



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
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 Mohammed El Bachir El Ibrahim 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

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie

Intitulé :

Etude phytochimique et évaluation des activités
biologiques de la résine du genre *Pinus sp.*

Présenté par :

ARABA Manel & BOUKHALFA Hadjer & LAIB Dounia

Soutenu le : 25 / 06 / 2023, Devant le Jury :

	Nom & Prénom	Grade	Affiliation / institution
Président :	M ZIAD Abdelaaziz.	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrant :	M ^m e NASRI Meriem.	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
Examineur :	M ^m e BENOUADAH Zohra.	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2022/2023

Remerciement

Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force, la volonté et la patience qui nous aidé à élaborer cet humble travail.

Nous tenons à exprimer notre gratitude aux membres du jury, à Mr. ZIAD Abdelaaziz, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance. Et à Mme BENOUADAH Zohra, d'avoir accepté de faire partie du jury en examinant notre travail.

Nous sincères remerciement s'adressent à Mme NASRI Meriem, qui nous donné sa confiance et l'occasion de travailler sur ce sujet, aussi pour son encadrement, ses conseils et son soutien constant tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous remercions infiniment Mr Makhokhe Nasr El Dine chef des laboratoires de Faculté des sciences et de la nature et de la vie, qui nous a permis de réaliser ce travail au niveau du laboratoire de Biochimie à l'université Mohammed El Bachir El Ibrahim.

Nos vifs remerciement s'adressent à toute l'équipe des laboratoires de Biochimie et Microbiologie, particulièrement Mme Ben yahia. F et Mr Ben arioua. A pour leurs conseils et pour l'assistance technique continue pour nos manipulations au laboratoire.

Merci à tous nos enseignants

et

Merci à tous ceux qui nous ont aidés.



Dédicace



Je dédie cet événement marquant de ma vie :

*A mon idole, la personne la plus précieuse dans ce monde pour moi, ma chère maman " **Mahtal Hada** " qui a toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait, qui m'a soutenu et encouragé tout au long de mon parcours, qui a éclairci mon chemin et qui a fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Merci pour tous les sacrifices dont tu as fait preuve à mon égard, patience et soucie de tendresse et d'affection, sans toi ma réussite n'aura pas eu lieu, je consacrerai le reste de mon existence à faire de mon mieux pour te rendre la plus heureuse de toutes les créatures. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçois ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.*

*A l'homme qu'autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soient-elles ne sauraient exprimer ma gratitude suffisamment car tout simplement tu es unique, mon merveilleux cher père « **Boukhalfa Djamai** », tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que tu n'as cessé de formuler dans tes prières. Que Dieu te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.*

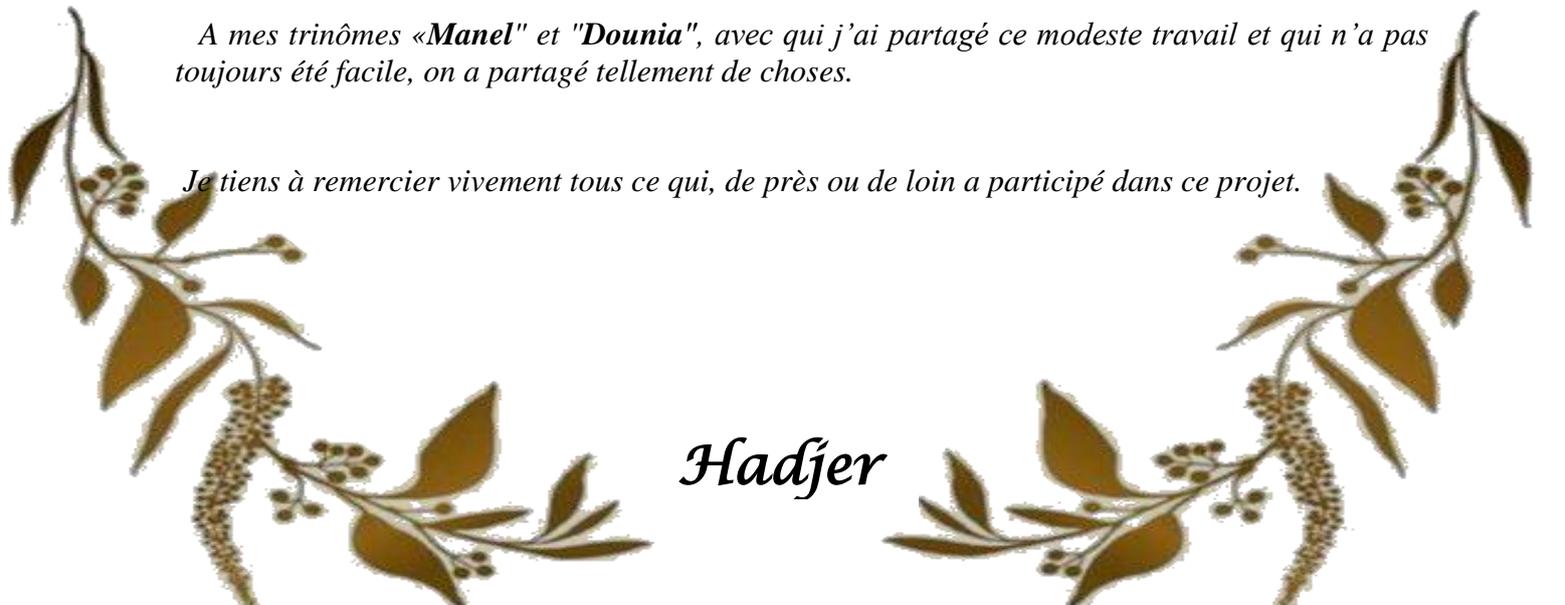
*A mon frère, « **Mohamed** » qui m'a toujours donné la force de continuer. Je vous confirme mon attachement et mon amour, puisse dieu vous protéger et vous garder pour moi.*

*A mon mari "**khayreddine khainouche**" qui a beaucoup de valeur à mes yeux.*

*A mes chers amis **Manel, Dounia, Nesrine, Ismahane**... qui ont toujours été là pour moi et sur tout m'entouré avec leur chaleureuse énergie. Je vous souhaite plus de succès.*

*A mes trinômes «**Manel**" et "**Dounia**", avec qui j'ai partagé ce modeste travail et qui n'a pas toujours été facile, on a partagé tellement de choses.*

Je tiens à remercier vivement tous ce qui, de près ou de loin a participé dans ce projet.



