



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعرييرج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A -

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Départements des Sciences Biologiques

قسم العلوم البيولوجية

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: biochimie

Intitulé

*Activité antioxydante de la résine de Pinus Sp.*

Présenté par :

Mlle BENARIOUA Manel

Mlle BENDERRADJI Ahlem

Devant le jury :

Président : Mme BOUMERFEG Sabah Pr. (Univ. Bordj Bou Arreridj)

Encadrant: Mme NASRI Meriem MCB (Univ. Bordj Bou Arreridj)

Examineur : Mme MEZITI Asma MCB (Univ. Bordj Bou Arreridj)

Année universitaire : 2020/2021

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes très chères parent « Mokhtar et Yamina »*

*Mes très chers soeures et frères:*

*Nor elimane, Nor elhouda, Rahef yasmine, Chouaib, Sid  
Ahmed et Sid Ali.*

*A mon chère binôme « Ahlem Benderradji »*

*A toute ma famille, tous ceux qui m'aiment,*

*A tous ceux qui ont contribué à mon éducation et*

*A tous ceux qui apprécient le savoir.*

*Manel*

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail*

*A la lumière de ma vie, ma mère « Zitouni Zed*

*Elkhire »*

*A ma sœur « Lina Amel »*

*A mon âme sœur « manel »*

*A mon chère binôme « Benarioua Manel »*

*A tous ceux qui m'aiment.*

*\_Ahlem \_*

# *Remerciement*

*Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force et la patience afin de pouvoir réaliser cette recherche.*

*On voudrait témoigner notre reconnaissance à **Mme NASRI Meriem**. Pour avoir encadré ce mémoire. On la remercie particulièrement pour son souci de formation, sa rigueur scientifique, sa disponibilité et ses encouragements, ses conseils et suggestions et tout ça dans la bonne humeur.*

*Nous tenons à remercier **Mme BOUMARFEG Sabah** d'avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à **Mme MZITI Asma** d'avoir accepté d'examiner notre travail*

*Nous exprimons notre profonde gratitude à toutes Personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

# Sommaire

<b>Introduction</b>	01
<b>CHAPITRE I : Stress Oxydatif</b>	
I.1 Stress oxydatif	02
I.2 Les radicaux libres	02
I.2.1. Les sources des radicaux libres	02
I.2.2. Sources endogènes	02
I.2.3. Sources exogènes	03
I.3. Les cibles biologiques	03
I.3.1. lipides	03
I.3.2. Proteines	04
I.3.3. Les acides nucléiques	05
I.4 Les antioxydants	06
I.4.1. Les antioxydants enzymatiques	06
I.4.2. Les antioxydants non enzymatiques	08
<b>CHAPITRE II : Généralités sur le Pin</b>	
II.1 .Répartition géographique et taxonomie	11
II.2. Description	12
II.3. Espèces étudiées	13
II.4. Composition chimique de	15
II.5. Activité biologique du	19
II.6. Utilisation de la résine de pin	20
<b>CHAPITRE III : Matériels et Méthodes</b>	
III.1. Méthodes	22
III.2. Expériences effectuées et évaluation de l'activité antioxydant	22
III.2.1. Travaux de MORDO (2017)	22
III.2.2. Travaux de KILIC (2016)	23
III.2.2.1 Dosage des composés phénoliques totaux	23
III.2.2.2 Détermination de la teneur totale en flavonoïdes	23
III.2.2.3 Test DPPH	23
III.2.2.4 Capacité de chélation des métaux	24
III.2.2.5 Test de Pouvoir de Réduction Fe <sup>3+</sup>	24
III.2.2.6 Test ABTS <sup>+</sup>	24
III.2.2.7 Test de réduction du peroxyde d'hydrogène d'extrait de résine de <i>Pinus nigra</i>	25
III.2.2.8. Activité de réduction des radicaux de super-oxyde d'extrait de résine de <i>Pinus nigra</i>	25
III.2.2.9. Activité Antioxydante Totale d'Acide Linoléique d'extrait de résine de <i>Pinus nigra</i>	25
III.2.3 Travaux d'AMARI & MECHOUCHE (2017)	25
A. Dosage des phénols totaux de la résine de <i>Pinus halepensis</i>	25
B. Dosage des flavonoïdes	26
C. Test DPPH	26

III.2.4 Travaux de BENAMEUR et MAATOUG ( 2018)	26
A. Dosage des polyphénols	26
B. Dosage des flavonoïdes de la résine de Pinus sylvastris	26
C. Test DPPH	27
<b>Chapitre IV Résultats et discussion</b>	
IV.1 .Travaux de Mordo	28
IV.2. Travaux de Kilic	30
IV.3. Travaux de Amari et Mechouche	34
IV.4. Travaux de Benameur et Maatoug	36
<b>Conclusion et Perspectives</b>	38
Références bibliographiques	
Résumé	

# Liste d'Abréviations

**RL:** radicale libre

**Rf:** Rapport Frontale

**PNR:** Résine de pinus nigra

**MeOH:** Methanol

**P.:** Pinus

**AG :** Acide gallique

**QE :** Quercétine

**BHT :** Butylated Hydroxytoluene

**BHA :** Butylhydroxyanisole

**DPPH :** 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyle

**ABTS:** 2-2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline- 6-sulfonic acid)

**ABTS<sup>+</sup>:** radicale libre

**SD :** Standard de deviation

**IC<sub>50</sub> :** Concentration inhibitrice médiane

**EDTA :** Acide éthylène diamine tétra-acétique

# Liste des Figures

<b>Figure 1:</b> Processus de la peroxydation lipidique (Gavric et al. 2017).	04
<b>Figure 2:</b> Antioxydants enzymatiques (Ulrich et Jakob, 2019).	07
<b>Figure 3:</b> Elimination des radicaux libres par la vit. E, la vit. C et le glutathion (Ashor et al., 2016).	08
<b>Figure 4:</b> Système de defense antioxydant (Enzymatique et non-enzymatique) (Mazzetti et al., 2015)	09
<b>Figure 5.</b> Repartition geographique de pin	11
<b>Figure 6.</b> (a) canal resinifere (b) coulures e resines	13
<b>Figure 7.</b> (1) <i>Pinus Insullaris</i> , (2) <i>Oocarpa</i> et (3) <i>Merkusii</i> , (4) <i>Pinus Nigra</i> , (5) et <i>Hallpensissylvestris</i>	13
<b>Figure 8.</b> Structure de sesquiterpens et diterpenes chez le pinus	16
<b>Figure 9.</b> Acides resiniques à squelettes modifiés	17
<b>Figure 10.</b> Composeés triterpiniques chez le pinus	18
<b>Figure 11.</b> Composeés pheneoliques retrouves chez le pinus	19
<b>Figure 12.</b> Alcaloindes presents hez le pinus	19
<b>Figure 13.</b> Chromatogramme biographique d'antioxydants, utilisation d'un réactif dedétection	29
<b>Figure 14.</b> Activités antioxydantes totales de la RPN, et composés antioxydants standard à lamême concentration (375 µg/mL) selon la méthode thiocyanate.	30
<b>Figure 15.</b> Activite de balayage des radicaux libres dusw DPPH à différentes concentrations de PNR et d'antioxydants de référence.	31
<b>Figure 16.</b> Comparaison de l'activité chélatante des ions ferreux (Fe <sup>2+</sup> ) de PNR et composés antioxydants standard.	31
<b>Figure 17.</b> Potentiel réducteur Fe <sup>3+</sup> ----- Fe <sup>2+</sup> de différentes concentrations de RPN et d'antioxydants de référence.	32
<b>Figure 18.</b> Comparaison de la récupération du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) l'activité duPNR et des stondards.	32
<b>Figure 19.</b> Radicaux anioniques de superoxyde (O <sub>2</sub> •-) activité de récupération de la RPN etles stondards.	33
<b>Figure 20.</b> ABTS + activité de récupération de différentes concentrations de RPN etd'antioxydants de référence.	33
<b>Figure 21.</b> Evaluation du pouvoir réducteur d'extrait phénolique de la résin de <i>P.halepensis</i> et des standards à 100 µg/ml.	35
<b>Figure 22.</b> Evaluation de pouvoir anti-radicalaire au DPPH d'extrait phénolique de la résine de <i>P.halepensis</i> et des standards à 100 µg/ml.	35
<b>Figure 23.</b> Activité anti radicalaire (IC <sub>50</sub> ) des extraits de Pinus sylvestris et de l'acideascorbique.	37



# Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Classification de pin	11
<b>Tableau 2.</b> Espèces étudiées de pin	14
<b>Tableau 3.</b> Principaux acides résiniques chez pinus	17
<b>Tableau 4.</b> Rendement de l'extrait de pin	28
<b>Tableau 5.</b> Activité antioxydante de l'extrait de résine	28
<b>Tableau 6.</b> Taux d'extraction et dosage des composés phénoliques	34
<b>Tableau 7.</b> Rendements des extractions à partir de la résine de <i>Pinus sylvestris</i>	36
<b>Tableau 8.</b> Dosage des polyphénols et flavonoïdes des extraits de <i>Pinus sylvestris</i>	36

# Introduction

## Introduction

Depuis longtemps, les plantes étaient connues pour leurs intérêts divers et leur arsenal naturel, servant de source fiable de nutriments, et des composants thérapeutiques comme des remèdes pour soulager et soigner les maladies humaines. Les Personnes cherchent à savoir pourquoi ou comment ils agissent, mais c'est un fait incontesté.

En effet, il est étonnant qu'une feuille, une fleur, une racine ou un exsudat qui s'écoule à l'extérieur de la plante sur un tissu endommagé, sert à cicatriser la blessure et éviter l'infection par des bactéries et des insectes, puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques. (Schauenberg et paris, 2006)

À nos jours, malgré les progrès remarquables en chimie organique de synthèse du vingtième siècle, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays industrialisés tirent directement ou indirectement leurs origines des plantes. (Newman *et al.*, 2000 ; Calixto, 2005)

Le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », qu'est un générateur des radicaux libres suite à un déséquilibre de la balance oxydants/antioxydants, impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution. (Moon et Shibamoto, 2009)

La surproduction exagérée des radicaux libres peut être à l'origine des lésions directes des molécules biologiques en réagissant avec l'ADN, lipides, protéines et glucides, ce qui conduit à l'apparition de certaines pathologies comme les maladies neurodégénératives et cardiovasculaires...

De nombreuses études sur les plantes médicinales ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activité biologique antioxydante responsable de lutter contre le stress oxydatif ; telles que les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes etc.

Dans ce travail nous nous sommes intéressés aux recherches consacrés à la phytochimie des résines de six espèces de pin, *Pinus oocarpa*, *Pinus insularis*, *Pinus merkusii*, *Pinus nigra*, *Pinus halpensis* et *Pinus sylvester*, afin de pouvoir évalue leur potentiel antioxydant et les composants biologiquement actifs dans chacune des résines considérées.

Ce mémoire est un résumé des travaux qui ont été faites jusqu'à maintenant sur l'activité antioxydante de résine de genre *Pinus*, elle est structuré de la manière suivante :

Le chapitre I donne un aspect sur le stress oxydatif, le chapitre II présente une généralité sur le pin, le matériel et les méthodes sont exposés dans le chapitre III, le chapitre IV présente les résultats et les discussions et une conclusion générale parachève le travail réalisé.

# **Stress oxydatif**

## I. STRESS OXYDANT

Le stress oxydant ou le stress oxydatif, est défini comme un déséquilibre entre la production d'oxydants et les mécanismes de défense antioxydant au sein d'un même organisme, ce qui conduit à des dommages dans les biomolécules comme les lipides, les protéines et les acides nucléiques (Niki, 2018; Tu et *al.*, 2019). Ces dommages sont impliqués dans le développement de nombreuses pathologies chroniques telles que le diabète, le cancer, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives (Matschke et *al.*, 2019). En effet, tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène produisent les ERO qui jouent un rôle important dans les fonctions physiologiques des organismes. Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité des radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas de ressources antioxydantes (vitamines, oligoéléments, enzymes) suffisantes pour les éliminer (Niki, 2018; Tu et *al.*, 2019)

## II. Les radicaux Libre

Les radicaux libres sont définis comme étant des molécules ou des espèces chimiques qui portent un électron non apparié (célibataire) sur leur orbite externe. Du fait de la présence d'un électron célibataire, les radicaux libres présentent une grande instabilité, très réactifs, ont une durée de vie courte, et sont capables de réagir avec de nombreux composés (Peña-Bautista et *al.* 2019). Les espèces réactives oxygénées (ERO) incluent les radicaux libres comme le radical hydroxyl ( $\text{OH}\cdot$ ), le radical superoxyde ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) et sa forme protonnée ( $\text{HO}_2\cdot$ ), le radical peroxy ( $\text{ROO}\cdot$ ) et les espèces non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) et l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ) sont des molécules hautement réactives produites dans les organismes vivant sous des conditions physiologiques et pathologiques (Patterson et *al.*, 2019). D'autres espèces radicalaires dérivent de l'azote nommés les espèces réactives du nitrogène incluent le radical monoxyde d'azote ( $\text{NO}\cdot$ ), l'anion peroxydinitrite ( $\text{ONOO}^-$ ), le radical dioxyde d'azote ( $\text{NO}_2\cdot$ ) et d'autres oxydes d'azote sont produits par la réaction du monoxyde d'azote avec  $\text{O}_2$ . (Singh et *al.*, 2019).

### II.1. Sources des espèces réactives oxygénées

#### II.1.1. Sources endogènes

La chaîne respiratoire mitochondriale est responsable de la production de 90% des ROS dans la cellule La production d' $\text{O}\cdot$  résulte de la fuite d'électrons lors de leur transfert par les complexes de la chaîne respiratoire.

Dans les conditions physiologiques, la xanthine oxydase (XO) catalyse l'hydroxylation oxydative de l'hypoxanthine en xanthine puis la xanthine en acide urique en produisant l'anion superoxyde. La XO joue un rôle crucial dans la génération de l'O<sub>2</sub><sup>-</sup> et du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Les NADPH oxydases comprennent une famille de protéines capables de transférer des électrons du NADPH à travers les membranes cellulaires ; les électrons réagissent avec O<sub>2</sub> générant O<sub>2</sub><sup>-</sup> et accompagnant d'autres ROS en aval (Hansen *et al.*, 2018).

Les peroxysomes sont l'un des principaux sites de production intracellulaire de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> car ils contiennent de nombreuses enzymes produisant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. (Del Río & López-Huertas, 2016). Il a été démontré que les peroxysomes produisent également O<sub>2</sub><sup>-</sup> et NO<sup>•</sup> à la suite de leur métabolisme normal. (Lismont *et al.*, 2015).

### II.1.2. Sources exogènes

Une large variété de xénobiotiques (toxines, pesticides, herbicides, métaux lourds etc...) et médicaments (antibiotiques, anticancéreux, etc...) peuvent contribuer à la production des ERO (El-Demerdash *et al.*, 2018). Les rayonnements, qu'ils soient UV, X ou  $\gamma$ , peuvent par différents mécanismes induire la synthèse de radicaux libres (Tsai *et al.*, 2017). Les polluants de l'air, comme la fumée des cigarettes et les contaminants industriels, constituent une source importante d'ERO, ils attaquent et causent des dommages dans l'organisme que ce soit par interaction directe avec la peau ou après inhalation dans les poumons (Al-Gubory, 2014).

## II.2. Cibles biologiques des espèces réactives oxygénées

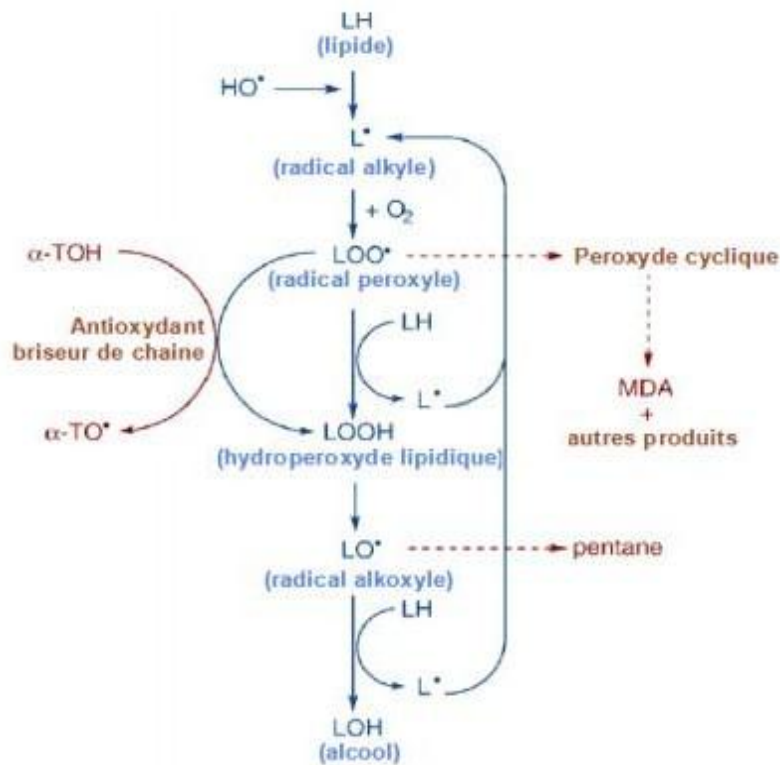
La surproduction des radicaux libres et des différentes espèces réactives produits à partir des sources endogènes et exogènes peut conduire au dommage des composants cellulaires et à l'altération des fonctions cellulaires, de plus les effets toxiques des radicaux libres peuvent conduire à la mort cellulaire. Les cibles biologiques des radicaux libres sont en grande partie les protéines, les lipides et les acides nucléiques (Carocho *et al.*, 2018).

