuilles de <i>P. lentiscus</i> L en polyphénols totaux	53
Tableau 12 :	Teneur en flavonoïdes de l'extrait aqueux de <i>Pistacia lentiscus</i> L	54
Tableau 13 :	Valeurs de la CI_{50} de l'extrait aqueux de <i>Pistacia lentiscus</i> dans le test du DPPH	55
Tableau 14 :	Comportements des souris après le teste de la toxicité aigüe	56
Tableau 15 :	Taux de mortalité des souris après gavage d'extrait aqueux des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> (EAFPL)	57
Tableau 16 :	Classe de toxicité selon l'échelle de toxicité	58
Tableau 17 :	Effet de la prise d'une dose unique d'extrait aqueux des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> sur le poids corporel de souris NMRI femelles	59
Tableau 18 :	Poids relatif en g des organes des souris traitées par l'extrait aqueux des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> (EAFPL)	60
Tableau 19 :	Paramètres biochimiques indicateurs d'une atteinte hépatique	61
Tableau 20 :	Effet anti-inflammatoire des extraits aqueux de feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> L (EAFPL) sur l'œdème de la patte droite de souris NMRI induit par le formaldéhyde (mn)	66
Tableau 21 :	Effet des extraits de <i>Pistacia lentiscus</i> L sur l'arthrite inflammatoire induite par formaldéhyde	67
Tableau 22 :	Poids des organes des souris non traitées et traitées par les extraits aqueux de <i>Pistacia lentiscus</i> L	68
Tableau 23 :	Poids relatif des organes des souris traitées par l'extrait aqueux des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> EAFPL	69
Tableau 24 :	Paramètres biochimiques indicateurs d'une atteinte rénale	70
Tableau 25 :	Tableau comparatif des altérations histologiques par groupe expérimental	73