Hadjer



Dédicace



Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui sont chères :

A

Ma chère mère tu es toujours être à nos côtés pour m'accompagner et me motiver tout au long de mon parcours scolaire.

A

Mon agréable père qui s'est tant sacrifié pour moi, qui s'est toujours donné du mal pour assurer mon bien être. J'espère que je suis à la hauteur de qu'il attend de moi.

A

Mes chers frères Salim et Saïd et mes sœurs Adila et Samia, qui ont partagés avec moi tous les moments d'émotion et qui ont supporté et encouragé lors de la réalisation de mon mémoire.

A

Mes petites nièces : Layane, Rodaina et Aya, Yakhine, Omaïma.

Mes neveux : Yakhoub, Tamim, Yehya.

A

Mes trinômes Hadjer et Manel, merci énormément pour leur soutien moral, patience et compréhension tout au long de ce projet.

A

Mes chères copines : Ikram, Amina, Isra, Besma.

A

Toutes mes amies et toutes les personnes qui me sont chères.

A

Tous ceux et celles qui m'ont aidé de près ou de loin et dont j'ai Omis de citer leur nom, mes sincères remerciements.



Dounia



Dédicace



Je dédie cet humble travail avec grande sincérité et fierté à :

*Mon cher père "Djamel", qui a été mon ombre durant toutes les années
des études, qui a veillé à me donner l'aide, l'encouragement, et me
Protéger, que Dieu le garde et le protège.*

*Ma très chère mère "Khalida" qui a lutté pour me rendre heureuse, et
m'efforce de réaliser mes rêves*

A mes grands-parents paternels "Saleh" et "Haoua "

Que je les souhaite une bonne santé.

A mes grands-parents maternels ... que vous reposiez dans le paradis.

A mes frères : "Sofiane, Mohamed, Fares, Yahya".

*A mes sœurs : "Ichrak, Meriem, Soundos et Zahra et à mes neveux
Salsabil et Amir"*

Pour ses soutiens moral et leurs conseils tout au long de mes études.

A tous les membres de ma famille grands et petits.

*A mes très chères trinômes "Hadjer" et "Dounia" pour leur patience et
Leur continuité malgré les obstacles.*

Merci du fond du cœur pour votre don constant...



Manel

Liste des figures

Figure 1. Photographie de <i>Pinus halepensis</i>	06
Figure 2. Arbre de <i>Pinus halepensis</i>	06
Figure 3. Transformation de la résine en poudre.....	08
Figure 4. Poudre de la résine récupérée.....	08
Figure 5. Protocole d'extraction de l'extrait méthanolique.....	09
Figure 6. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	13
Figure 7. Protocole d'extraction d'ovalbumine.....	15
Figure 8. Protocole d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine.....	16
Figure 9. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	19
Figure 10. Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	21
Figure 11. Taux d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine à différentes concentrations de l'extrait méthanolique de la résine de <i>Pinus halepensis</i> et Diclofénac.....	25

Liste des tableaux

Tableau I. Systématique de <i>Pinus halepensis</i>	07
Tableau II. La teneur en composés phénoliques de l'extrait méthanolique	19
Tableau III. Activité anti radicalaire de l'extrait méthanolique de la résine de <i>Pinus halepensis</i> et de la Quercétine.....	22

Liste des abréviations

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien.

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

ANOVA : Analyse de la variance.

BBA : Bordj Bou Arreridj.

DPPH: 2, 2- diphényle-1-picrylhydrazyl.

EAG: Equivalant acide gallique.

HPLC: High performance liquid chromatography.

EQ : Equivalant Quercétine.

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%.

IL-1 : Interleukine-1.

IL-2 : Interleukine-2.

IL-6 : Interleukine-6.

IL-8 : Interleukine-8.

NOS : L'oxyde nitrique synthase.

P.halepensis : *Pinus halepensis*.

PAF: Platelet Activating Factor.

PPT: Polyphénols totaux.

ROS: Reactive oxygen species.

Rpm: rotation par minute.

TNF α : Facteur de nécrose tumorale Alfa.

XO : Xanthine oxydase.

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	01
Chapitre I	06
I.1.1. Matériel	06
I.1.1. Matériel végétal.....	06
I.1.2. Taxonomie et systématique.....	07
I.1.3. Description de la résine.....	07
I.2. Méthodes	07
I.2.1. Séchage de la résine.....	07
I.2.2. Broyage	07
I.2.3. Tamisage	08
I.2.4. Préparation de l'extrait.....	08
I.2.5. Calcul du rendement d'extraction	10
I.3. Evaluation des taux des composés phénoliques	10
I.3.1. Dosage des polyphénols totaux	10
I.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux	11
I.4. Etude in vitro de l'activité antioxydante de l'extrait de la résine de <i>Pinus halepensis</i>	12
I.4.1. Effet scavenger du radical DPPH.....	12
I.5. Evaluation in vitro de l'activité anti-inflammatoire	14
I.5.1. Inhibition de la dénaturation protéique (ovalbumine)	14
I.6. Analyse statistique	17

Chapitre II	18
II. Résultats et discussion	18
II.1. Rendement d'extraction.....	18
II.2. Dosage des composés phénoliques de la résine de <i>Pinus halepensis</i>	19
II.3. Dosage des flavonoïdes de la résine.....	21
II.4. Résultats de l'activité antioxydante	22
II.4.1. Test de DPPH	22
II.5. Résultat de l'activité inhibitrice de la dénaturation de l'ovalbumine de la résine de Pin d'Alep.....	24
Conclusion et perspectives	27
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Introduction

Durant des siècles et même des millénaires, nos ancêtres ont utilisé les plantes pour soulager leurs douleurs, guérir leurs maux et panser leurs blessures. De génération en génération, ils ont transmis leur savoir et leurs expériences simples. Actuellement, malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement, en absence d'un système médical moderne (**Benkhniqne *et al.*, 2010**). Ainsi, la demande de remèdes issus de sources naturelles pour remplacer les médicaments thérapeutiques synthétiques et minimiser leurs effets secondaires et leur toxicité (**El Khasmi et Farh, 2022**).