### II.2.1. Lipides

Les lipides membranaires sont les cibles les plus susceptibles à l'action des ERO et des radicaux libres à cause de la présence des lipides insaturés ; l'acide linoléique et l'acide

## Stress Oxydatif

arachidonique (Zielinski et Pratt, 2017). L'abstraction d'un atome d'hydrogène à partir d'une molécule d'acide gras polyinsaturé initie le processus de la peroxydation lipidique (Fig.1). Un atome d'hydrogène est pris d'une deuxième molécule d'acide gras polyinsaturé résultant en un nouveau radical libre (Taso et *al.*, 2019). Ces radicaux peuvent déclencher une chaîne de réactions de peroxydation au niveau des acides gras des phospholipides membranaires, conduisant à l'altération de la membrane et la perte de l'organisation de sa structure de bicouche lipidique qui est nécessaire à la fonction des enzymes liées et des récepteurs (Gavric et *al.*, 2017).



**Fig.1:** Processus de la peroxydation lipidique (Gavric et *al.* 2017).

### II.2.2. Protéines

Les radicaux libres sont capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes des protéines. Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH), dont le site actif contient le groupement Fe-S sont également très sensibles à l'inactivation par l' $O_2^{\bullet-}$ , les modifications structurales des protéines et/ou l'altération de la fonction sont les conséquences majeures (Hematyar et *al.*, 2019). Les protéines oxydées deviennent aussi très hydrophobes, elles vont alors former des amas anormaux dans ou autour des cellules. Sur les acides aminés contenant un atome de soufre tels que la cystéine et la méthionine, l'oxydation par les radicaux libres conduit à la formation de ponts disulfures. De nombreux enzymes cellulaires et protéines de transport vont ainsi être oxydées et inactivées. Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzymes, canaux et récepteurs), et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases (Rosenfeld et *al.*, 2018). La modification de l'état redox de ces groupements conduit à la déformation de la cellule, la déplétion des réserves calciques et le changement de l'état d'ouverture des canaux potassiques et calciques. En addition, les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent les acides aminés aromatiques tels que le tryptophane, la tyrosine et l'histidine, sur lesquels le  $OH^{\bullet}$  s'additionne, modifiant la conformation de la protéine (Hematyar et *al.*, 2019).



### II.2.3. Acides nucléiques :

Les acides nucléiques sont des molécules très sensibles à l'attaque des EOR. L'attaque radicalaire se manifeste soit directement en entraînant l'oxydation des bases et engendrant un grand nombre de bases modifiées, soit elle cible la liaison entre la base et le désoxyribose créant un site abasique, soit cible le sucre lui-même créant une coupure de simple brin (Van Houten et *al.*, 2019). Les bases composant l'ADN, particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation par les radicaux libres. La réduction de la guanine résulte de l'ouverture de sa structure cyclique formant le formamidopyrimidine. Son oxydation, cependant, conduit à la formation du 8-hydroxy-2' déoxyguanosine, un produit majeur dont la présence dans l'urine sert de bio-marqueur du dommage oxydatif de l'ADN et qui est capable d'induire des mutations spécifiques conduisant au développement du cancer (Nemmar et *al.*, 2016). Le radical  $\text{NO}\cdot$  et leurs dérivés tels que  $\text{NO}_2^{\cdot}$ ,  $\text{ONOO}^{\cdot}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  et  $\text{HNO}_2$  sont des agents mutagènes et ont la capacité d'introduire plusieurs modifications sur les bases d'ADN par des réactions de nitration, nitrosation, et désamination (Klaunig et Wang, 2018). Les dommages d'ADN ont comme conséquence une transcription réduite d'ARNm et, en conséquence, une perte de fonction des biomolécules protéiques (Van Houten et *al.*, 2019).

### III. Antioxydants

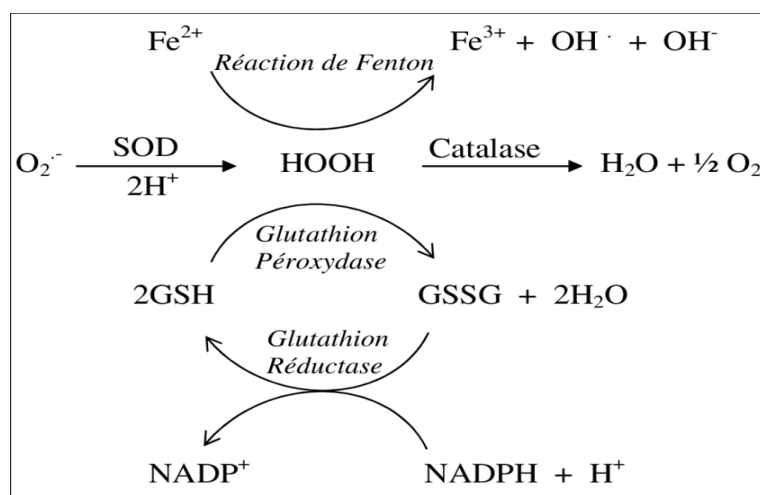
Le système de défense antioxydant correspond à l'ensemble des moyens mis en œuvre pour contrôler l'oxydation et ses effets négatifs, il comprend plusieurs lignes de défenses qui visent à prévenir la formation des radicaux libres, les neutraliser quand ils sont déjà formés, réparer leurs dégâts et/ou prévenir les conditions favorables à leur formation, comme par exemple, en bloquant/séquestrant les atomes de fer, qui agissent comme des catalyseurs dans la formation de radicaux libres (réaction de Fenton). Ainsi, les antioxydants servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif (Dias, 2019).

#### III.1. Antioxydants enzymatiques

Il existe trois enzymes; le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) (Ighodaro et Akinloye, 2018). La superoxyde dismutase (SOD) catalyse la dismutation de l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) en oxygène et peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Cette enzyme existe sous trois isoformes deux sont présentes à l'intérieur des cellules (SOD mitochondriale ayant le manganèse dans son site actif (MnSOD), ainsi qu'une enzyme cytosolique, ayant le zinc dans son site actif (ZnSOD), tandis que l'autre est située dans l'espace extracellulaire (SOD ayant le cuivre et le zinc (Cu-ZnSOD) (Younus, 2018). La catalase (CAT) est une enzyme qui catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène

## Stress Oxydatif

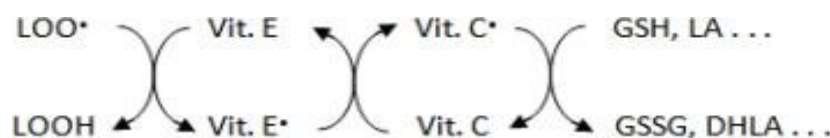
(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en eau et oxygène moléculaire (Ighodaro et Akinloye, 2018). Elle est présente dans de nombreux tissus et particulièrement abondante dans le foie et les globules rouges. Les catalases sont localisées dans les peroxysomes, cette compartimentation l'empêche d'être un accepteur pour l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formé dans le cytosol et les mitochondries (Awad et *al.*, 2018). La Glutathion peroxydase (GPx) et la Glutathion réductase (GR) sont localisées dans le cytosol et les mitochondries. La glutathion peroxydase est une sélénoenzyme (Se-GPx) qui joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), mais aussi d'autres hydroperoxydes résultants de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH) (Benhar, 2018). La glutathion réductase (GR), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG tout en utilisant le NADPH comme un cofacteur (Fig.2). Cependant, d'autres enzymes antioxydantes comme les peroxyredoxines, la glutathion transférase, les thioredoxines réductases et les thioredoxines peroxydases sont impliquées dans la défense antioxydante de l'organisme et utilisant le NADPH comme donneur d'équivalent réducteur, celui-ci constitue avec le glutathion les plaques tournantes de la défense antioxydante (Ulrich et Jakob, 2019). Les peroxyredoxines sont également connues sous le nom de thiorédoxine peroxydase, dont six sont trouvées chez les mammifères principalement dans le cytosol et les mitochondries. Ces protéines se lient également au noyau et aux membranes cellulaires. Les peroxyredoxines convergent à la fois H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO<sup>•</sup> et NOO<sup>•</sup> grâce à l'activité peroxydase (Nicolussi et *al.*, 2017). Malgré leur faible efficacité par rapport à la CAT et à la GPx, ces protéines jouent un rôle important dans l'élimination des hydroperoxydes en raison de leur valeur perçue, représentant 0,1-0,8% des protéines cellulaires libres (Ulrich et Jakob, 2019).



**Fig.2:** Antioxydants enzymatiques.

### III.2. Antioxydants non enzymatique

Contrairement aux antioxydants enzymatiques, la plupart de ces composés ne sont pas produits par l'organisme et peuvent provenir de nourriture. Ces composés comprennent de petites molécules telles que les vitamines, Les caroténoïdes, les polyphénols, le glutathion et l'ubiquinone. Les antioxydants non enzymatiques sont caractérisés par de faibles poids moléculaires et la capacité à prévenir et/ou à réduire les dommages au stress oxydatif (Nimse et Pal, 2015). La vitamine E possède quatre isomères de tocophérol,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  avec une activité antioxydante variable (Luciano et *al.*, 2017). La vitamine E présente dans les huiles végétales, les pépins, le germe et les grains de blé (Blumberg et *al.*, 2018). L' $\alpha$ -tocophérol ( $\alpha$ -Toch) est la forme la plus active de la classe des tocophérols, elle est liposoluble, se fixe sur la membrane cellulaire et inhibe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides en capturant le radical lipidique peroxyde ( $\text{LOO}^\bullet$ ), alkoxy ( $\text{LO}^\bullet$ ) et alkyl ( $\text{L}^\bullet$ ) (Fig.3) et elle devient à son tour un radical moins actif que le  $\text{LOO}^\bullet$  et pourra alors être pris en charge par une autre molécule antioxydante (Liu et *al.*, 2018).

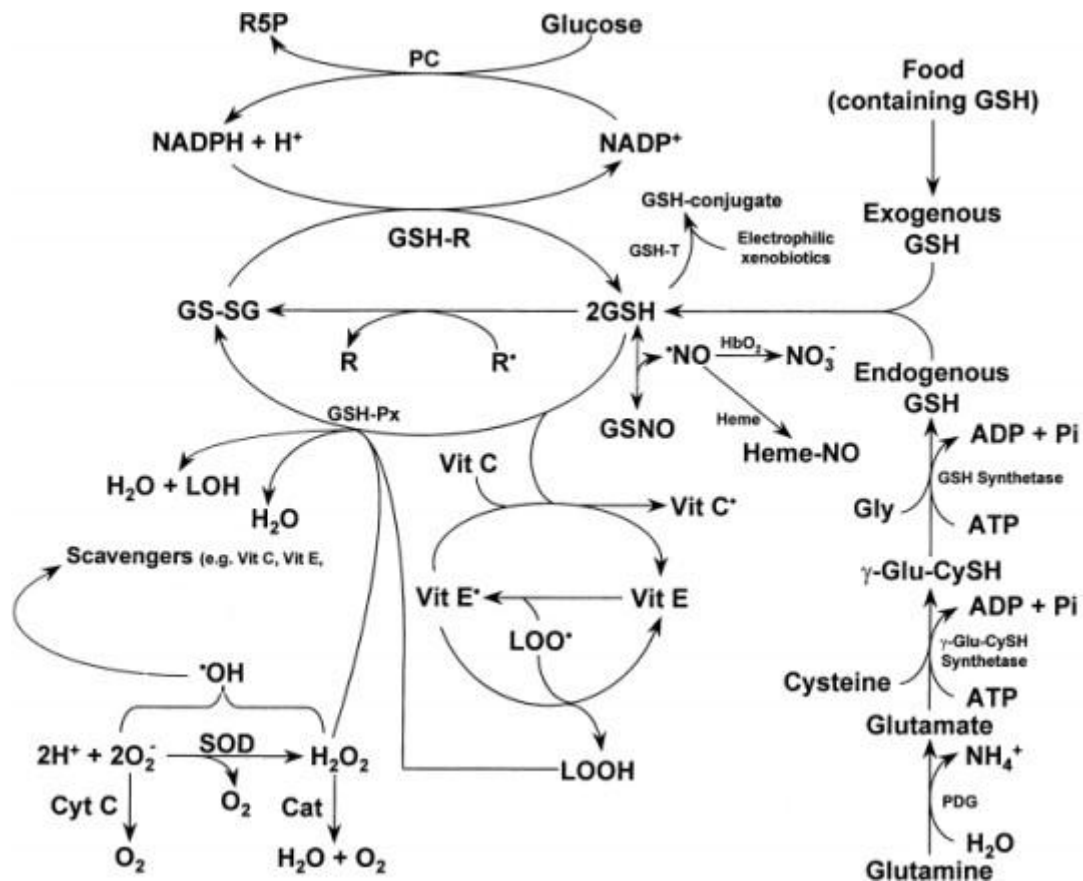


**Fig 3.** Elimination des radicaux libres par la vit E, la vit C et le glutathion (Ashor et *al.*, 2016).

L'acide ascorbique ou vitamine C est hydrosoluble, même si la plupart des mammifères peuvent la synthétiser, l'organisme humain en a perdu la capacité au cours de l'évolution. Il doit donc la puiser chaque jour dans les aliments. Les principales sources de vitamine C sont les fruits (en particulier les baies) et les légumes-feuilles (Ashor et *al.*, 2016). La Vitamine C est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés aussi bien hautement réactifs tels que les radicaux  $\text{d}'\text{OH}^\bullet$  et  $\text{d}'\text{O}_2^\bullet$  (Smirnoff, 2018). Sa capacité de donation d'électrons dans une large gamme de réactions enzymatiques et non enzymatiques. La Vit. C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs de radicaux libres. Elle peut aussi réduire le radical  $\alpha$ -tocophérol (Xiong et *al.*, 2017), ce qui lui permet de jouer son rôle d'antioxydant à plusieurs reprises (Ashor et *al.*, 2016). Le glutathion (GSH) est un tripeptide (L- $\gamma$ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine) dont la fonction thiol lui confère un rôle d'antioxydant (Pacula et *al.*, 2017). Le glutathion intervient comme agent détoxiquant dont il participe à la neutralisation de certains radicaux libres et il agit comme cofacteur de l'enzyme

## Stress Oxydatif

glutathion peroxydase (GPx). Le glutathion réduit (GSH), réduit le  $H_2O_2$  et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la GPx (Pacula et al., 2017). Le glutathion peut aussi réduire d'autres radicaux libres tels que HOCl,  $LO^\bullet$ ,  $LOO^\bullet$  et  $l'O_2^\bullet$ , comme il peut réduire d'autres radicaux de nitrogène et de carbone pour former le radical thiyl ( $GS^\bullet$ ) (Fig. 4). Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur de stress oxydant car plus le flux d' $H_2O_2$  est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté (Herzog et al., 2019).



**Fig. 4:** Système de défense antioxydant (Enzymatique et non-enzymatique) (Mazzetti et al., 2015)

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles jaunes, orangée à rouge, synthétisés par les plantes et les microorganismes. En plus de leur activité de provitamine A, les caroténoïdes sont généralement de bons capteurs des radicaux hydroxyles et peroxydes ce qui les rend susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique (Zuluaga et al., 2017). En outre, les caroténoïdes ont un rôle spécifique de capter l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules ou ions stables, ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets de la lumière solaire (Eggersdorfer et Wyss, 2018). Les polyphénols sont des métabolites

## Stress Oxydatif

---

secondaires d'un poids moléculaire élevé. Ils sont largement distribués dans le règne végétal. Plusieurs études ont montré qu'il y a un rapport inverse entre la prise d'aliments riches en polyphénols (les fruits et les légumes) et le risque des maladies reliées à l'âge comme les maladies neurodégénératives et les maladies cardiovasculaires (Hahn et *al.*, 2017; Fraga et *al.*, 2019). Cette relation est souvent attribuée aux puissantes activités anti-oxydantes des flavonoïdes et d'autres polyphénols associées à leurs propriétés redox permettant d'éliminer ou capture les effets d'espèces réactives de l'oxygène ainsi que de chélater les différents métaux de transition et inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des ERO comme la xanthine oxydase (Xu et *al.*, 2017; Serino et Salazar, 2019).

# Généralités sur le Genre *Pinus*

### II. Généralités sur le Genre *Pinus*

Le **Pin** est la désignation générique des arbres appartenant au genre *Pinus*, de la famille des Pinacées, dont au moins 111 espèces ont été décrites. Ce genre, de loin le plus important des conifères, comprend de nombreuses espèces dont beaucoup sont des essences forestières importantes. Plusieurs espèces, introduites hors de leur habitat naturel sont localement devenues envahissantes (Jacues Brosse, 2003).

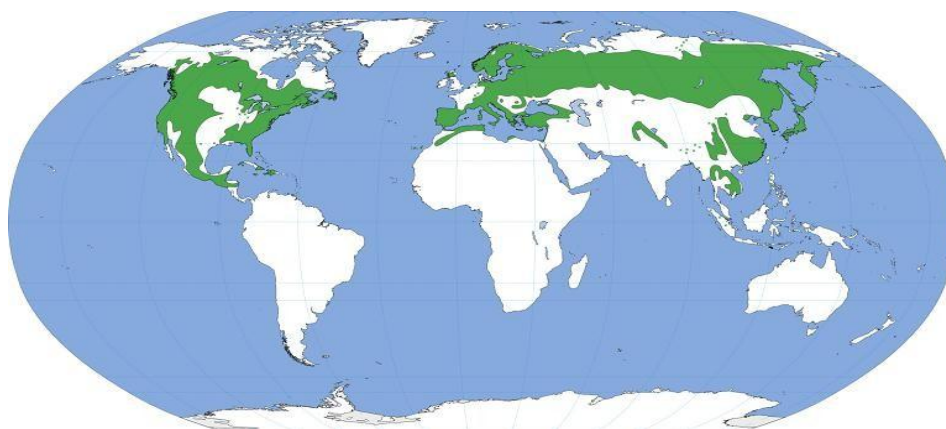
#### II.1 Taxonomie et Répartition Géographique

La classification du pin est donnée sur le tableau 1, sa répartition géographique est très vaste (Fig.5). On les trouve dans des régions assez variées, mais surtout dans les zones à climat tempéré-froid de l'hémisphère boréal (Algérien, Tunisie, Morocco, France, Espagne, Italie, les Balkans...etc.) où ils occupent tous les étages de végétation, du niveau de la mer jusqu'à la limite supérieure des forêts, même en terrain en permanence gelé.( Techno-Science.net, n 1037632, 2004)

**Tableau1** classification de pin

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Embranchement</b>	Spermaphyte
<b>Sous embranchement</b>	Gymnosperme
<b>Classe</b>	Coniférophyte
<b>Ordre</b>	Coniférale, Pinoidine, Pinale
<b>Famille</b>	Pinaceae (Abietaceae)

Les *Pinus* sont connus localement sous le nom vernaculaire de: Senouber (الصنوبر)  
(Lucienne, 2010).

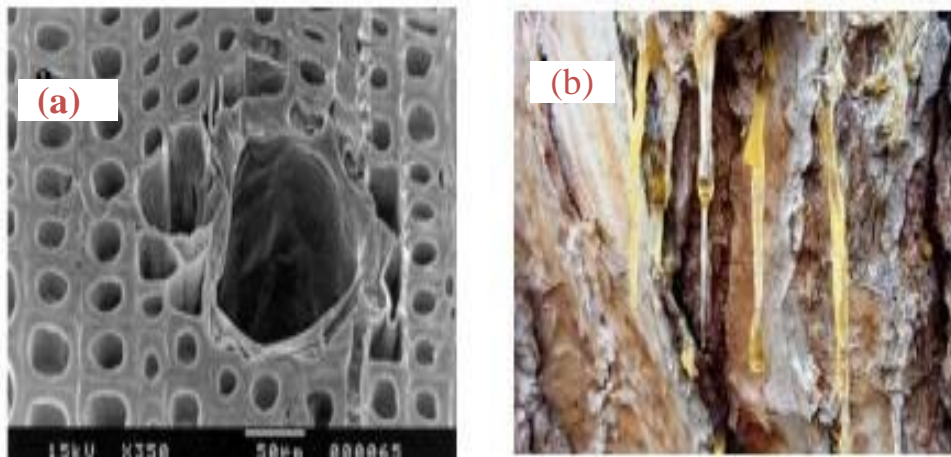


**Fig5.** Repartions géographique du pin (<http://www.pinsdefrance.com/l-apep/presentation/>)

### II.2 Description Botanique

- Arbres persistants, parfois arbustes, de port et de taille très variable selon les espèces; branches en verticilles réguliers; écorce des sujets âgés crevassée et formant des plaques ou des crêtes, plus ou moins écailleuse; bourgeons grands, souvent résineux, ovoïdes à cylindriques, à nombreuses écailles; la ramification comporte des rameaux longs et des rameaux nains (brachyblastes).
- Les feuilles sont de divers types:
  - a – sur la plantule de 1 an, au-dessus des cotylédons, feuilles en aiguille, aplaties, à bords denticulé; ces feuilles persistent 2 à 3 ans ;
  - b – Feuilles primordiales qui évoluent suivant deux manières, sur les pousses longues des pins adultes et sur les pousses naines,
- Les organes reproducteurs sont unisexués, les deux sexes sur le même arbre (genre monoïque) ; la pollinisation est toujours anémophile, jamais entomophile.
- L'écorce et le bois sont produits par une assise unicellulaire, le cambium, située juste sous l'écorce.
  - Vers l'extérieur, le cambium produit l'écorce interne ou phloème, qui contient les tubes criblés permettant le transport de sucres et d'acides aminés (sève élaborée synthétisée dans les feuilles) en direction des racines ; les cellules du phloème des pins du sous-genre *Pinus* vivent moins longtemps que celles du sous-genre *Strobus*, d'où l'écorce fissurée.
  - Vers l'intérieur, le cambium produit le xylème, ou aubier, constitué de 3 composants:
    - 1/ les trachéides qui sont des canaux verticaux transportant vers les feuilles la sève brute ; dans le xylème formé au printemps, les trachéides ont une paroi plus fine et plus claire que celles qui sont formées en été, d'où l'alternance d'anneaux clairs et foncés sur la section du tronc (ce sont les cernes annuels) ;
    - 2/ les rayons médullaires qui rayonnent horizontalement du cœur vers l'écorce et qui permettent le transport de sève entre les couches de xylème produites annuellement ;
    - 3/ les canaux résineux (Fig.6.a), parallèles aux trachéides, qui transportent les résines (Fig.6.b) produites par des cellules spécialisées situées le long de ces canaux.





**Fig 6.** (a) Un canal résinifère par microscopie électronique à balayage (Sander et *al.*, 2003)  
(b) Couleurs de résine au niveau d'une rupture mécanique

### II. 3 Espèces Étudiées

Cette étude est concentrée sur six espèces du pin; qui sont *Pinus insularis*, *Pinus oocarpa*, *Pinus merkusii*, *Pinus nigra*, *Pinus halpensis* et *Pinus sylvestris* (Fig.7), leur description est donnée sur le tableau 2.



**Fig 7.** *Pinus insularis* (1) *Pinus oocarpa* (2) *Pinus merkusii* (3) *Pinus nigra*  
(4) *Pinus halpensis* (5) *Pinus sylvestris* (6)

## Généralités sur le Genre Pinus

Tableau 2: Espèces Etudiées de Pin

Espèces	Description	Distribution
<i>Pinus Insularis</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Arbre persistant (haut: 30 m), à l'écorce brune et écailleuse.</li> <li>▪ Feuilles fasciculées par 3, aciculaires (long : 100-220 mm, large: 1 mm).</li> <li>▪ Cônes fructifiés ovoïdes (long: 5-6 cm, diam: 3,5 cm), murissant en 2 ans.</li> <li>▪ Graines ellipsoïdes (long: 5-6 mm), dépourvues d'aile.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Asie subtropicale et tropicale</li> <li>▪ Forêts mixtes, entre 700 et 1200 m.</li> </ul>
<i>Pinus Oocarpa</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Arbre persistant (haut: 30-35 m), à la couronne conique, à l'écorce grise à brun rougeâtre et fissurée.</li> <li>▪ Feuilles fasciculées par 3-5, aciculaires (long: 200-280 mm, large: 1-2 mm).</li> <li>▪ Cônes fructifiés ovoïdes (long: 5-8 cm, diam: 4-7,5 cm), murissant en 2 ans.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Amérique subtropicale (Mexique, Nicaragua).</li> <li>▪ Forêts mixtes, entre 700 et 1300 m.</li> </ul>
<i>Pinus merkusii</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Arbre persistant (haut: 30-50 m), à l'écorce brun grisâtre à brun rougeâtre et fissurée.</li> <li>▪ Feuilles fasciculées par 2, aciculaires (long : 150-250 mm, large : 1 mm), à l'apex aigu.</li> <li>▪ Cônes fructifiés ovoïdes à cylindriques (long : 4,5-9 cm), brun orangé, murissant en 2 ans.</li> <li>▪ Graines ovales (long: 7-8 mm), munies d'une aile membraneuse</li> <li>▪ Cette espèce est la seule à pousser au sud de l'équateur.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Asie tropical (Vietnam, Laos, Cambodge, Philippines, sud de la Chine, Malaise, Indonesia).</li> <li>▪ Forêts mixtes, savannes, entre 800 et 2000 m.</li> <li>▪ Pollinisation : V-VI.</li> <li>▪ Maturation spermatique : X-XI</li> </ul>
<i>Pinus nigra</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Arbre persistant (haut: 50 m) à l'écorce grise à brun sombre.</li> <li>▪ Feuilles fasciculées par 2, aciculaires (long : 40-190 mm, large : 1-2 mm).</li> <li>▪ Cônes fructifiés ovoïdes à cylindriques (long : 3-8 cm, diam : 2-4 cm), brun à jaunâtres, subsessiles, murissant en 2 ans.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Europe méridionale, Asie mineure et Afrique du Nord-Ouest</li> <li>▪ Cultivé. Forêts de résineux, en altitude.</li> </ul>
<i>Pinus halpensis</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Arbre persistant (haut: 20 m), à la couronne conique, à l'écorce grise et fissurée.</li> <li>▪ Feuilles fasciculées par 2, aciculaires (long: 60-100 mm, large : 1 mm), à l'apex aigu.</li> <li>▪ Cônes mâles ellipsoïdes, brun jaunâtre. Cônes fructifiés oblongs à coniques (long: 6-10 cm, diam: 3-4 cm), brun rougeâtre, murissant en 2 ans.</li> <li>▪ Graines obovoïdes (long: 6-7 mm), munies d'une aile membraneuse.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ région méditerranéenne, de l'Espagne à l'Asie Mineure</li> <li>▪ introduit en Europe en 1683.</li> </ul>
<i>Pinus sylvestris</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Arbre persistant (haut: 40 m), à la couronne conique, à l'écorce grise à brune et écailleuse.</li> <li>▪ Feuilles fasciculées par 2, aciculaires (long : 40-60 mm, large : 2 mm), conniventes, à l'apex aigu à acuminé.</li> <li>▪ Cônes mâles ovoïdes (long : 10 mm), jaunes ou rosâtres. Cônes fructifiés ovoïdes (long: 3-6 cm), brun grisâtre, murissant en 2 ans.</li> <li>▪ Graines obovoïdes (long: 3-5 mm), munies d'une aile membraneuse.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Asie tempérée et septentrionale</li> <li>▪ Europe tempérée, naturalisé ailleurs (Amérique du nord).</li> <li>▪ Cultivé Pentes rocheuses, entre 400 et 1600 m.</li> </ul>

### II. 4 Composition Chimique

Chimiquement, la famille des Pinaceae, dont les pins font partie, est surtout caractérisée par la présence de résines, de tanins, de terpènes, de lignans et de quelques stilbènes.

Dans tous les conifères, la résine, ou oléorésine, est présente de façon constitutive (synthétisée dans des structures anatomiques très spécialisées) ou induite (généralement provoquée par des attaques d'insectes ou d'agents pathogènes (LaFever et *al*, 1994);

Elle est considérée comme un système de défense lors des ruptures mécaniques de bois (Cheniclet, 1987; Luchiet *al.*, Ruel et *al.*, 1998) afin de le protéger contre les attaques extérieures;

La résine des pins est un mélange complexe de terpènes constitué d'une partie volatile appelée térébenthine et d'une partie non volatile appelée colophane (rosin).

La térébenthine contient principalement des monoterpènes et quelques sesquiterpènes. Le (3-pinène (2), l' $\alpha$ -pinène(3) (figure 8), et le 3-carène sont les plus répandus alors que les composés mineurs généralement présents sont le dipentène, le p-phellandrène, le terpinolène, l' $\alpha$ -terpinène, le p-cymène et le myrcène (4) (Zinkel et *al*, 1989a).

La colophane contient essentiellement des acides diterpéniques (Phillips et *al*, 1999), elle est généralement considérée comme un mélange complexe de molécules dont 90 % sont des acides, les 10 % restants sont un mélange d'esters, d'aldéhydes et d'alcools.

La fraction acide est composée d'isomères de l'acide abiétique (acide 13-isopropylpodocarpa7, 13-dièn-15-oïque) dont la formule brute est  $C_{19}H_{29}COOH$  et la masse molaire est de 302,451 g/mol (Cannac et *al.*, 2009; Ghanmi et *al.*, 2009; Joye and Lawrence, 1967; Wiyono et *al.*, 2006). Ces isomères peuvent être divisés en deux principaux groupes, le premier est celui des isomères de l'acide abiétique (acide abiétique, acide néoabiétique, acide lévopimarique, acide palustrique) et sont caractérisés par des doubles liaisons conjuguées, le second groupe est celui des isomères de l'acide pimarique (acide sandaracopimarique, acide isopimarique et acide pimarique) qui ne possèdent pas de double liaison conjuguée. Des formes déshydrogénées de l'acide abiétique sont également présentes dans la colophane, par exemple, l'acide déhydroabiétique dont la formule brute est  $C_{19}H_{27}COOH$  et la masse molaire égale à 300,208 g/mol (Rezzi et *al.*, 2005).

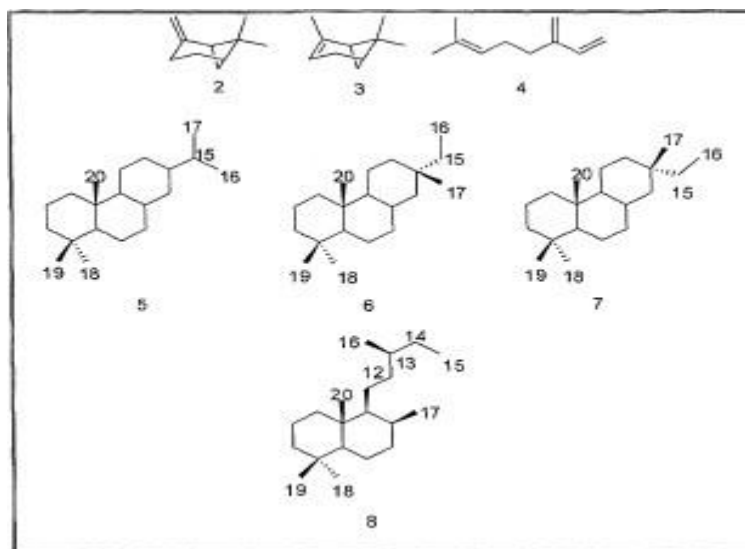
Les principaux tanins retrouvés dans les pins, surtout étudiés à partir du pin

maritime (*Pinus maritima* L.), sont des oligomères de deux à sept unités de flavan-3-ol. Les plus fréquemment retrouvés sont les procyanidines, c'est-à-dire des oligomères de catéchine ou d'epicatéchine (Romani et al, 2006).

Une très grande variété de terpènes a été identifiée dans le genre *Pinus*, les compositions en terpènes volatils des aiguilles de plusieurs espèces de pin ont déjà été analysées (Yu et al, 2004; Ka et al, 2005; Hong et al, 2004; Tsitsimpikou et al, 2001).

Les composés présents en plus grandes quantités sont des mono ou des sesquiterpènes et leurs concentrations varient d'une espèce à l'autre. Le (3-pinène (2), l' $\alpha$ -pinène (3), et le  $\beta$ -phellandrène sont les plus répandus (Fig.8).

Plusieurs diterpènes ont été isolés tant dans la colophane que dans différentes parties des pins, on retrouve principalement dans la littérature des diterpènes avec des squelettes de type abietane (5), pimarane (6), isopimarane (7) et labdane (8) (Fig.5)



**Fig 8.** Structures des sesquiterpènes et des diterpènes chez le genre *Pinus*

Les acides résiniques sont des diterpènes, souvent de type abietane, pimarane ou isopimarane, qui possèdent une fonction acide en position 18 ou 19 et qui se retrouvent dans les différentes parties des conifères.

Certains acides résiniques moins communs, de type labdane possèdent une fonction acide en 15 ou deux fonctions acides en 15 et 18 ou en 15 et 19 (Zinkel et al, 1989).

La colophane est constituée presque essentiellement d'acides résiniques qui sont aussi les composés majoritaires du bois interne, de l'aubier et des aiguilles, à titre d'exemple, les extraits à l'hexane du bois interne et d'aubier de pin sylvestre contiennent



respectivement 47 % et 38 % d'acides résiniques, principalement les acides abiétique et déhydroabiétique (Nuopponen et al, 2004).