La progression de l'agronomie, la chimie et la pharmacologie ont permis de mettre au point de formes thérapeutiques et galéniques plus sûres, plus adaptées et plus efficaces par son action en douceur et en profondeur. La phytothérapie apparait comme la réponse idéale aux maladies du siècle qui caractérisent nos sociétés, comme le stress, la perte du sommeil ou la prise de poids (**Charbier, 2010**).

Le médicament à base des plantes est un complexe de molécules, issu d'une ou plusieurs espèces végétales (**Charbier, 2010**). Ces plantes (environ 35 000 espèces), (**Sivaraj *et al.*, 2011**) représentent un vaste réservoir de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires avec l'avantage d'une grande diversité. Les métabolites secondaires ont une très large gamme de structures chimiques et d'activités biologiques (**Himour *et al.*, 2016**), pour cela les industries pharmaceutiques sont de plus en plus intéressées par l'étude ethnobotanique des plantes. (**Tahri *et al.*, 2012**).

Le genre *Pinus* comprend environ 250 espèces (**El Omari *et al.*, 2021**). Ces espèces forestières sont désignées pour la production du bois. Elles peuvent aussi donner d'autres produits forestiers autres que le bois, comme la résine, qui est considérée comme la plus ancienne et la plus répondue d'importation de produits forestiers non ligneux (**Ghanmi *et al.*, 2007**).

Pinus halepensis Mill est une espèce qui appartient à la sous-famille des Pinoideae (**El Omari *et al.*, 2021**), connu sous les noms pin d'Alep, pin de Jérusalem, pin blanc (France), Sanawber el Halabi (pays arabes), Aleppo pine (Angleterre) (**Guit, 2015**). Cette espèce est thermophile méditerranéenne (**Rigolot, 2004**) forestières rustique résineuse

(Sghaier et Ammari, 2012), elle se localise dans la majorité des variantes bioclimatiques de l'Algérie (Kadik, 1987).

Cette espèce est un arbre vivace à feuilles persistantes atteignant 20 mètres d'hauteur. Il a un tronc recouvert d'une épaisse écorce fissurée. Son écorce grise argentée et lisse qui devient de couleur brune rougeâtre avec l'âge (Nahal, 1962), avec une durée de vie moyenne de 150 à 250 ans (Lakreb, 2022).

Des études ethnobotaniques menées dans différents pays (Maroc, Algérie, Espagne et Italie) ont rapporté plusieurs usages médicaux de *P.halepensis* Mill depuis l'antiquité (El Omari *et al.*, 2021).

Le pin est utilisé dans le domaine cosmétique grâce à sa richesse en acide gras, vitamine E, polyphénols et antioxydants naturels (Lhkellal, 2021).

Différentes parties du *P.halepensis* peuvent être utilisées pour les plaies, l'inflammation, les problèmes urinaires, les ulcères d'estomac, les ulcères intestinaux, les infections de la prostate, l'infertilité, les hémorroïdes,... etc. Il est également utilisé comme conservateur et stimulant surrénalien, mais la sécrétion résineuse la plus couramment utilisée, et associée à des problèmes respiratoires (inflammation bronchique, pneumonie, infections respiratoires et rhumes) (El Omari *et al.*, 2021).

La résine produite est liposoluble constituée de composés phénoliques et terpéniques dérivés de structure végétales spécialisées de la plante (Langenhein, 2003). Ainsi que la gomme est un mélange de complexes composées de 18% d'essences de térébenthines et de 69% de brais de colophanes et de 13% d'eau et impuretés (Bussy, 1971).

Cette résine est d'abord synthétisée par les arbres après l'attaque des herbivores ou des micro-organismes comme système de défense (Ghanmi *et al.*, 2007). La résine s'écoule d'abord sous forme liquide puis se solidifie par oxydation en une masse solide friable translucide jaunâtre insoluble dans l'eau mais soluble dans l'alcool, fusible mais non volatile (Modugno *et al.*, 2006).

D'une part la résine de pin est considérée comme un produit relativement important en raison de sa capacité à piéger les radicaux libres (Haichour, 2021).

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la production de ROS et la capacité antioxydante cellulaire, soit en augmentant la production de ROS et/ou en diminuant les défenses antioxydants (**Migdal et serres, 2011**). Ces radicaux sont par définition des espèces chimiques à électron sur leur couche périphérique, ce qui leur confère une grande réactivité (**Migdal et Serres, 2011**). Parfois, ces espèces proviennent de sources exogènes telles que la pollution, les radiations, les rayons ionisants et les médicaments (**Bouyahya et al., 2018**), ou des sources endogènes des radicaux libres comprennent la chaîne respiratoire mitochondriale, les réactions immunitaires, des enzymes telles que la xanthine oxydase (XO) et l'oxyde nitrique synthase (NOS), et l'oxydation médiée par les métaux de transition (**Lykkesfeldt ,2007**).

Un antioxydant est une molécule capable d'inhiber, de retarder ou de prévenir l'oxydation d'autres molécules, qui se produit à partir de la forme réactive de l'oxygène ou sous l'influence de l'oxygène atmosphérique (**Pisoschi et Negulescu, 2011**).