Le tableau 3 présente une liste des acides résiniques les plus souvent rapportés chez le genre *Pinus*. La plupart des acides résiniques retrouvés dans les pins sont accompagnés par des traces des alcools et des aldéhydes correspondant (Zinkel et al, 1972)

Tableau 3: Principaux acides résiniques retrouvés chez le genre *Pinus*

Nom commun	Nomenclature
Type abietane	
Acide abiétique	Acide abiétatri-7,13-èn-18-oïque
Acide néoabiétique	Acide abiétadi -8(14),13(15)- èn-18-oïque
Acide palustrique	Acide abiétadi -8(9),13- èn-18-oïque
Acide lévopimarique	Acide abiétadi -8(14),12- èn-18-oïque
Acide déhydroabiétique	Acide abiétadi -8,11,13- èn-18-oïque
Type pimarane	
Acide pimarique	Acide pimaradi-8(14),15- èn-18-oïque
Acide isopimarique	Acide isopimaradi-7(8),15- èn-18-oïque
Acide sandaracopimarique	Acide isopimaradi-8(14),15- èn-18-oïque

En plus de ces familles de diterpènes, quelques composés apparentés à ces structures ont été identifiés dans des espèces de pins (Fig.9). Il ya l'acide abéoanticopalique (9) qui a un squelette de type labdane avec un des cycles ouverts et qui a été isolé dans le pin blanc (*Pinus strobus*) (Zinkel et al, 1987). Mentionnons aussi le norpimaradiénone(10) qui montre un squelette de pimarane avec un méthyl en C-4 en moins, ce composé a été isolé de la résine du pin maritime, *Pinus pinaster*, une espèce originaire d'Europe.

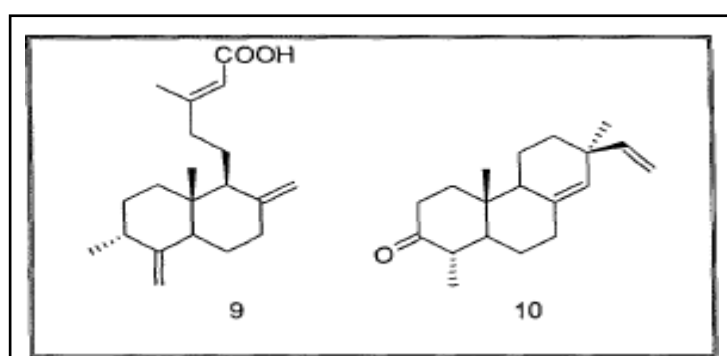
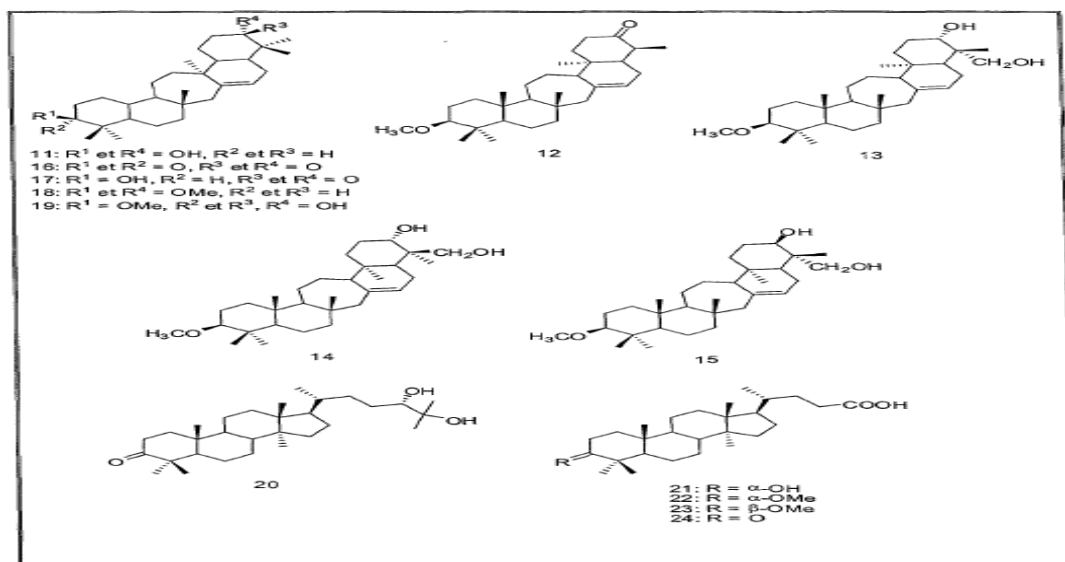


Fig 9. Acides résiniques à squelettes modifiés

Contrairement aux diterpènes qui sont des composés retrouvés en grande quantité, les triterpènes sont isolés en faible quantité dans le genre *Pinus*, la variété des types de squelettes retrouvés est aussi moins grande, les premiers à avoir été isolés étaient de type serratane.

Le serratènediol (11) (Fig.10) est un exemple de serratane qui a été retrouvé dans plusieurs espèces de pins (Rowe, 1989d). Conner et al, en 1984, ont identifié quatre autres triterpènes du même type (12 à 15) dans l'écorce du pin argenté (*Pinus monticola*). Cheng et al. (1975) de leur côté, en ont décrit quatre (16 à 19) provenant d'un extrait à l'acétone de *Pinus luchuensis*. Cinq autres triterpènes (20 à 24) appartenant au type lanostane ont aussi été identifiés dans cette matrice (Wada et Tanaka, 2000)



**Fig 10.** Composés triterpéniques chez le genre *Pinus*

Les composés phénoliques retrouvés dans les pins sont très variés. Les lignans, qui sont dérivés des phénylpropanes, sont souvent présents en grande quantité, ceux principalement rencontrés dans le bois de cœur, les nœuds et l'écorce sont le lariciresinol (25), Tisolariciresinol (26), le secoisolariciresinol (27) et le (-)-nortrachelogenin (28) (Fig. 11) (Suga et al, 1993; Willfôr et al, 2003; Willfôr et al, 2003).

Le xylopyranoside de (+)-isolarisiresinol est un glycoside de lignan isolé dans un extrait au MeOH des aiguilles de *Pinus densiflora* (Jung et al, 2003). Les stilbènes constituent aussi des composés phénoliques majoritaires dans le bois interne de plusieurs pins.

Certains agissent comme phytoalexin, c'est-à-dire que leur présence a été induite par un stress provenant d'une attaque fongique ou bactérienne, les plus rencontrés dans le genre *Pinus* sont le pinosylvin (29), le pinosylvin monomethyl ether (30) et le pinosylvin dimethyl ether (31) (fig.11). Ces derniers sont des constituants caractéristiques du bois interne du genre *Pinus* (Rowe, 1989).

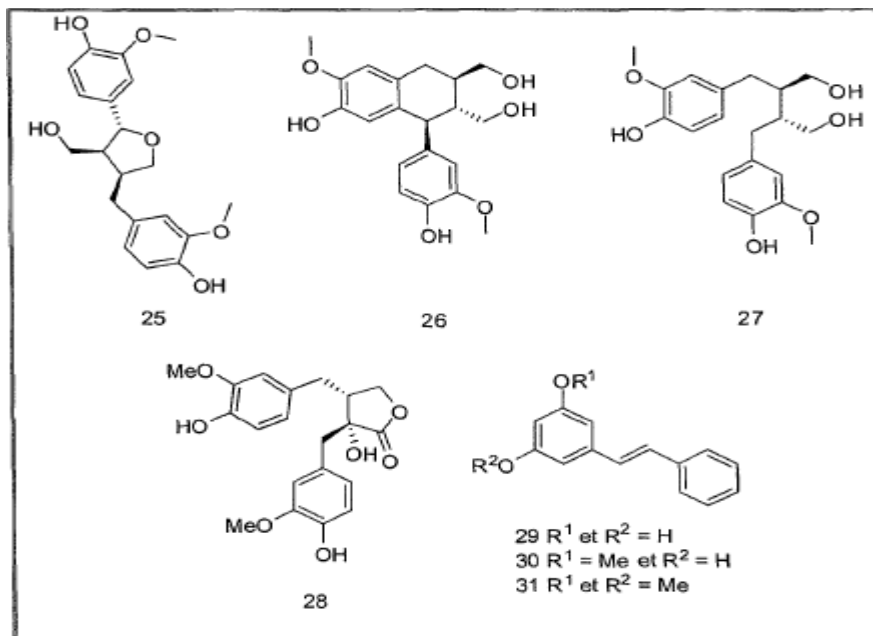


Fig 11. Composés phenoliques retrouvés chez le genre *Pinus*

En terminant par une série d'alcaloïdes de type piperidine (Fig.12). Les premiers à être identifiés furent Pa-pipecoline (32) et le (-)-pinidine (33) à partir des feuilles de *Pinus sabiniana* (Tallent et al, 1955). Plusieurs autres alcaloïdes de ce type ont ensuite été identifiés (Tawara et al, 1993) et Stermitz et al ont déterminé leur présence dans plusieurs espèces de pins en 1994.

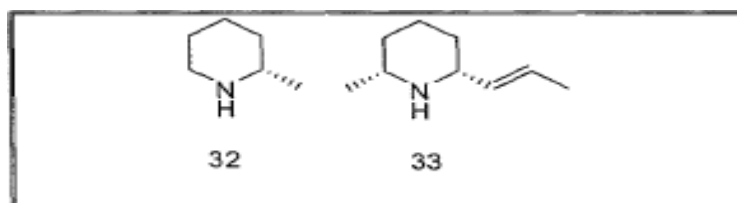


Fig 12. Alcaloïdes présents dans le genre *Pinus*

## II.5 Activité Biologique

Plusieurs études visant à évaluer le potentiel biopharmaceutique de différentes espèces de pins ont été rapportées dans la littérature. Ces travaux se penchent particulièrement sur le potentiel antioxydant, antibactérien et antifongique. Il existe aussi quelques études sur le potentiel anticancéreux d'extraits de pins et de composés provenant du genre *Pinus*.

Le Pycnogenol est un supplément nutritif commercialisé qui correspond à un extrait éthanolique-aqueux des écorces de *Pinus maritima*. Cet extrait est composé principalement de proanthocyanidines et d'acides phénoliques (Rohdewald, 2002). Il a une

toxicité aiguë et chronique faible et les activités biologiques qui lui sont attribuées sont nombreuses : traitement de l'insuffisance veineuse chronique, protection contre le stress oxydatif dans plusieurs systèmes cellulaires, activité anti-inflammatoire in vitro et in vivo, etc. (Rohdewald, 2002).

Des extraits d'aiguilles, d'écorces et de cônes de *Pinus massoniana* ont montré une faible inhibition de la croissance de cellules leucémiques de type U937 (Cui et al, 2005). Un extrait des écorces de *Pinus massoniana* a aussi montré le pouvoir d'induire l'apoptose sur une lignée de cellules cancéreuses du foie (BEL-7402) (Cui et al, 2005). Certains diterpènes isolés de *Pinus luchuensis* ont été testés pour leur activité chemopréventive face au cancer et ont montré des résultats intéressants (Minami et al, 2002).

L'activité antioxydante des extraits de *Pinus conforta* et de *Pinus sibirica* (Willfôr, et al, 2003), de l'huile essentielle de *Pinus mugo* (Grassmann et al, 2003), du Pycnogenol (Packer et al, 1999), d'extraits d'écorces de *Pinus pinaster* (Tourino et al, 2005), d'extraits d'aiguilles de *Pinus sylvestris* (Ka et al, 2005; Vuorela et al, 2005), d'extraits d'aiguilles de *Pinus densiflora* (Jung et al, 2003), d'extraits de *Pinus morrisonicola* (Hsu et al, 2005) et d'extraits de *Pinus massoniana* (Cui et al, 2005) a été démontrée clairement au cours des dix dernières années. La présence de composés phénoliques explique en grande partie ce fort potentiel antioxydant.

Les propriétés antibactériennes et antifongique des pins, attribuable à un grand nombre de phytoalexins, suscitent aussi beaucoup d'attention dans la littérature scientifique.

### **II.6 Utilisation de la Résine de Pin**

Divers produits résineux obtenus à partir de Pins sont employés dans la médecine traditionnelle locale, utilisent à ces fins la résine naturelle, la gemme et le galipot, l'essence de terebenthine, le produit résineux qui s'écoule d'un morceau d'ocote (bois particulièrement riche en résine) enflammé, etc., qu'ils s'appellent indifféremment resina/resine/ ou trementina/gemme, terebenthine. Seuls ou en mélange, ces produits sont utilisés pour soigner les fractures, les luxations, la gale ainsi que diverses maladies dites "froides" (comme les rhumatismes, l'arthrite etc. ; le classement en maladies "froides" se réfère à des notions écologiques mais aussi et avant tout symboliques) (Motte-Flora, 1992).

Les textes anciens attestent que les Aztèques utilisaient déjà en thérapeutique des



produits résineux de Pin: l'ocotzol, ou résine obtenue par incision du tronc, et l'oxitl, produit résineux obtenu par un procédé inconnu. Cet oxitl était considéré comme un médicament d'une importance telle que sa découverte était attribuée à Tzapotlatena, disent des médecins et des sages-femmes. Chez les P'urhepecha, la tradition d'une préparation à base de résine de Pin s'est perpétuée à travers un thérapeute traditionnel. Il s'agit du produit de la distillation sèche de morceaux d'ocote de *Pinus leiophylla* choisis avec beaucoup de soin. Diverses données historiques et anthropologiques (Motte-Flora, 1996) permettent de penser qu'il s'agit de l'oxitl, utilisé pour les mêmes indications qu'autrefois et jouissant d'un égal prestige, on le dit excellent contre les maux de gorge, remarquable pour le traitement des luxations et des fractures, puissant antiseptique, mais surtout on lui reconnaît la particularité d'être parfaitement toléré. Si les propriétés de modificateur des sécrétions bronchiques, les vertus antiseptiques et anti-inflammatoires de produits obtenus à partir de diverses espèces de Pins (en particulier *P. sylvestris* et *P. pinaster*) ont été vérifiées depuis longtemps, l'utilisation de ces produits s'est toujours trouvée limitée en raison des risques d'irritations et d'allergies. Cette tolérance de l'oxitl est une donnée particulièrement intéressante et mérite qu'on s'y intéresse, surtout quand on sait que ce produit était si peu allergisant.

Les nouvelles perspectives pharmaceutiques qu'offrent de telles traditions méritent qu'on ne laisse pas tomber dans l'oubli cette source de savoir.

La résine de pin peut être appliquée directement sur la plaie pour endiguer le flux sanguin un peu sous forme de colle. La résine va également inhiber la croissance et la propagation des bactéries en raison de sa nature collante qui substitue à la bactérie l'humidité dont elle a besoin pour survivre, elle est utilisée aussi pour imperméabiliser des chaussures et d'autres articles, la résine présente une source de lumière, de chaleur et pour allumer un feu dans des conditions humides. Utilisée aussi comme colle, pour réparer les trous des récipients d'eau, les semelles de chaussures, appliquer des plumes sur des flèches faites maison ou durcir les pointes de chasse pour les empêcher de se briser (Survie Boreale 23 Septembre 2018)

# **Matériel et Méthodes**

## III. Matériels et Méthodes

Ce chapitre expose les matières végétales utilisées, les protocoles d'extraction, ainsi que les tests d'évaluation de l'activité antioxydant.

### III.1 Méthodes d'Extraction

Après séchage à l'ombre, la résine a été broyée en poudre fine, ensuite macérée dans un solvant adéquat d'extraction durant un temps approprié. La macération est la méthode utilisée pour l'extraction.

### III.2 Expériences effectuées et évaluation de l'activité antioxydant

Afin d'évaluer le pouvoir antioxydant des extraits de la résine des pinnes, plusieurs méthodes ont été adaptées à savoir: l'activité scavenging de radical DPPH, Le pouvoir réducteur, ABTS<sup>+</sup>, Capacité de chélation des métaux ...etc.

#### III.2.1 Travaux de MORDO (2017)

##### Test DPPH

Le DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyle) radical libre, stable et caractérisé par une couleur violette dont l'intensité est mesurée à 515 nm (Brand-Williams et *al.*, 1995). La substance antioxydante agit en transférant un électron ou un atome d'hydrogène ce qui conduit à la réduction du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration au jaune pâle. Ce passage, de la première forme à la deuxième, est accompagné d'une diminution de l'absorbance qui peut exprimer le pourcentage de réduction de DPPH (Molyneux, 2004).

Mordo tillah; a réalisé l'expérience sur la résine de 3 espèces de pin, *P. insularise*, *P.oocarpa*, *P.merkusii*. L'analyse de l'activité de réduction de DPPH par la spectrophotométrie a été effectuée conformément à Batubara et *al.* (2009).

Une bioautographie antioxydante a été réalisée selon Salazar-Aranda et *al.* (2011).

#### III.2.2 Travaux de KILIC (2016)

##### III.4.2.1 Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur totale en phénolique a été déterminée avec le Réactif de Folin Ciocalteu, selon la méthode décrite par (Wang et *al.*2007).

##### III.4.2.2 Détermination de la teneur totale en flavonoïdes

La teneur totale en flavonoïdes a été déterminée par une méthode décrite par Jia et *al* (1999)

### III.4.2.3 Test DPPH

L'activité de réduction des radicaux libres de l'extrait a été effectuée selon la méthode de Shimada *et al.* (1992).

### III.4.2.4 Capacité de chélation des métaux

L'activité chélatante des ions ferreux par l'extrait de **PNR** était mesurée selon Dastmalchi *et al.* (2008).

### III.4.2.5 Test de Pouvoir de Réduction $Fe^{3+}$

Le pouvoir réducteur de l'extrait a été déterminé par la méthode d'Oyaizu (1986) avec une légère modification. Cette méthode est basée sur la réduction du ferricyanide ( $Fe^{3+}$ ) en excès stœchiométrique par rapport à des antioxydants. L'augmentation de l'absorbance de mélange indique une plus grande capacité de réduction (Yesiloglu, *Et al* 2013., Kilic, *et al* 2014).

### III.4.2.6 Test ABTS<sup>+</sup>

L'activité de réduction de l'ABTS<sup>+</sup> par la PNR a été mesurée selon la procédure décrite par (Re *et al.*, 1999).

### III.4.2.7 Test de réduction du peroxyde d'hydrogène d'extrait de résine de *Pinus nigra*

Le test de réduction du peroxyde d'hydrogène a été effectué suivant la procédure de Ruch *et al* (1989)

### III.4.2.8. Activité de réduction des radicaux de super-oxyde d'extrait de résine de *Pinus nigra*

La réduction des radicaux super-oxydes a été réalisée par la méthode décrite par Liu *et al* (1997), avec une légère modification.

### III.4.2.9. Activité Antioxydante Totale d'Acide Linoléique d'extrait de résine de *Pinus nigra*

L'activité antioxydante de l'extrait de résine a été déterminée selon la méthode décrite par Wallin *et al.* (1993), avec modifications mineures.

### III.2.3 Travaux de AMARI & MECHOUCHE (2017)

#### A. Dosage des phénols totaux de la résine de *Pinus halepensis*

L'estimation de la teneur en composés phénoliques a été réalisée selon la méthode au Folin-Ciocalteu utilisée par Kähkönen et *al.* (1999).

#### B. Dosage des flavonoïdes

L'évaluation quantitative des flavonoïdes dans de l'extrait phénolique de la résine de *Pinus halepensis* a été effectuée selon la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) (Maksimović et *al.*, 2005), basée sur la formation du complexe de flavonoïdes avec le chlorure d'aluminium par chélation des métaux.

#### C. Test DPPH

L'activité scavenging de l'extrait de résine de *pinus halpensis* a été déterminée spectrophotométriquement en utilisant la méthode de Balasundrum et *al.* (2007).

### III.2.4 Travaux de BENAMEUR et MAATOUG ( 2018 )

#### A. Dosage des polyphénols

La teneur totale en composés phénoliques a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu (Li et *al.*, 2007).

#### B. Dosage des flavonoïdes de la résine de *Pinus sylvastris*

La méthode utilisée pour le dosage des flavonoïdes est celle décrite par Bahorun et *al* (1996).

#### C. Test DPPH

La mesure de l'activité anti radicalaire DPPH° a été effectuée en suivant le protocole de Cuendet et *al* (1997).

# **Résultats et Discussions**

### VI. Résultats et Discussions

#### IV.1 Travaux de Mordo (2017)

##### IV.1.1. Rendement d'extrait de pin

Le résultat obtenu par Mordo Tilah, montre que le composé principal dans la résine de pin est un composé non polaire qui peut être extrait par l'hexane.

**Tableau4** Rendement d'extrait de pin

Echantillon	Rendement (%)		
	n-hexane	EtOAc	MeOH
<i>P.merkusii</i>	93.581	--	--
<i>P.oocarpa</i>	76.434	--	--
<i>P.insularis</i>	95.557	--	--

##### IV.1.2. Activités antioxydants de l'extrait de résines

La valeur IC<sub>50</sub> indique la concentration d'échantillon qui pourrait inhiber 50% du radical DPPH. La valeur la plus faible d'IC<sub>50</sub> signifie l'échantillon le plus actif comme antioxydant.

**Tableau 5.** Activités antioxydants de l'extrait de résines

Echantillon	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
n- hexane <i>P. oocarpa</i>	154.500
n- hexane <i>P. insularis</i>	99.328
n- hexane <i>P. merkusii</i>	60.203
Ascorbic acid	0.0052

L'extrait a également été analysé par un test de DPPH avec la chromatographie sur couche mince. Le résultat a montré que l'extrait de résine de n-hexane *P. merkusii* a la valeur IC<sub>50</sub> la plus faible, cela signifie que cet extrait est le plus puissant comme antioxydant par rapport aux deux autres. Tous les échantillons ont montrés un faible potentiel antioxydant par rapport au témoin positif (acide ascorbique).

Le test qualitatif a été réalisé par chromatographie sur couche mince et le réactif

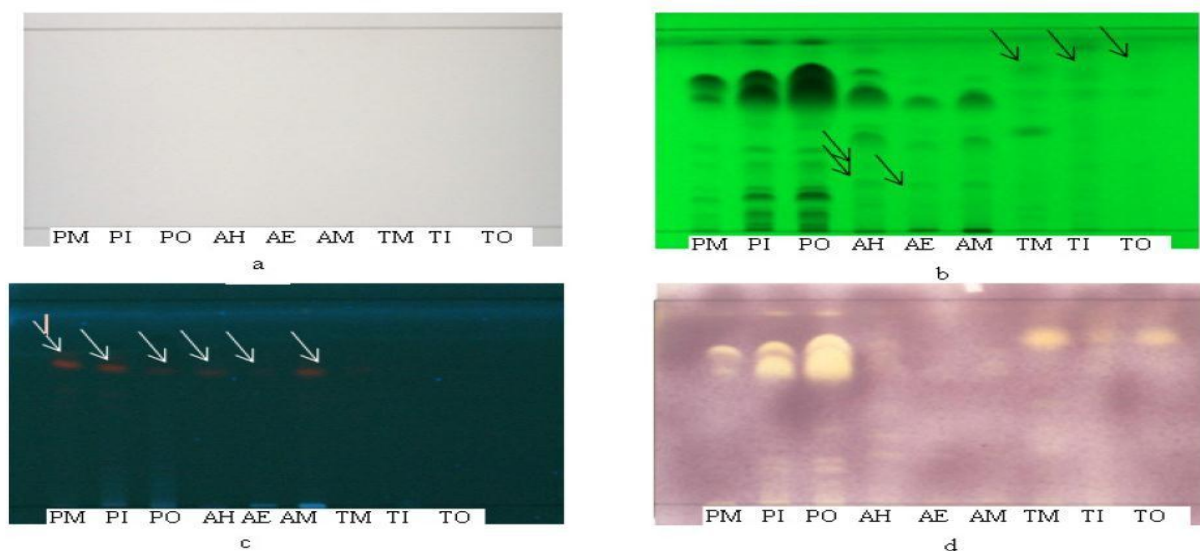
## Résultats et Discussions

DPPH pour détecter les composés qui ont la capacité de réduire le DPPH, en donnant une couleur jaune sur la tache active en tant qu'antioxydant.

D'après le test de bioautographie, comme le montre la (Fig.13), l'extrait de résine n-hexane de *P. oocarpa*, *P. insularis* et *P. merkusii* a présenté une forte activité antioxydante par rapport à l'extrait de résine n-hexane *A. loranthifolia*, MeOH *A. loranthifolia*, EtOAc *A. loranthifolia* et toutes les huiles essentielles.

Les valeurs du rapport frontal des extraits de résines varient entre 0,15 et 0,93 avant d'être pulvérisés par la DPPH à 254 nm, dans le chromatogramme vu sous la lumière UV à 366 nm (Fig.13.c), l'extrait n-hexane de la résine du *P. merkusii* (Rf 0.74), *P.insularis* (Rf 0,67), *P. oocarpa* (Rf 0,65) a montré une tache rouge.

Après pulvérisation par DPPH (Fig.13.d), il y avait 3 taches (Rf 0.65, 0.80 et 0.93) pour le n-hexane *P.merkusii*, 5 taches (Rf 0.18, 0.20, 0.67, 0.80 et 0.92) pour le n- hexane *P. insularis* et 5 taches (Rf 0.18, 0.21, 0.71, 0.80 et 0.92) pour le n- hexane *P. oocarpa* actives comme antioxydant. Il a été caractérisé par l'apparition de la couleur jaune sur le chromatogramme bioautographie.



**Fig 13.** Chromatogramme bioautographie d'Antioxydants; utilisant un réactif de détection

**DPPH** (a) lumière visible (b) 254 nm (c) 366nm Après pulvérisation par DPPH; **PM** : n-hexane *P. merkusii*; **PI** : n- hexane *P. insularis*; **PO** : n- hexane *P. oocarpa*; **TM** : Terpentin *P. merkusii*; **TI** : Terpentin *P.insularis*; **TO**:Terpentine *P. oocarpa*

Les résultats de cette étude ont montré que les extraits de résine de *pinus merkusii*, *oocarpa* et *insullaris*, possèdent une activité antioxydante, néanmoins l'extrait de la résine du *pinus merkusii* a montré un pouvoir antioxydant plus élevé par rapport aux deux autres,



Cela a été traduit par une plus faible valeur de  $IC_{50}$  et la présence d'une tache rouge sur le chromatogramme mesuré à une onde de 366 nm.

### IV.2 Travaux de Kilic (2016)

#### IV.2.1 Détermination des Polyphénols et des Flavonoïdes

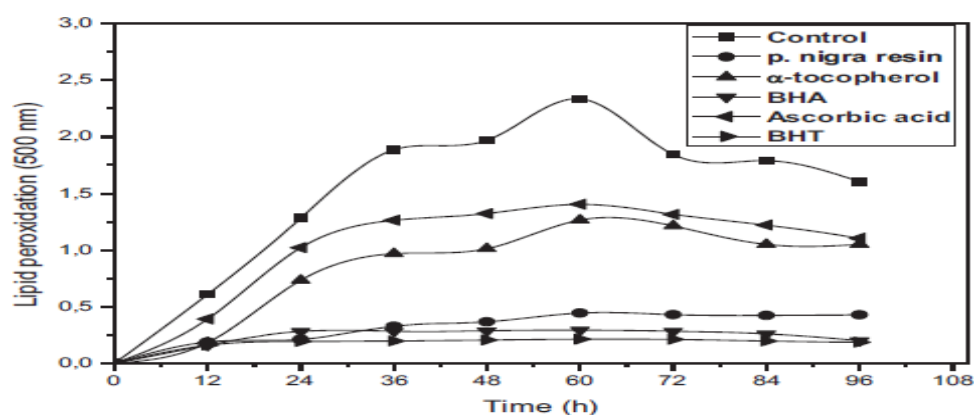
Dans le cadre d'étude de KILIC, il a détecté 48,2 mg d'équivalent quercétine de phénol dans 1mg d'extrait de méthanol de la résine de *pinus nigra* (RPN). La teneur totale en flavonoïdes dans 1g d'extrait méthanolique de résine était de 66,36 mg, selon la norme courbe de l'acide gallique.

#### IV.2.2 Activité antioxydante totale dans l'émulsion d'acide linoléique

L'activité antioxydante d'extrait de résine de *Pinus nigra* a été déterminée par la méthode du thiocyanate. (Fig.14)

L'extrait de méthanol du RPN (375  $\mu\text{g/ml}$ ) présentait un puissant antioxydant avec une inhibition de 81,0 % de la peroxydation d'acide linoléique, cependant, la même concentration de BHT, BHA,  $\alpha$ -tocophérol et l'acide ascorbique inhibent la peroxydation lipidique à 90,8, 87,4, 45,8 et 38,9 %, respectivement.

Par conséquent, ces résultats indiquaient clairement que le PNR avait une activité antioxydante similaire à BHT, BHA mais une activité antioxydante plus élevée que l'acide ascorbique et le  $\alpha$ -tocophérol, aux mêmes concentrations; Les résultats suggèrent que les activités antioxydantes dépendent de la concentration.



**Fig 14.** Activité antioxydante totale du RPN, de l'acide ascorbique, du  $\alpha$ -tocophérol, du BHA et du BHT à la même concentration (375  $\mu\text{g/mL}$ )

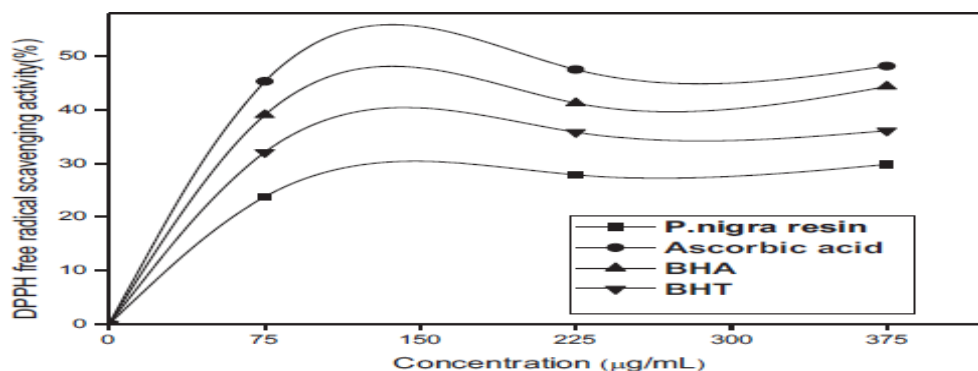
#### IV.2.3 Réduction du radical DPPH

Le changement de la densité des radicaux DPPH a été surveillé, la (Fig.15) illustre la diminution de l'absorbance du radical DPPH due à la capacité de scavenging des molécules

## Résultats et Discussions

solubles en différentes quantités de RPN. kilic a utilisé le BHA, le BHT et l'acide ascorbique comme standard.

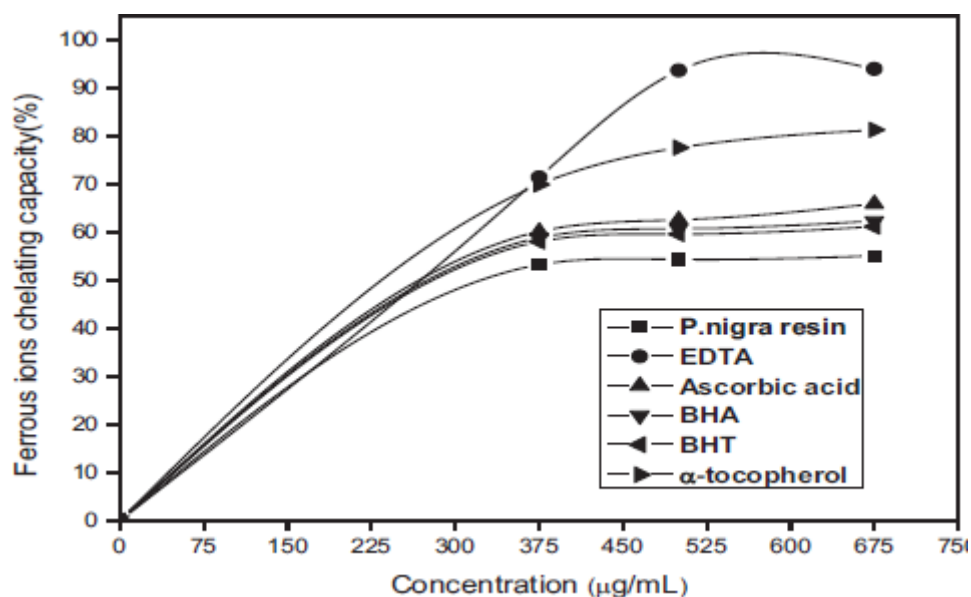
L'activité radicalaire de DPPH de l'extrait de PNR (375  $\mu\text{g/ml}$ ) était de 29,8 %. D'autre part, le BHA, Le BHT et l'acide ascorbique présentaient 44,4, 36,1 et 48,2 % d'activité radicalaire aux mêmes concentrations, respectivement.



**Fig 15.** Effet scavenger des radicaux libres du DPPH à différentes concentrations (75-375  $\mu\text{g/ml}$ ) du PNR et des antioxydants de référence.

### IV.2.4 Capacité de chélation du fer ferreux

La chélation du PNR était inférieur à celui de BHA, BHT,  $\alpha$ -tocophérol, acide ascorbique et EDTA. La capacité de chélation des ions ferreux a également augmenté avec l'augmentation de la concentration de PNR.



**Fig 16.** Comparaison de l'activité chélatante des ions ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) de PNR et composés antioxydants standards.

### IV.2.5 Le pouvoir de réduction

À une concentration de 375  $\mu\text{g/ml}$ , la puissance de réduction de l'extrait de PNR était

## Résultats et Discussions

d'environ 0,197% , une solution de BHA, de BHT, d'acide ascorbique et  $\alpha$ -tocophérol à la même concentration, avait une valeur de puissance de réduction de 0,728%, 0,621% et 0,598% et de 0,310%, respectivement.