Les antioxydants peuvent également protéger le corps humain contre les radicaux libres et les effets des ROS. Ces antioxydants peuvent être de deux types différents : des antioxydants enzymatiques et des antioxydants non enzymatiques (**Hermés-Lima, 2005**) qui renferment des substances endogènes (**Pandey et Rizvi, 2011**).

D'autre part, la production non contrôlée des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote provoquent ou maintiennent les processus inflammatoires (**Kada, 2018**).

L'inflammation est une réaction défensive de l'organisme contre les agents pathogènes ou les irritants (**Schwager et Detmer,2019**),soit endogène(les cellules endommagées , réponse immunitaire ,les maladies auto-immunes, endotoxines bactériennes,...etc.), soit exogènes comme les facteurs physiques (les brûlures , les engelures, les radiations,...etc.) ,des facteurs chimiques (les produits cosmétiques), des facteurs microbiens exotoxines de bactéries, virus.(**Barton,2008**).

L'inflammation peut être localisée ou systémique (**Barton, 2008**). Elle existe sous forme de deux stades : l'inflammation aiguë et chronique (**Abdulkaleq et al., 2018**). Elle est généralement distinguée par 4 signes cliniques cardinaux qui sont la rougeur, la chaleur, l'œdème et la douleur (**Carine ,2006**).

Elle commence par une réaction de reconnaissance faisant intervenir certaines cellules de l'organisme (monocytes, macrophages, lymphocytes) (**Okoli et Akah, 2004**). Cette reconnaissance déclenche une cascade qui conduit à une défense localisée et la phagocytose des micro-organismes.

Ces réactions sont associées à une production précoce de différents médiateurs inflammatoires qui déclenchent le processus inflammatoire (**Zeghal et Sahnoun, 2013**).

Ces médiateurs sont: les amines vaso-actifs (sérotonine et histamine), les cytokines (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF α), les kinines plasmatiques, système de complément, les médiateurs lipidiques (les prostanoides, leucotriènes et le PAF résultent de la transformation enzymatique de l'acide arachidonique) (**Millet, 2014 et Henrotin et al., 2001**).

La réponse inflammatoire s'accompagne d'une traduction biologique. Certaines molécules plasmatiques connaissent une augmentation de leurs taux plasmatiques d'au moins 25% par rapport à leur taux normaux, ce sont les protéines de la phase aiguë de l'inflammation (**Betina-Benchair, 2014**). Ces protéines sont : la protéine-c-réactif (CRP) qui est un marqueur précoce de la réaction inflammatoire, il agit en mobilisant les défenses immunitaires de l'organisme par l'activation de la voie du complément (**Ghedadba, 2018**)., le fibrinogène (facteur1), qui joue un rôle important dans la formation des caillots (**Betina-Benchair, 2014**), aussi elle se présente l'Haptoglobine qui permet de mesurer avec précision une réaction inflammatoire modérée (**Humblet et Godeau, 2005**).

Cependant, lorsqu'une inflammation n'est pas contrôlée elle peut causer une destruction des tissus ainsi qu'une série de réaction parmi la quelle la douleur (**Gaziano et Gibson, 2006**).

Le traitement le plus employé est des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens et les glucocorticoïdes. Ces molécules bien qu'étant efficaces, présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long cours (**Gaziano et Gibson, 2006**).

Plusieurs études indiquent que les métabolites secondaires des espèces du genre *Pinus sp* présentent diverses activités biologiques. Concernant les graines qui présentent des activités antioxydantes et anti-inflammatoires, sont en général riches en polyphénols et en

flavonoïdes .Les extraits des aiguilles, notamment les huiles essentielles, ont montrés une activité antibactérienne, anti-inflammatoire, et anti-cancéreuse. Ainsi l'écorce possède une activité anti-inflammatoire et antioxydante (**Cheikh-Rouhou *et al.*, 2008**).

Les propriétés thérapeutiques intéressantes de la résine de pin, nous ont amenés à tester des effets biologiques de la résine du pin.

L'objectif de ce travail est l'étude phytochimique de la résine de *Pinus halepensis* recueillie dans la région de BBA (Nord-est de l'Algérie) pour savoir quelques informations concernant ses constituants et ses activités biologiques.

Cette étude est subdivisée en deux parties essentielles :

La première présente une introduction qui est d'une synthèse bibliographique de l'espèce de *Pinus halepensis* Mill, le stress oxydatif et les antioxydants, l'inflammation et les anti-inflammatoires.

La deuxième partie expérimentale répartie en deux chapitres dans ce mémoire, le premier chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisées lors du travail expérimental :

- Préparation d'un extrait méthanolique de la résine de *Pinus halepensis*.
- Un criblage phytochimique a été initié par détermination des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes.
- Déterminer le pouvoir antioxydant par un test préliminaire concernant l'activité antioxydante de la résine *in vitro* par l'évaluation de l'effet scavenging du radical DPPH.
- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* en utilisant le test de l'inhibition de la dénaturation protéique.

Le deuxième chapitre décrit les résultats obtenus ainsi que leur discussion. Ce travail se termine par une conclusion générale dans laquelle les perspectives de recherche sont évoquées, en se basant sur nos résultats obtenus.

Matériel

Et

Méthodes

I. Matériel et Méthodes

I. Matériel et Méthodes

I.1. Matériel :

I.1.1. Matériel végétal :

Cette étude a été réalisée sur la résine de *Pinus halepensis* Mill (Pin d'Alep), connue localement sous le nom « Elk el Snober » a été récoltée de manière traditionnelle (manuelle) à l'aide d'un couteau (**Figure 01**).



a- Tronc d'arbre de *Pinus halepensis*

b- Les pierres de la résine

c- La résine dans le tronc d'arbre

Figure 01 : Photographie de *Pinus halepensis*.