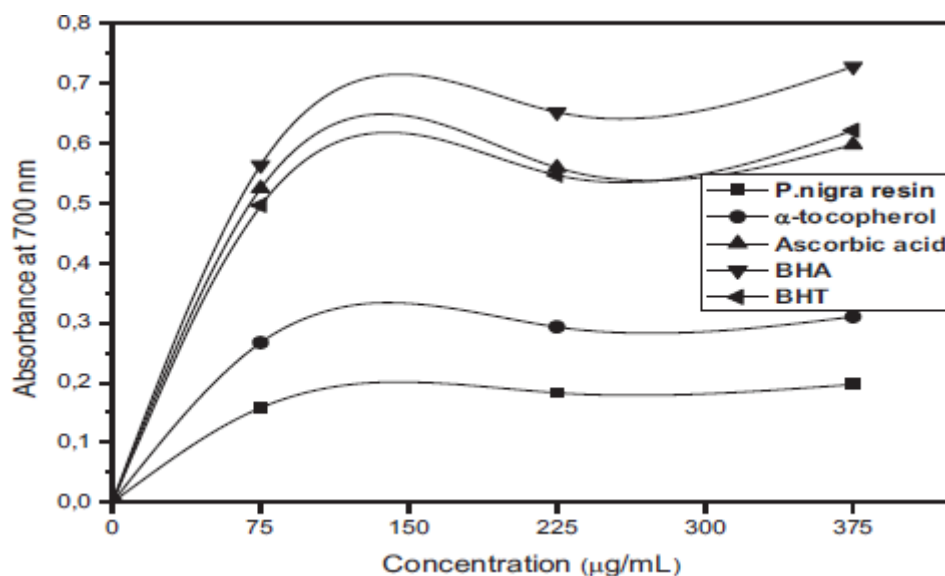


Fig 17. Potentiel réducteur de  $\text{Fe}^{3+}$  en  $\text{Fe}^{2+}$  différentes concentrations (75-375  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) de PNR et d'antioxydants des standards.

### IV.2.6 Activité de réduction du peroxyde d'hydrogène

Toutes les mesures spectrophotométriques ont été répétées deux fois au moins trois répétitions. À une concentration de 375  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , la puissance de réduction de l'extrait de PNR était d'environ 0,197%, le témoin positif utilisé dans cet essai est une solution de BHA, de BHT, d'acide ascorbique et  $\alpha$ -tocophérol à la même concentration, avait une puissance de réduction de 0,728%, 0,621% et 0,598 % et 0,310%, respectivement.

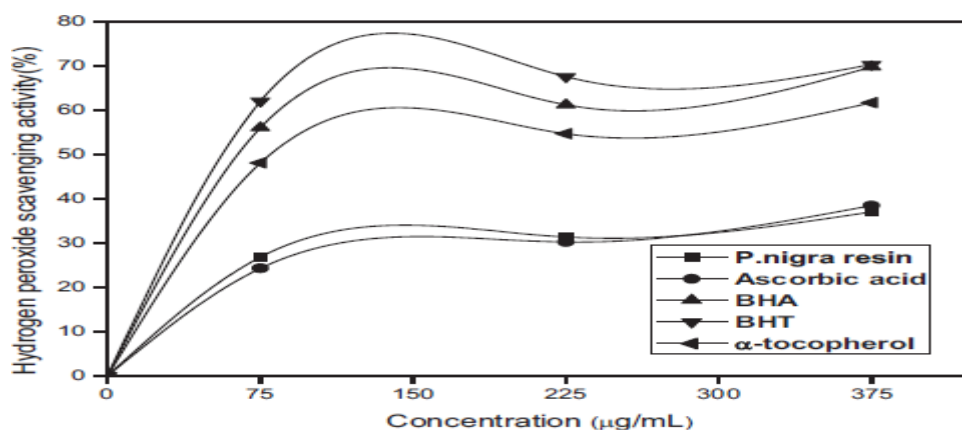


Fig 18. Comparaison de la réduction du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) activité du PNR et des standards.

### IV.2.7 Réduction des anions superoxyde

La diminution de l'absorbance à 560 nm avec des antioxydants indique ainsi la consommation d'anion superoxyde dans le mélange de réaction.

L'extrait PNR présentait une activité de balayage des radicaux superoxydes inférieure à celle du BHA, du BHT, du  $\alpha$ -tocophérol et de l'acide ascorbique.

L'activité de récupération des radicaux superoxydes de ces échantillons a suivi l'ordre suivant : **BHA > BHT > acide ascorbique >  $\alpha$ -tocophérol > extrait de RPN.**

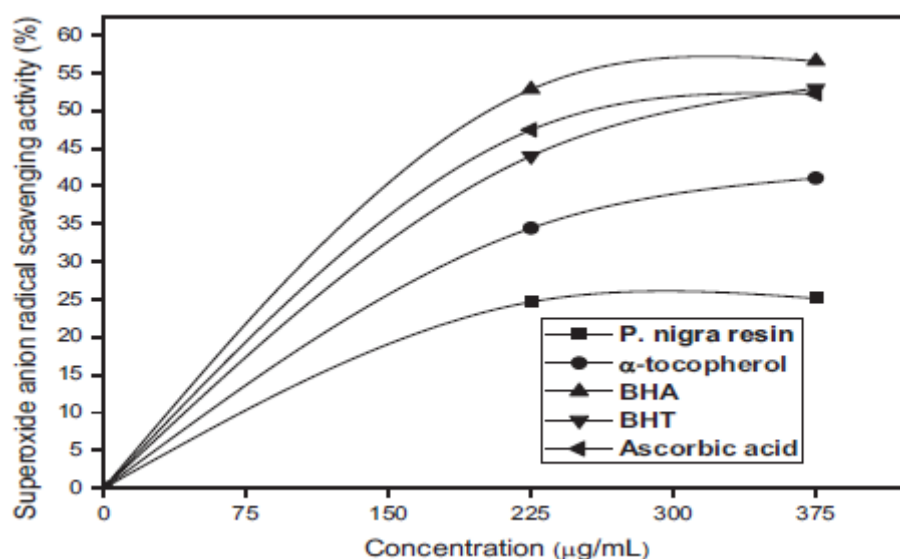


Fig 19. Réduction du radical anionique de superoxyde ( $\text{O}_2^-$ ) de la RPN et les standards.

### IV.2.8 Réduction de l'ABTS<sup>+</sup>

L'activité de réduction de l'ABTS<sup>+</sup> a augmenté avec la concentration croissante de PNR, atteignant 41,34, 32,11 et 10,38% à 375, 225, 75  $\mu\text{g/ml}$ , respectivement.

L'activité de récupération d'ABTS<sup>+</sup> des étalons à 375  $\mu\text{g/ml}$  diminués dans l'ordre : Acide ascorbique > BHT > BHA >  $\alpha$ -tocophérol (92,3, 85,4, 79,0 et 53,8 %, respectivement)

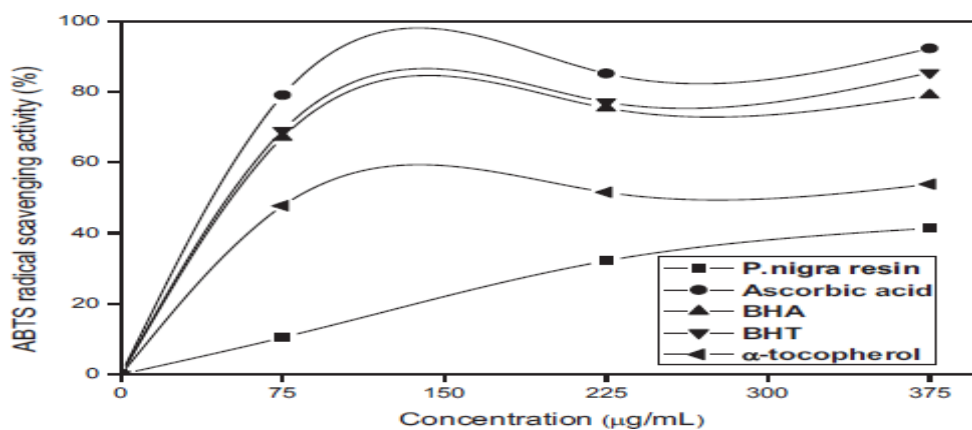


Fig 20. Réduction de l'ABTS<sup>+</sup>

## Résultats et Discussions

L'activité antioxydant de *pinus nigra* a montré un haut pouvoir réducteur qui est dépendant rationnellement de la quantité et la concentration de l'extrait.

Les composés phénoliques et flavonoïdes semblent être responsables de l'activité antioxydant de PNR.

Les résultats ont démontré que la RPN a une forte teneur en antioxydants, pouvoir réducteur, récupération des radicaux anioniques de superoxyde, du peroxyde libre, et de peroxyde d'hydrogène, chélation du métal et réduction de ABTS<sup>+</sup> et radical DPPH par rapport à des standards différents telles que  $\alpha$ -tocophérol, acide ascorbique, BHA et BHT.

### IV.3 travaux de Travaux de Amari & Mechouche sur la résine de *pinus halepensis* (2017)

#### IV.3.1 Dosage des composés phénoliques de la résine de *P. halepensis*

Les résultats de la teneur en phénols totaux, flavonoïdes sont illustrés dans le tableau 3. Des teneurs relativement élevées ont été enregistrées en phénols totaux ( $232 \pm 12,72$  mg EAG/ gE), en flavonoïdes ( $91,81 \pm 2,66$  mg EQ/ Ge) confirmant ainsi ce qu'a été déjà supposé concernant sa richesse en composés phénoliques, selon l'étude menée par Kadri et al. (2014) faite sur les graines de *Pinus halepensis* (pin Algérien), les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes trouvées dans l'extrait méthanolique (50%) sont de 3,71 mg EAG/ gE et 0,80 mg EQ/ gE, respectivement. Ces valeurs sont inférieures à celles obtenues avec cette étude.

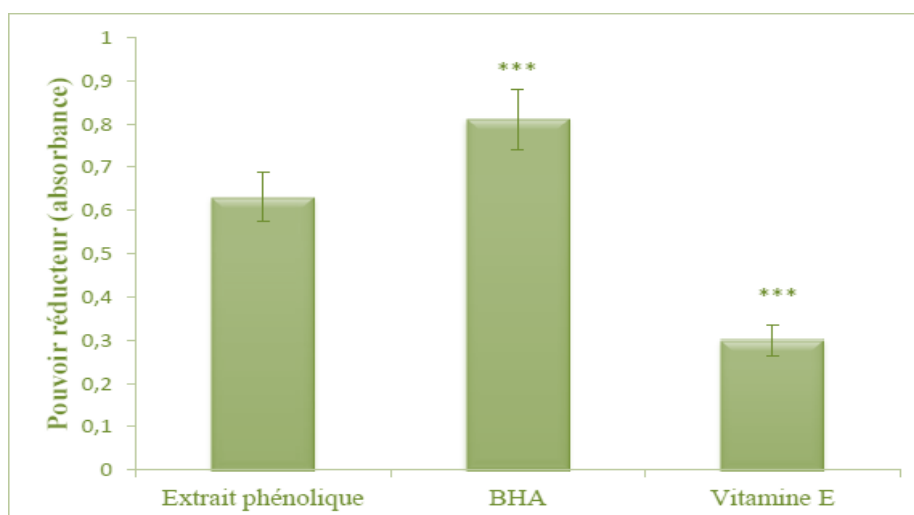
**Tableau 6** taux d'extraction et dosage des composés phénoliques

Taux d'extraction (%)	Phénols totaux (mg EAG/g E)	Flavonoïdes (mg EQ/ g E)
27, 05%	$232 \pm 12,72$	$91,81 \pm 2,66$

#### I.3.2 Pouvoir réducteur

Dans ce test, la présence des réducteurs dans l'extrait provoque la réduction de Fe<sup>3+</sup>/ complexe ferricyanide à la forme ferreux Fe<sup>2+</sup>. Par conséquent, Fe<sup>2+</sup> peut être évalué en mesurant l'augmentation de la densité de bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm. Le pouvoir antioxydant par la réduction du fer ferrique de l'extrait phénolique de la résine et des standards le BHA et la vitamine E a été évalué à une concentration de 100  $\mu$ g/ml (Fig.21).

## Résultats et Discussions

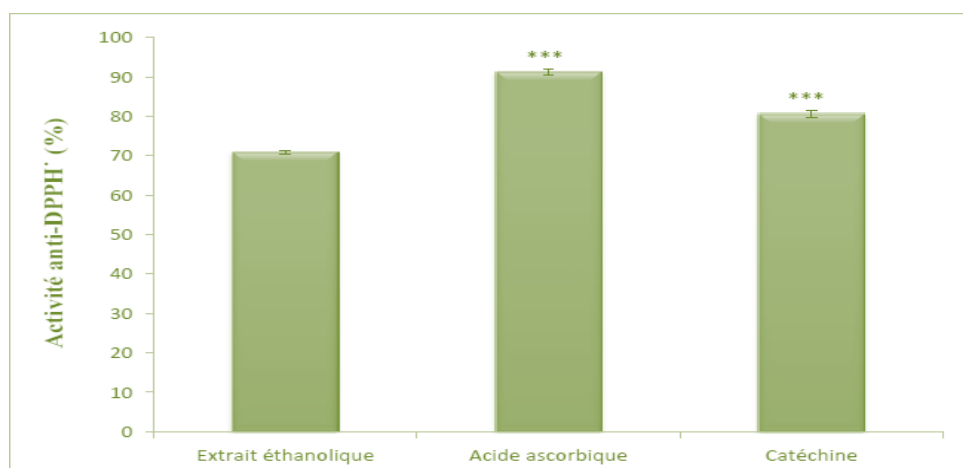


**Fig 21.** Evaluation du pouvoir réducteur des extraits phénoliques de la résine de *P.halepensis* et des standards à 100 µg/ml.

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait phénolique de la résine de *P.halepensis* a exhibé une activité réductrice importante avec un pouvoir de 0,63 UI, qui est supérieur à celle obtenue avec la vitamine E, le BHA a montré le plus fort pouvoir réducteur. Ces variations pourraient être attribuées aux facteurs structuraux des différents antioxydants (Alonso et *al.*, 2000).

### IV.3.3 Effet Scavenger Contre le Radical DPPH'

Les résultats de l'activité anti-radicalaire de l'extrait phénolique de la résine de *P.halepensis* et des standards exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont illustrés dans la (Fig.22).



**Fig 22.** Evaluation de pouvoir anti-radicalaire au DPPH' d'extrait phénolique de la résine de *P.halepensis* et des standards à 100 µg/ml

D'après la (Fig 22), l'extrait de la résine a exhibé de puissant effet scavenger contre ce radical ( $p < 0,001$ ), avec un pourcentage d'inhibition de 70,86%, inférieur aux effets des molécules de références, l'acide ascorbique (93,15%) et la catéchine (81,32%). On peut

## Résultats et Discussions

constater que l'activité scavenging du DPPH de l'extrait de la résine pourrait être attribuée à leurs teneurs élevées en composés phénoliques. Aussi, il a été rapporté que l'activité anti-radicalaire dépend de la structure chimique des composés phénoliques et de la disponibilité en groupements hydroxyles (OH) qui leur attribue la capacité de transférer des électrons ou de donner des hydrogènes (Jayaprakasha et al., 2008). La résine de *pinus halepensis* constitue une source importante en composés phénoliques dont les acides phénoliques et les flavonoïdes. La mesure du pouvoir antioxydant de l'extrait phénolique de la résine de *Pinus halepensis* a révélé des activités antioxydants très élevés,

### IV.4 Travaux de Benameur et Maatoug (2018)

#### IV.4.1 Rendements d'extraction

La préparation des extraits à partir de la résine de *Pinus sylvestris* est effectuée par des solvants à polarité croissante et a permis d'obtenir trois extraits: l'extrait d'hexane, d'acétate, et l'extrait de méthanol. Les rendements d'extraction sont présentés dans le (tableau 7)

**Tableau 7:** Rendements des extractions à partir de la résine de *Pinus sylvestris*

Extrait	Rendement (%)
Acétate d'éthyle	44,83
Méthanol	29,96
Hexane	06,32

Selon le tableau, le rendement le plus élevé est obtenu dans l'extraction par l'acétate (44,83 %), suivi par l'extrait méthanolique (29,96 %), puis l'extrait de l'hexane (6,32 %), on peut noter que le rendement augmente avec la polarité des solvants d'extraction.

#### IV.4.2 Dosage des polyphénols et flavonoïdes

Les résultats sont exprimés en termes d'équivalents d'un standard à l'aide d'une courbe d'étalonnage (fig.23). A partir de la courbe d'étalonnage, les teneurs en composés phénoliques des extraits de *Pinus sylvestris* sont montrés dans le tableau suivant:

**Tableau 8 :** Dosage des polyphénols et flavonoïdes des extraits de *Pinus sylvestris*.

Les extraits	Polyphenols totaux (mg EAG/g MS )	Flavonoïdes totaux (mg EQ/g MS)
Acetate	83,228±2,034	0,977±0,297
Methanol	49,637±6,014	0,259±0,022
Hexane	15,635±3,585	0,248±0,030

Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions ± SD.