Au cours de la récolte, la résine est mise dans des sachets en papier, la récolte a été faite directement à partir des troncs d'arbre des Pins dans la « forêt de Boumerged » (BBA) au Nord-Est d'Algérie (**Figure 02**) durant le mois de Mars 2023.



Figure 02 : Arbre de *Pinus halepensis*.

I. Matériel et Méthodes

I.1.2. Taxonomie et systématique :

La première classification du Pin d'Alep est celle de Miller, établie en 1769, reprise par **Ozenda (2006) (tableau I) :**

Tableau I : Systématique de *Pinus halepensis*.

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphyte
Sous-embranchement	Gymnosperme
Classe	Coniférophyte
Ordre	Coniférale, Pinoidine, Pinale
Famille	Pinaceae (Abietaceae)
Genre	<i>Pinus</i>
Espèce	<i>Pinus halepensis</i> Mill

I.1.3. Description de la résine:

- Une substance conglomérat pâteuse sous forme de pierres.
- Couleur marron jaunâtre.
- Goût amère.
- Odeur forte et pénétrante.

I.2. Méthodes :

I.2.1. Séchage de la résine :

La résine de Pin (31g) est d'abord séchée à l'air libre pendant quelques jours, puis on a reséchée cette résine dans une étuve à température de 35°C pendant 24h pour assurer l'élimination complète d'eau dans l'échantillon.

I.2.2. Broyage :

Les petites pierres de la résine (**Figure 3**) ont été broyées manuellement à l'aide d'un mortier puis à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine.

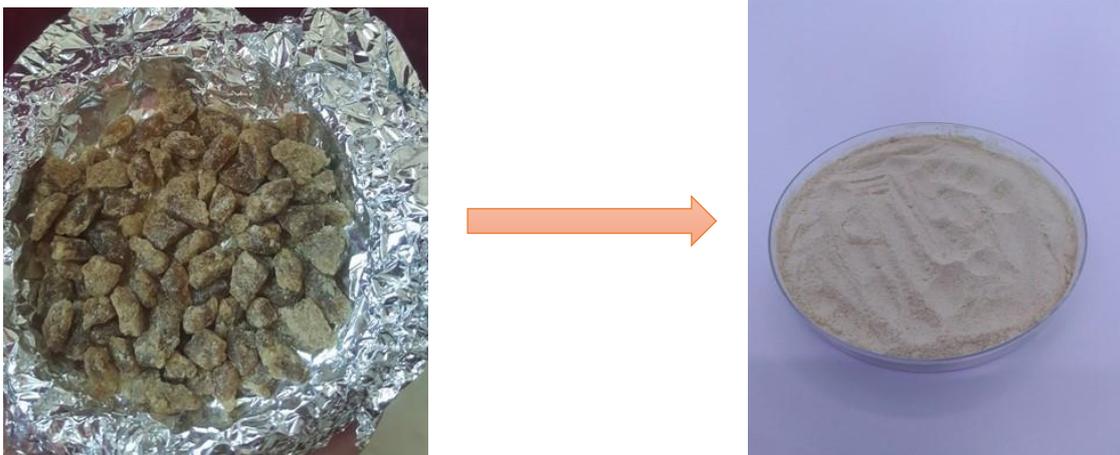


Figure 03 : La transformation des pierres de la résine en poudre.

I.2.3. Tamisage :

Le broyat de la résine a été tamisé à travers un tamis de 0, 200 mm de diamètre afin de récupérer une poudre très fine (**Figure 04**).



Figure 04 : La poudre de la résine récupérée.

I.2.4. Préparation de l'extrait :

Une macération méthanolique a été effectuée sur 10 g de la poudre de la résine avec 250 ml de méthanol pendant 24h sous agitation magnétique douce d'une vitesse de 300 Rpm (**Sanogo et al., 2006**).

L'extrait obtenue a été respectivement filtré à travers un tissu mousseline et de papier Whatman N°1.

Après filtration, l'extrait a été séché pendant 48 h dans une étuve à 40°C, jusqu'à l'évaporation totale du méthanol (**Figure 05**), pour obtenir un extrait sec de couleur brune un peu brillant, conservée soigneusement à 4°C jusqu'à son utilisation.