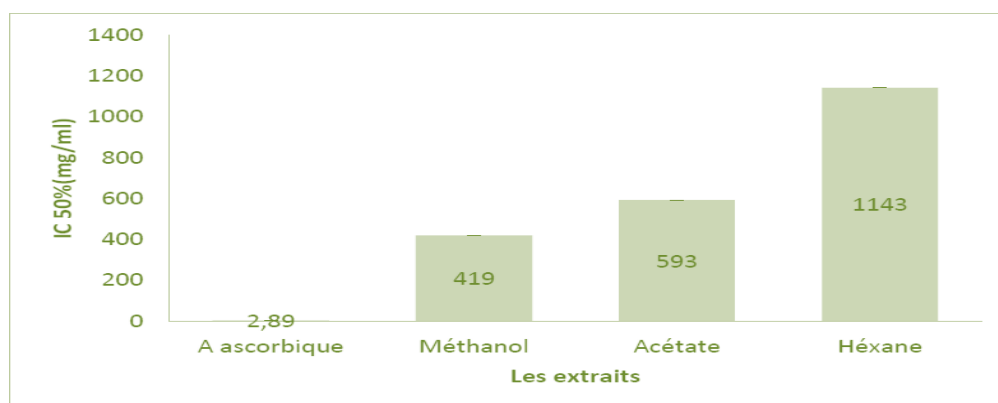
## Résultats et Discussions

Les résultats montrent que les teneurs en polyphénols varient considérablement entre les extraits; l'extrait d'acétate est la plus riche en polyphénols avec une concentration de 83,228 mg EAG/g MS, l'extrait de méthanol a montré une valeur inférieure à l'extrait précédent 49,637 mg EAG/g MS, et enfin l'extrait d'hexane avec 15,635mg EAG/g MS.

Dans le dosage des flavonoïdes, l'extrait d'acétate semble le plus riche en flavonoïdes avec une concentration de 0,977  $\mu\text{g EQ/mg MS}$ , suivi par l'extrait méthanolique 0,259  $\mu\text{g EQ/mg MS}$ , puis l'extrait d'hexane avec 0,248  $\mu\text{g EQ/mg E}$ .

### IV.4.3 Activité antioxydante des extraits de *Pinus sylvestris*

Les profils de l'activité anti radicalaire obtenus révèlent que les trois extraits étudiés possèdent une activité dose-dépendante et faible avec des valeurs très élevées des  $\text{IC}_{50}$ . La meilleure activité est observée pour l'extrait méthanolique avec une  $\text{IC}_{50}$  de 414  $\mu\text{g/ml} \pm 0.010$ , suivi par l'extrait d'acétate ( $\text{IC}_{50} = 593 \mu\text{g/ml} \pm 0.013$ ), et enfin l'extrait d'hexane ( $\text{IC}_{50} = 1143 \mu\text{g/ml} \pm 0.024$ ). Le standard utilisé (l'acide ascorbique) présente une activité antioxydante très élevée par rapport aux extraits avec une  $\text{IC}_{50}$  de 2,89  $\mu\text{g/ml} \pm 0.07$ . (Fig.24).



**Fig 24.** Activité anti radicalaire ( $\text{IC}_{50}$ ) des extraits de *Pinus sylvestris* et de l'acide ascorbique.

D'après ces résultats, on peut constater que l'activité scavenging du DPPH des extraits de la résine pourrait être attribuée à leurs teneurs élevées en composés phénoliques. Aussi, il a été liée directement à la structure des composés phénoliques et le nombre des groupes hydroxyles disponible (Villano *et al.*, 2007). La famille des flavonoïdes montre un potentiel redox élevé du à la présence du cycle B de type catéchol ou pyrogallol qui permet aux composés appartenant à ce groupe d'agir comme agents réducteurs puissants (Hayouni *et al.*, 2007), dont le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le  $\text{DPPH}^{\bullet}$ , qui se transforme en une molécule stable DPPH (Popovici *et al.*, 2009).



# Conclusion

## Conclusion

---

### Conclusion

L'objectif principal de ce mémoire, porte sur l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de différentes résines du Pin, *merkussi*, *oocarpa*, *insularise*, *nigra*, *halpensi* et *sylvestris*.

Le choix de ces végétaux s'est basé sur plusieurs critères à savoir, leur grande capacité de production de résine, la richesse en composants antioxydants, l'axée facile et l'abondance dans la nature et la disponibilité des informations.

La résine est le principal produit de ces espèces. Elle s'écoule d'abord fluide, puis se concrète en s'oxydant en masses solides cassantes et insolubles dans l'eau mais solubles dans l'alcool.

Cette étude a montré que:

La résine de différentes espèces étudiée représente une source naturelle d'antioxydant,

Les mesures de pouvoir antioxydant de l'extrait des résines ont révélé des activités antioxydantes élevées, due à la richesse en composés phénoliques et flavonoïdes qui minimise l'oxydation et la production des radicaux libres,

La richesse de l'extrait de la résine de *Pinus halepensis* en composés phénoliques et en groupement hydroxyles (OH) dans leurs structures chimiques pourrait être responsable de piégeage des radicaux libres,

La résine de *Pinus merkusii* a le potentiel anti-radicalaire le plus élevé par rapport aux autres espèces, *oocarpa*, *insularis*,

D'après les essais sur l'extrait de PNR, une activité antioxydant importante a été observée due à leur teneur élevée en polyphénols,

Les différents mécanismes antioxydants de PNR peuvent être attribués à la capacité de céder l'hydrogène, capacité de chélation du métal et joue le rôle d'un réducteur de peroxyde d'hydrogène, superoxyde et d'autre radicaux libres.

# **Références Bibliographiques**

# Références bibliographique

---

## Références bibliographique

### A

- Al-Gubory K.H. (2014). Environmental pollutants and lifestyle factors induce oxidative stress and poor prenatal development. *Reprod Biomed Online*. 29(1): 17-31.
- Alonso A. M., Guillen D. A. and Barroso, C.G. (2000). Development of a new method for determining the antioxidant power of the phenolic compounds present in wines Mise au point d'une nouvelle méthode de calcul du pouvoir antioxydant des composés phénoliques présents dans le vin. *Office international de la vigne et du vin*. 73:( 837-38): 794-808.
- AMARI Meryem & MECHOUCHE Katia, 2017. Contribution à l'étude des activités biologiques de la résine de *Pinus halepensis* Mill. mémoire de soutenance de master 2. en pharmacologie moléculaire. bejaia : Université A. MIRA - Bejaia, 71p.
- Ashor A.W., Siervo M. & Mathers J.C. (2016). Vitamin C, antioxidant status, and cardiovascular aging. In *molecular basis of nutrition and aging* (pp. 609-619). Academic Press.
- Awad M.A., Aldosari S.R. & Abid M.R. (2018). Genetic alterations in oxidant and anti-oxidant enzymes in the vascular system. *Front Cardiovasc Med*. 5: 107-115.

### B

- Balasundram, N., Uyttendaele M. and Debevere J. (2007). Antioxidant properties of palm fruits extracts. *Asia Pac J Clin Nutr*. 4(4): 319- 324
- Battelli M.G., Bortolotti M., Polito L. & Bolognesi A. (2018). The role of xanthine oxidoreductase and uric acid in metabolic syndrome. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 1864(8): 2557-2565.
- Barros, L.; Baptista, P.; Ferreira, I. C. F. R. Effect of *Lactarius piperatus* fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays. *Food Chem. Toxicol.*, 2007, 45(9), 1731-1737.
- Blumberg J., Bailey R., Sesso H. & Ulrich C. (2018). The evolving role of multivitamin/multimineral supplement use among adults in the age of personalized nutrition. *Nutrients*. 10(2): 248-261.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 28: 25-30.
- Benameur I et matoug N, 2018. Activité antioxydante d'une plante médicinale, memoir biochimie. Université Mohamed el-bachir el-ibrahimi, 40 pages.

### C

- Carocho M., Ferreira I. C., Morales P. & Soković M. (2018). Antioxidants and prooxidants: effects on health and aging. *Oxid Med Cell Longev*. 2018: 1472708.
- Cheng, Y.-S.; Chen, E. H. T.; Fang, G. J. M.; 1975, The Neutral Part of the Bark of *Pinus luchuensis* Mayer. *Journal of Chinese Chemical Society*: 22, p. 341-347.
- Conner, A. H.; Nagasampagi, B. A.; Rowe, J. W.; 1984, New Serratane triterpenes from Western White Pine Bark. *Tetrahedron*: 40 (21), p. 4217-4226.
- Cuendet M., H.K., Dyatmiko W. & Potterat O. (1997). Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagvaea blumei* Helvetica Chimica Acta, 80, 1144-1152.
- Cui, Y. Y.; Xie, H.; Qi, K. B.; He, Y. M.; Wang, J. F.; 2005b, Effects of *Pinus massoniana* Bark, Extract on Cell Proliferation and Apoptosis of Human Hepatoma BEL-7402.

## Références bibliographique

---

### D

- Di Meo S., Reed T.T., Venditti P. & Victor V.M. (2016). Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxid Med Cell Longev*. 2016: 1245049.
- Dias J.S. (2019). Nutritional Quality and Effect on Disease Prevention of Vegetables. In *Nutrition in Health and Disease*. IntechOpen.
- Duh, P.D.; Tu, Y. Y.; Yen, G. C. Antioxidant activity of aqueous extract of harnjyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lebensm*.

### E

- Eggersdorfer M. & Wyss A. (2018). Carotenoids in human nutrition and health. *Arch Biochem Biophys*. 652: 18-26.
- El-Demerdash F.M., Tousson E.M., Kurzepa J. & Habib S.L. (2018). Xenobiotics, oxidative stress, and antioxidants. *Oxid Med Cell Longev*. 2018: 9758951.
- Elmastase, M., Gulçin, I., Isildaka, O., Kufrevioglu, O.I., Ibaoglua, K. and Aboul-Eneinc H.Y. (2006). Radical Scavenging Activity and Antioxidant Capacity of Bay Leaf Extracts. *Journal of the Iranian Chemical Society*. 3:258-266.
- Ewald C.Y., Hourihan J.M., Bland M.S., Obieglo C., Katic I., Moronetti M.L.E., Alcedo J., Blackwell T.K. & Hynes N.E. (2017). NADPH oxidase-mediated redox signaling promotes oxidative stress resistance and longevity through memo-1 in *C. elegans*. *Elife*. 6:11-22.

### G

- Ganguli G., Mukherjee U. & Sonawane A. (2019). Peroxisomes and Oxidative stress: their implications in the modulation of cellular immunity during mycobacterial infection. *Front Microbiol*. 14(10): 1121-1131.
- Gavric J., Anđelković M., Tomović L., Prokić M., Despotović S., Radovanović T., Pavlović S. & Sačić Z. (2017). Oxidative stress biomarkers, cholinesterase activity and biotransformation enzymes in the liver of dice snake (*Natrix tessellata* Laurenti) during pre-hibernation and post-hibernation. *Ecotoxicol Environ Saf*. 138: 154-162.
- Germano, M.P.; Pasquale, D.E.R.; D'Angelo, V.; Catania, S.; Silvaria, V.; Costa, C. Evaluation of extracts and isolated fraction from *Capparis spinosa* L. Buds as an antioxidant source. *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, 50(5), 1168-1171.
- Glennon-Alty L., Hackett A.P., Chapman E.A. & Wright H.L. (2018). Neutrophils and redox stress in the pathogenesis of autoimmune disease. *Free Radic Biol Med*. 125: 25-35.
- Grassmann, J.; Hippeli, S.; Vollmann, R.; Wlštner, E. F.; 2003, Antioxidative Properties of the Essential Oil from *Pinus mugo*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: 51, p. 7576-7582. Hart, J. H.; 1981, Cells, *World Journal of Gastroenterology*: 11 (34), p. 5277-5282.
- Gulçin I., Alici H.A. and Cesur M. (2005). Determination of in vitro Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Propofol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 53 (3):281-285.

### H

- Hahn H.J., Kim K.B., An I.S., Ahn K.J. & Han H.J. (2017). Protective effects of rosmarinic acid against hydrogen peroxide-induced cellular senescence and the inflammatory response in normal human dermal fibroblasts. *Mol Med*

## Références bibliographique

---

Rep. 16(6): 9763-9769.

- Halliwell, B. The biological toxicity of free radicals and other reactive oxygen species. In: Aruoma, O.I., Halliwell, B. (Eds.), *Free Radicals and Food Additives*. Taylor and Francis, London, 1991, 41 pp.
- Hanbali L. B.; Haddad J. J. The antioxidant properties of red sour cherry (*Prunus cerasus* L) extracts: laboratory assessment of antioxidant activity and antioxidant compounds under temperature variations. *Curr. Nut. Food Sci.*, 2015, 11(1), 31-43.
- Hayouni E., Abedrabba M., Bouix M. & Hamdi M. (2007) .The effects of solvent and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quecuscofficifera* L. and *Juniperusphoenicea* L. fruit extracts; *Food Chem.* 105, 1126-1134.
- Hematyar N., Rustad T., Sampels S. & Kastrup D.T. (2019). Relationship between lipid and protein oxidation in fish. *Aquac. Res.* 50(5): 1393-1403.
- Herzog K., IJlst L., van Cruchten A.G., van Roermund C.W., Kulik W., Wanders R.J. & Waterham H. R. (2019). An UPLC-MS/MS assay to measure glutathione as marker for oxidative stress in cultured cells. *Metabolites.* 9(3): 45-55.
- Hsu, T. Y.; Sheu, S. C; Liaw, E. T.; Wang, T. C; Lin, C. C; 2005, Anti-oxidant Activity and Effect of *Pinus morrisonicola* Hay, on the Survival of Leukemia Cell Line U937. *Phytomedicine*: 12, p. 663-669.

### I

- Ighodaro O.M. & Akinloye O.A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Med J.* 54(4): 287-293.
- Ismail, Kilic. 2016. Spectrometric Studies on Antioxidant Activity of *Pinus Nigra* Resin *In Vitro* and Its Total Phenolic and Flavonoid Content. in *Current Pharmaceutical Analysis*, Vol. 12, No. 2. p146-151.

### J

- Jacus brosse, (2003). Larousse des arabes dictionnaire des arbres et des arbustes, Edition Rustica/FLER, N° de l'editeur ;48396N1 (F12062). Paris, 325p.
- Jia, Z.; Mengcheng, T.; Wu, J. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.*, 1999, 64(4), 555-559.
- Jung, M. J.; Chung, H. Y.; Choi, J. H.; Choi, J. S.; 2003, Antioxidant Principles from the Needles of Red Pine, *Pinus densiflora*. *Phytotherapy Research*: 17, p. 1064-1068

### K

- Ka, M. H.; Choi, E. H.; Chun, H. S.; Lee, K.-G.; 2005, Antioxidant Activity of Volatiles Extracts Isolated from *Angelica tenuissima* Roots, Peppermint Leaves, Pine Needles, and Sweet Flag Leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: 53, p. 4124-4129.
- Kadri, N., Khetta, B., Adjebli, A., Cresteil, T., Yahiaoui-Zaidi, R., Barragan-Montero, V. and Montero, J.L. (2014). Antiangiogenic activity of neutral lipids, glycolipids, and phospholipids fraction of *pinus halepensis* Mill. *Seeds. Industrial Crops and products.* 54: 6-12.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H. J., Rauha, J.P., Pihlaja, K. and Kujala, T.S. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 3954-3962.
- Kilic, I.; Ye\_ilolu Y. Spectroscopic studies on the antioxidant activity of p-coumaric acid. *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2013, 115, 719-724.

## Références bibliographique

---

- Kilic, I.; Ye\_ilolu Y.; Bayrak Y. Spectroscopic studies on the antioxidant activity of ellagic acid. *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2014, 130, 447-452.
- Klaunig J.E. & Wang Z. (2018). Oxidative stress in carcinogenesis. *Curr Opin Toxicol.* 7: 116-121.

### L

- LaFever, R. E.; Vogel, B. S.; Croteau, R.; 1994, Diterpenoid Resin Acid biosynthesis in Conifers: Enzymatic Cyclization of Geranylgeranyl Pyrophosphate to Abietadiene, the Precursor of Abietic Acid. *Archives of Biochemistry and Biophysics*: 313 (1), p.139-149.
- Liguori I., Russo G., Curcio F., Bulli G., Aran L. Della M. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging.* 13: 757-772.
- Liu, F.; Ooi, V. E. C.; Chang, S. T. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. *Life Science*, 1997, 60(10), 763-771.
- Liu Z., Ren Z., Zhang J., Chuang C.C., Kandaswamy E., Zhou T. & Zuo L. (2018). Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases. *Front Physiol.* 9: 477-480.
- Luciano G., Roscini V., Mattioli S., Ruggeri S., Gravador R.S., Natalello A., Lanza M., De A. A. & Priolo A. (2017). Vitamin E is the major contributor to the antioxidant capacity in lambs fed whole dried citrus pulp. *Animal.* 11: 411-417.