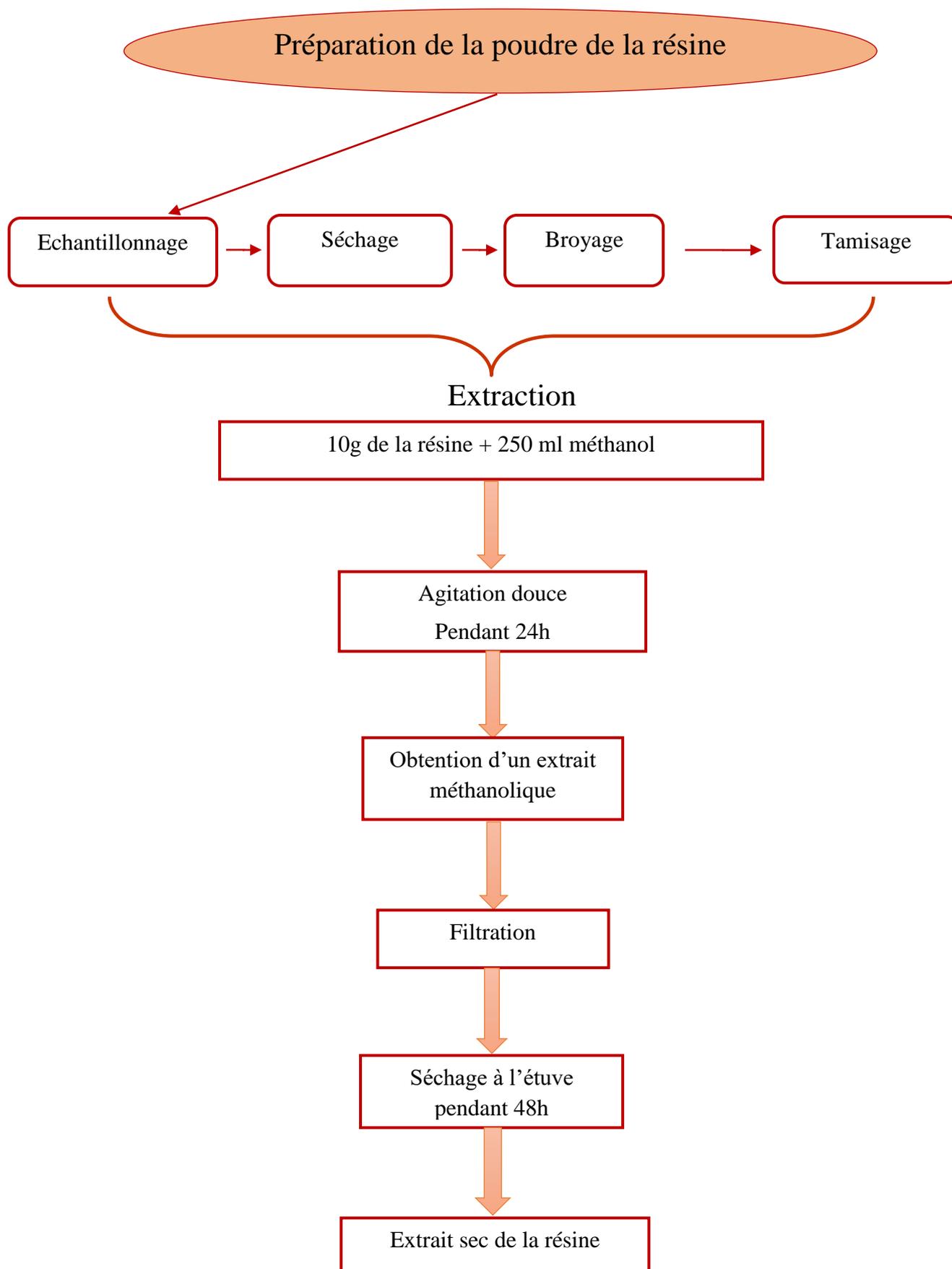


Figure 05 : Protocole d'extraction de l'extrait méthanolique.

I.2.5. Calcule du rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu après l'évaporation du solvant et la masse de la poudre végétale utilisée.

Après la récupération de résidu précipité au fonds des boites de pétri.

En peser l'extrait sec obtenu, puis le rendement est calculé comme suit :

$$R (\%) = Mm/Mv \times 100$$

Où :

R : Le rendement en %.

Mm : La masse de l'extrait après l'évaporation du solvant (méthanol) en (g).

Mv : La masse de poudre de la résine de Pin d'Alep en (g).

I.3. Evaluation des taux des composés phénoliques :

I.3.1. Dosage des polyphénols totaux :

Principe:

La teneur des composés phénoliques de la résine de *Pinus halepensis* a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu selon (Li *et al.*, 2007). Cette méthode est basée sur la réduction, en milieu alcalin, de la mixture acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) du réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques conduisant à la formation des produits de réduction de couleur bleu. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'échantillon.

Mode opératoire:

Brièvement, 1 ml de réactif de Folin (10 fois dilué) est ajouté à 200 µl d'échantillon ou standard (préparé dans le méthanol) avec des dilutions convenables, après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnées au milieu réactionnel. Après 2h d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 765 nm (Li *et al.*, 2007).

Expression des résultats:

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec l'acide gallique (0- 160 µl / ml) et est exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec (µg EAG/ mg d'extrait sec).

I.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

La détermination quantitative des flavonoïdes d'extrait méthanolique de la résine de *Pinus halepensis Mill* est élaborée par la méthode colorimétrique de **Bahorun et al. (1996)**.

Principe de la méthode :

La méthode de trichlorure d'aluminium de dosage des flavonoïdes repose sur la capacité des flavonoïdes à formés des complexes avec l'aluminium sous forme d'ions Al^{3+} après la décomposition du chlorure d'aluminium qui donne à la solution une couleur jaunâtre (**Bahorun et al., 1996**).

Les complexes formés sont responsables de l'absorption de la lumière dans le visible.

Mode opératoire:

À 1ml d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) est ajouté 1 ml de la solution d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol) .Après 10 min de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm.

Expression des résultats:

La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0- 40 µl/ml) et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait sec (µg EQ/ mg d'extrait sec).

II.4. Etude in vitro de l'activité antioxydante de l'extrait de la résine de *Pinus halepensis* :

II.4.1. Effet scavenger du radical DPPH :

Pour évaluer l'activité anti radicalaire de l'extrait méthanolique de la résine de Pin, nous avons choisi la méthode spectrophotométrique qui utilise le radical libre DPPH (diphényl picryl-hydrayl).

Le modèle de piégeage du radical libre DPPH est largement utilisé comme méthode d'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de plantes (**Muthiah, 2012**), dans une courte période en raison de sa rapidité par rapport à d'autres méthodes (**Lagha-Benamrouche and Madani, 2013**).

Principe de test:

Cette méthode permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul d'IC₅₀ (concentration inhibitrice de 50%) des substances antioxydants contenues dans un extrait. La présence d'un antioxydant dans le milieu engendre la libération d'un électron ou d'un proton réduisant ainsi le radical DPPH ayant une couleur violette en une molécule diamagnétique stable de couleur jaune, le diphényl picryl-hydrazine (**Gulcen et al , 2003**), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu des protons H⁺ (**Figure 6**).

I.5. Evaluation in vitro de l'activité antiinflammatoire :

I.5.1. Inhibition de la dénaturation protéique (ovalbumine) :

Principe :

Pour évaluer l'activité antiinflammatoire d'extrait de la résine de pin, un test par la méthode turbidimétrie a été réalisé in vitro contenant l'ovalbumine extraite du blanc d'œuf utilisée comme modèle d'étude (**Adrash *et al.*, 2011**).

Les protéines sont des constituants indispensables à l'organisme humain. Elles assurent des fonctions physiologiques essentielles. En effet, le dysfonctionnement d'une protéine dans l'organisme, induit par des agents physiques ou chimiques constituant une des causes d'induction d'un processus inflammatoire. Dans le but de maintenir la stabilité des protéines et de minimiser ses dommages dans l'organisme, on a examiné l'effet d'extrait de la résine de pin sur la thermo dénaturation des protéines globulaires. La protéine modèle pour ce travail, est l'albumine sérique humaine. Mais en raison de non disponibilité en quantité suffisante de cette protéine, nous avons utilisé l'ovalbumine de blanc d'œuf. L'ovalbumine est une protéine de blanc d'œuf qui représente près de 54% de ses protéines totales. Elle est fortement hydrophobe, elle est très sensible aux conditions environnementaux (ph ; température....) (**Huntington et Stein, 2001**).

Mode opératoire :

Cette activité a été testée selon la méthode décrite par **Alhakmani *et al.* (2013)** avec quelques modifications (**Figure 07 et Figure 08**).

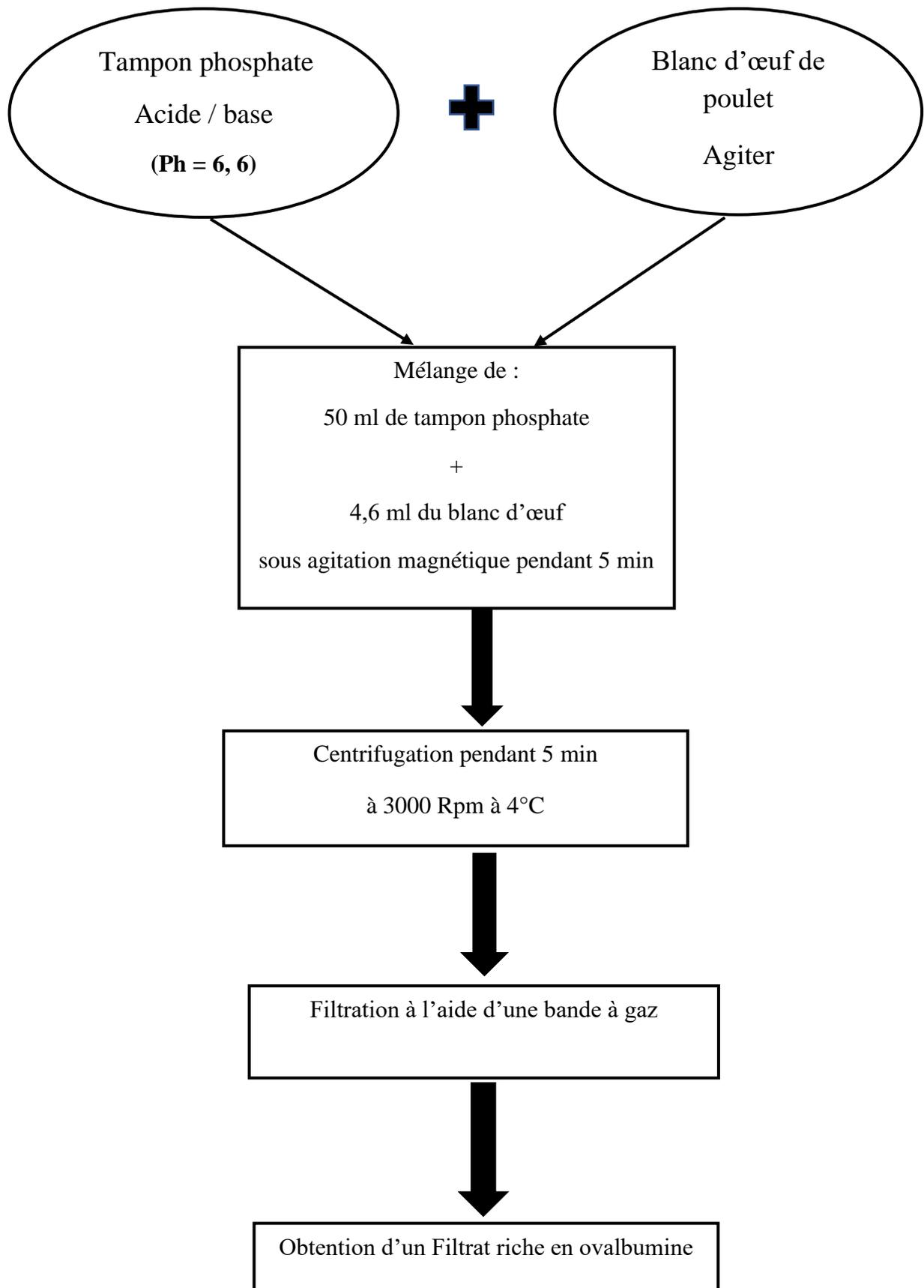


Figure 07 : Protocole d'extraction d'ovalbumine (Alhakmani *et al.*, 2013).