### M

- Magnani F. & Mattevi A. (2019). Structure and mechanisms of ROS generation by NADPH oxidases. *Curr Opin Struct Biol.* 59: 91-97.
- Maksimović, Z., Maleni, D. and Kovacević, N. (2005). Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bioresource Technology.* 96 (8): 873 -877
- Mardho Tillah<sup>1</sup>, Irmanida Batubara<sup>1,2</sup>, Rita Kartika Sari<sup>3</sup> 2017 Antimicrobial and Antioxidant Activities of Resins and Essential Oil From Pine (*Pinus merkusii*, *Pinus ocarpa*, *Pinus insularis*) and *Agathis (Agathis loranthifolia)* in : biosaintifika.1 avril 2017. v9i1.8371
- Matschke V., Theiss C., Matschke J. (2019). Oxidative stress: the lowest common denominator of multiple diseases. *Neural Regen Res.* 14 (2): 238-241.
- Minami, T.; Wada, S. L; Tokuda, H.; Tanabe, G.; Muraoka, O.; Tanaka, R.; 2002, Potential Antitumor-Promoting Diterpenes from the Cones of *Pinus luchuensis*. *Journal of Natural Products*: 65, p. 1921-1923
- Mazzetti A.P., Fiorile M.C., Primavera A. & Lo, B.M. (2015). Glutathione transferases and neurodegenerative diseases. *Neurochem Int.* 82: 10-18.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal. Science and Technology.* 26(2) : 211-219.
- Munoz M., Sanchez A., Pilar M.M., Benedito S., Lopez-Oliva M.E., Garcia-Sacristan A., Hernandez M. & Prieto D. (2015). COX-2 is involved in vascular oxidative stress and endothelial dysfunction of renal interlobar arteries from obese Zucker rats. *Free Radic Biol Med.* 84: 77-90.

### N

- Nemmar A., Yuvaraju P., Beegam S., Yasin J., Kazzam E.E. & Ali B.H. (2016). Oxidative stress, inflammation, and DNA damage in multiple organs of mice acutely exposed to amorphous silica nanoparticles. *Int J Nanomedicine.* 11: 919-928

## Références bibliographique

---

- Nicolussi A., D'inzeo S., Capalbo C., Giannini G. & Coppa A. (2017). The role of peroxiredoxins in cancer. *Mol Clin Oncol.* 6(2): 139-153.
- Niki E. (2018). Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress?. *Free Radic Biol Med.* 124: 564.
- Nimse S.B. & Pal D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Rsc Adv.* 5(35): 27986-28006
- Nuopponen, M.; Willför, S.; Jääskeläinen, A. S.; Sundberg, A.; Vuorinen, T.; 2004, AUV resonance Raman (UVR) spectroscopic study on the extractable compounds of Scots pine (*Pinus sylvestris*) wood Part I: Lipophilic compounds. *Spectrochimica Acta Part A:* 60, p. 2953-2961

### O

- Odabasoglu, F.; Aslan, A.; Cakir, A.; Suleyman, H.; Karagoz, Y.; Halici, M.; Bayir, Y. Comparison of antioxidant activity and phenolic content of three lichen species. *Phytother. Res.*, **2004**, 18(11), 938-941.
- Oyaizu, M. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activity of products of browning reaction. *Japanese J. Nutrition*, 1986, 44(6), 307-315.

### P

- Packer, L.; Rimbach, G.; Virgili, F.; 1999, Antioxidant Activity and biologic Properties of a Procyanidin-rich Extract from Pine (*Pinus maritima*) bark, *Pycnogenol. Free Radical Biology and Médecine:* 27, p. 704-724.
- Pacula A.J., Kaczor K.B., Wojtowicz A., Antosiewicz J., Janecka A., Dlugosz A., Janecki T. & Scianowski J. (2017). New glutathione peroxidase mimetics-Insights into antioxidant and cytotoxic activity. *Bioorg Med Chem.* 25: 126-131.
- Patterson J.C., Joughin B.A., van de Kooij B., Lim D.C., Lauffenburger D.A. & Yaffe M.B. (2019). ROS and oxidative stress are elevated in mitosis during asynchronous cell cycle progression and are exacerbated by mitotic arrest. *Cell Syst.* 8 (2):163-167.
- Peña-Bautista C., Baquero M., Vento M. & Chafer-Pericas C. (2019). Free radicals in Alzheimer's disease: Lipid peroxidation biomarkers. *Clin Chim Acta.* 491: 85-90
- Phillips, M. A.; Croteau R. B.; 1999, Resin-based defenses in conifers. *Trends in plant science, reviews:* 4 (5), p. 184-190.
- Popovici C., Ilonka S. & Bartek T. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, *Revue de Génie Industriel.* p27-28.

### R

- Rohdewald, P.; 2002, A review of the French maritime pine bark extract (Pycnogenol), herbal medication with a diverse clinical pharmacology. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics:* 40 (4), p. 158-168.
- Romani, A.; Ieri F.; Turchetti, B.; Mulinacci, N.; Vincieri, F. F.; Buzzini, P.; 2006, Analysis of condensed and hydrolysable tannins from commercial plant extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis:* 41, p. 415-420.
- Rosenfeld M.A., Vasilyeva A.D., Yurina L.V. & Bychkova A.V. (2018). Oxidation of proteins: is it a programmed process?. *Free Radic Res.* 52(1): 14-38.
- Rowe J. W.; 1989, Natural Products of Woody Plants vol. 1 et 2. Springer Verlag, Berlin, a) p. 371; b) 384; c) p. 513; d) p. 785.
- Ruch, R. J.; Cheng, S. J.; Klaunig, J. E. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from chinese green tea. *Carcinogenesis*, 1989, 10(6), 1003-1008.



## Références bibliographique

---

### S

- Smirnoff N. (2018). Ascorbic acid metabolism and functions: a comparison of plants and mammals. *Free Radic Biol Med.* 122: 116-129.
- Singh A., Kukreti R., Saso L. & Kukreti S. (2019). Oxidative stress: A key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecule.* 4(8): 1583.
- Stermitz, F. R.; Tawara, J. N.; Boecker, M.; Pomeroy, M.; Foderaro, T. A.; Todd F. G.; 1994, Piperidine Alkaloid content of *Picea* (Spruce) and *Pinus* (Pine). *Phytochemistry*:35 (4), p. 951-953
- Suga, T.; Ohta, S.; Munesada, K.; Ide, N.; Kurokawa, M.; Shimizu, M.; Ohta, E.; 1993, Endogenous Pine Wood Nematicidal substances in Pines, *Pinus Massoniana*, *P. strobus* and *P. Palustris*. *Phytochemistry*: 33 (6), p. 1395-1401.

### T

- Tallent, W. H.; Stromberg, V. L.; Horning, E. C; 1955, *Pinus* Alkaloids. The Alkaloids of *P. sabiniana* Dougl. And related Species. *Journal of American Chemical Society*: 11, p.6361-6364.
- Taso O.V., Philippou A., Moustogiannis A., Zevolis E. & Koutsilieris M. (2019). Lipid peroxidation products and their role in neurodegenerative diseases. *Ann Res Hosp* 3: 1-10.
- Tawara, J. N.; Blokhin, A.; Foderaro, T. A.; Stermitz, F. R.; 1993, Toxic Piperidine Alkaloids form Pine (*Pinus*) and Spruce (*Picea*) Trees. New Structures and abiosynthetic Hypotesis. *Journal of Organic Chemistry*: 58, p. 4813-4818.
- Tourino, S.; Selga, A.; Jiménez, A.; Juliá, L.; Lozano, C; Lizárraga, D.; Cascante, M.; Torres, J. L.; 2005, Procyanidin, Fractions form Pine (*Pinus pinaster*) Bark: Radical
- Tsai, Y. C., Wang, Y. H., & Liu, Y. C. (2017). Overexpression of PCNA Attenuates Oxidative Stress Caused Delay of Gap-Filling during Repair of UV-Induced DNA Damage. *J Nucleic Acids.* 2017: 8154646.
- Tu W., Wang H., Li S., Liu Q. & Sha H. (2019). The anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway in chronic diseases. *Aging Disease.* 10(3): 637-648

### U

- Ulrich K. & Jakob U. (2019). The role of thiols in antioxidant systems. *Free Radical Biology and Medicine.* *Free Radic Biol Med.* 15(18): 32542-32547.

### V

- Van Houten B., Santa-Gonzalez G.A. & Camargo M. (2018). DNA repair after oxidative stress: current challenges. *Curr Opin Toxicol.* 7: 9-16.
- Villano D., Fernandez-Pachon MS., Moya ML., Troncoso AM. & Garcia-Parrilla MC. ( 2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta.* 71, 230-235.
- Vuorela, S.; Kreander, K.; Karonen, M.; Nieminen, R.; Hämäläinen, M.; Galkin, A.; Laitinen, L.; Salminen, J. P.; Moilanen, E.; Pihlaja, K.; Vuorela, H.; Vuorela, P.; Heinonen, M.; 2005, Preclinical Evaluation of Rapeseed, Raspberry, and Pine Bark Phenolics for Health Related Effects. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*: 53, p. 5922-5931.

## Références bibliographique

---

### W

- Wada, S.-L.; Tanaka, R.; 2000, Four New Trisnorlanostane-Type Triterpenoids from the Stem Bark of *Pinus luchuensis*. *Journal of Natural Products*: 63, p. 1055-1057.
- Wada, S.-L.; Tanaka, R.; 2005, Synthetic lanostane-type triterpenoids as inhibitors of DNA topoisomerase II. *Bioorganic and Medicinal Chemical Letters*: 15, p. 2966-2969.
- Wallin, B.; Rosengren, B.; Shertzer H. G.; Camejo, G.; Astra Hassle, A.B. Lipoprotein oxidation and measurement of thiobarbituric acid reacting substances formation in a single microtiter plate: its use for evaluation of antioxidants. *Analytical Biochem.*, 1993, 208(1), 10-15.
- Wang J.; Yuan X.; Jin Z.; Tian Y.; Song H. Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract. *Food Chem.*, 2007, 104(1), 242-250.
- Willfor S. M.; Ahotupa, M. O.; Hemming, J. E.; Reunanen, M. H. T.; Eklund, P. C; Sjöholm, R. E.; Eckerman, C. S. E.; Pohjamo, S. P.; Holmbom, B. R.; 2003a, Antioxidant activity of Knotwood Extractives and Phenolic Compounds of Selected Tree Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: 51, p. 7600-7606.
- Willfor, S.; Hemming, J.; Reunanen, M.; Holmbom, B.; 2003b, Phenolic and Lipophilic Extractives in Scots Pine Knots and Stemwood. *Holzforschung*: 57, p. 359-372.
- Wissensch. Technol., 1999, 32(5), 269-277.

### X

- Xiong Y., Xiong Y., Zhou, S., Sun Y., Zhao Y., Ren X., Zhang Y. & Zhang N. (2017). Vitamin C and Ee supplements enhance the antioxidant capacity of erythrocytes obtained from aged Rats Rejuvenation Res. 20: 85-92
- Xu D.P., Li Y., Meng X., Zhou T., Zhou Y., Zheng J., Zhang J.J. & Li H.B. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: extraction, assessment and resources. *Int J Mol Sci.* 18(1): 96-107.

### Y

- Yesiloglu, Y.; Aydın H.; Kılıç I. (2013). *In vitro* antioxidant activity of various extracts of ginger (*Zingiber officinale* L.) seed. *As. J.Chem.*, 2013, 25(7), 3573-3578.
- Younus H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *Int J Health Sci.* 12(3): 88.
- Yu, E. J.; Kim, T. H.; Kim, K. H.; Lee, H. J.; 2004, Aroma-active compounds of *Pinus densiflora* (red pinel needles. *Flavour and Fragrance Journal*: 19, p. 532-537.
- Yue Z., Zhang X., Yu Q., Liu L. & Zhou X. (2018). Cytochrome P450-dependent reactive oxygen species (ROS) production contributes to Mn3O4 nanoparticle-caused liver injury. *RSC Adv.* 8(65): 37307-37314.

### Z

- Zhao R.Z., Jiang S., Zhang L. & Yu Z.B. (2019). Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling. *Int J Mol Med.* 44(1): 3-15.
- Zielinski Z.A. & Pratt D.A. (2017). Lipid peroxidation: Kinetics, mechanisms, and products. *J Org Chem.* 82(6): 2817-2825.
- Zinkel, D. F.; Russel, J.; 1989, Naval Stores: Production, Chemistry, Utilization. Pulp Chemicals Association, New-York, a) p. 227-229; b) p. 262-270.
- Zinkel, D. F.; Evans, B. B.; 1972, Terpenoids of *Pinus Strobus* Cortex Tissue. *Phytochemistry*: 11, p. 3387-3389.

## Références bibliographique

---

- Zinkel, D. F.; Clarke, W. B.; 1985, Resin Acids of *Pinus resinosa* needles. *Phytochemistry*:24(6),p.1267-1271.
- Zinkel, D. F.; Magee, T. V.; 1987, Diterpene resin acids from the needle oleoresin of *Pinus strobus*. *Phytochemistry*: 26 (3), p. 169-11 A.
- Zuluaga M., Gueguen V., Pavon-Djavid G. & Letourneur D. (2017). Carotenoids from microalgae to block oxidative stress. *Bioimpacts*. 7: 1-3.

### *Références électronique :*

- Elisabeth Motte-Florac (2000) Les utilisations médicinales de la résine de Pin dans le centre du Mexique: la disparition d'un savoir, *Acta Botanica Gallica*, 147:3, 303-304, DOI:10.1080/12538078.2000.10515858
- Jean-Louis Hélardot. in Jean-Louis Hélardot (en ligne). (consulte le 26 mai 2021). Disponible à l'adresse: [http://jeanlouis.helardot.free.fr/page\\_pins/generalites.htm](http://jeanlouis.helardot.free.fr/page_pins/generalites.htm).
- Invasive Species Compendium CABI ( en ligne ) <https://www.cabi.org/isc/about>
- SURVIE BORÉALE ( en ligne ) <http://survieboreale.com/wp/>
- Plantes botanique ( consulte le 26 mai 2021 ) ( en ligne ) <https://www.plantes-botanique.org/bibliographie>
- Pins de france, Paul LESBATS, la société LESBATS SCIERIES D'AQUITAINE ( consulte le 26 mai 2021 ) ( en ligne ) <http://www.pinsdefrance.com/l-a pep/presentation/>

# Résumé

## Résumé

Plusieurs études sont faites dans la recherche de nouveaux antioxydants dans le but de lutter contre le stress oxydatif, Vu les différentes maladies qui sont induites par les oxydants. La famille des résineux représente une source riche en antioxydants, cela explique leur utilisation vaste en phytochimie. Ce travail a l'objectif d'évaluer l'activité antioxydante de résine de différentes espèces de pin et consiste à déterminer leurs teneurs biochimique en polyphénols et flavonoïdes et leur activité antioxydante avec plusieurs testes, dans le but de savoir leurs potentiel biologique, spécialement, l'activité antioxydante qui se diffère d'une espèce a une autres, selon la composition chimique de chaque résine dont leur concentration plus elle est élevé plus elle a un haut potentiel de piégeage d'oxydant dans le corps. Chaque extrait résinique est caractérisé par son pouvoir antioxydant.

**Les mots clé:** résine, pin, activité antioxydante, stress oxydatif, polyphénols.

## الملخص

يتم إجراء العديد من الدراسات في البحث عن مضادات أكسدة جديدة من أجل مكافحة الإجهاد التأكسدي ، بالنظر إلى الأمراض المختلفة التي تسببها المواد المؤكسدة. تمثل عائلة الصنوبر مصدرًا غنيًا لمضادات الأكسدة ، وهو ما يفسر استخدامها على نطاق واسع في الكيمياء النباتية. يهدف هذا العمل إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة لراتنج الأنواع المختلفة من الصنوبر ويشمل تحديد محتوياتها الكيميائية الحيوية من البوليفينول والفلافونويد ونشاطها المضاد للأكسدة بواسطة عدة اختبارات ، من أجل معرفة إمكاناتها البيولوجية ، وخاصة نشاط مضادات الأكسدة التي يختلف من نوع إلى آخر ، اعتمادًا على التركيب الكيميائي لكل مادة صمغية حيث كلما كان تركيزها أعلى ، كلما زادت قدرتها المضادة للأكسدة في الجسم. يتميز كل مستخلص من الراتنج بقوة المضادة للأكسدة.

**الكلمات المفتاحية:** الراتنج ، الصنوبر ، النشاط المضاد للأكسدة ، الإجهاد التأكسدي ، البوليفينول.

## Abstract

Several studies are being made in the search for new antioxidants in order to fight against oxidative stress, given the various diseases which are induced by oxidants. The conifer family represents a rich source of antioxidants, which explains their wide use in phytochemistry. This work has the objective of evaluating the antioxidant activity of resin of different species of pine and consists in determining their biochemical contents of polyphenols and flavonoids and their antioxidant activity with several tests, in order to know their biological potential, especially, the antioxidant activity which differs from one species to another, depending on the chemical composition of each resin whose concentration the higher it is, the more it has a high potential for trapping oxidant in the body. Each resin extract is characterized by its antioxidant power.

**The key words:** resin, pine, antioxidant activity, oxidative stress, polyphenols.