I. Matériel et Méthodes

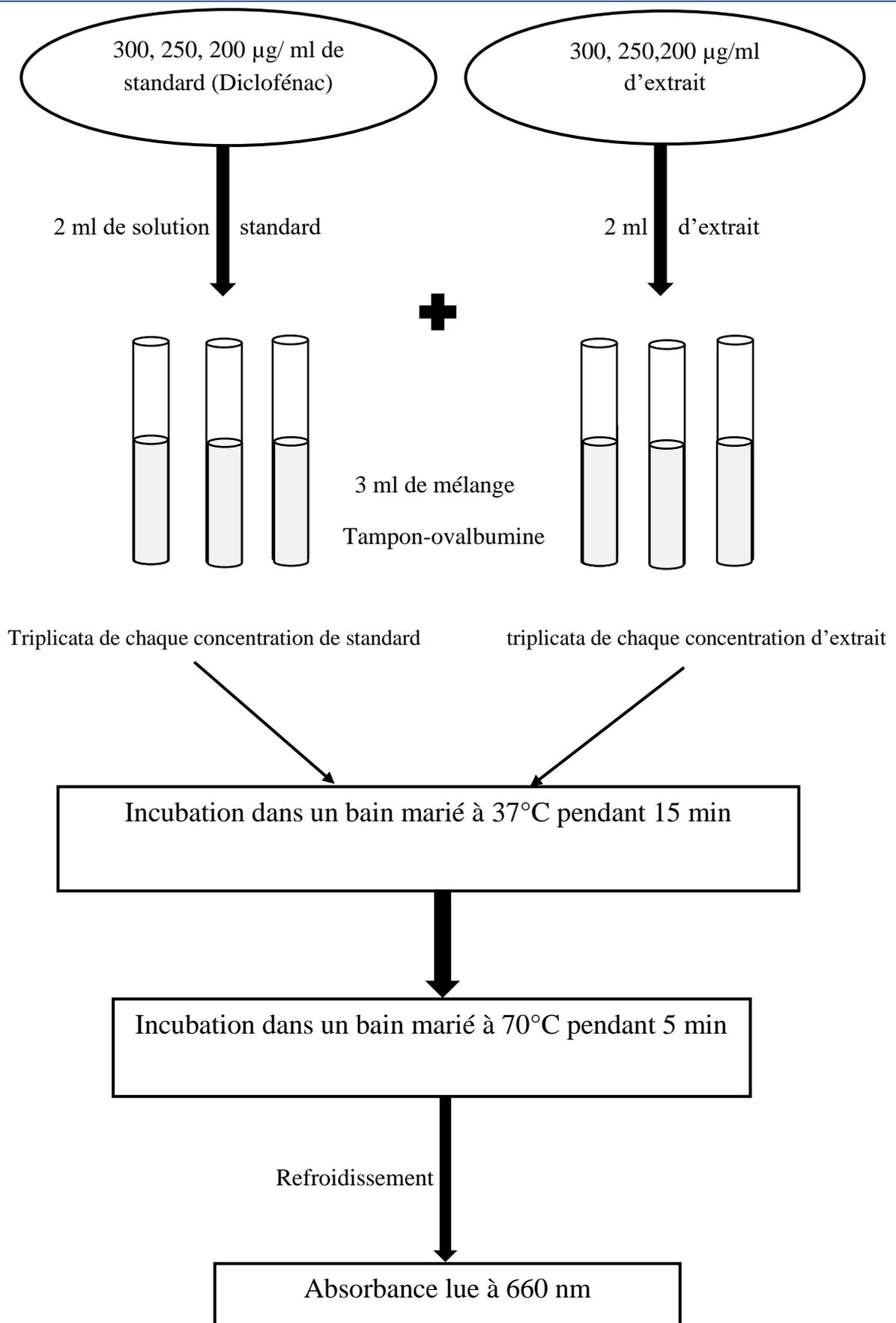


Figure 08 : Protocole d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine (Alhakmani *et al.*, 2013).

Expression des résultats:

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = (A_t - A_c) / A_c \times 100$$

Où :

A_t : Absorbance de l'échantillon d'essai.

A_c : Absorbance du témoin.

I.6. Analyse statistique des résultats :

Les tests d'évaluation de l'activité anti oxydante et antiinflammatoire ainsi que le criblage phytochimique sont exprimés par la moyenne de trois essais \pm écart type .Les graphes sont mis en forme par Excel. L'étude statistique est réalisée à l'aide d'un logiciel statistique (Graph Pad Prism 9). Des comparaisons statistiques ont été effectuées avec le test ANOVA. Les différences sont considérées comme : significatives lorsque (* $p < 0,05$).

Résultats

Et

Discussion

II. Résultats et discussion

II. Résultat et discussion :

II.1. Rendement d'extraction :

Les procédés d'extraction des composés phénoliques à partir des plantes médicinales constituent une étape cruciale, car elle est déterminante de la qualité et de la quantité des principes actifs recherchés, qui reflètent directement leurs activités biologiques (**Naczk et Shahidi, 2006**).

Le résultat du rendement de notre extrait méthanolique de la résine de *Pinus halepensis Mill*, après différentes étapes d'extraction est de 73,23% (7,323g d'extrait sec par rapport à 10g de matériel végétal sec).

L'extrait obtenu après une macération d'une poudre de la résine avec un solvant organique (méthanol) est d'une couleur jaune brune un peu brillant.

Dans notre étude le taux de rendement d'extraction de la résine peut être dû à plusieurs facteurs, selon **Lim et Murtijaya, (2007)** le taux d'extraction des principes actifs est inversement proportionnel avec la taille des particules obtenues après le broyage. Le choix de solvants présente une influence significative de son pouvoir d'extraction sur le rendement (**Bourgou et al ., 2016**).

Pareillement au rendement, la différence de quantité dans les teneurs peut donc être expliquée par les conditions environnementales, la période de récolte ainsi que les protocoles expérimentaux utilisés (**Lee et al., 2003**).

Selon **Stalikas, (2007)** l'extraction solide-liquide et liquide-liquide sont les procédures les plus couramment utilisées avant d'analyser les polyphénols et les flavonoïdes des plantes, en raison de leur facilité d'utilisation, efficacité et leur large applicabilité. Dans la présente étude, la méthode de macération, sous agitation, permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bio-activité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante, ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite permet d'obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation, ou modification probable dues aux températures élevées, utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

II.2. Dosage des composés phénoliques de la résine de *P.halepensis* :

Les quantités des polyphénols totaux (PPT) sont rapportées en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait sec), utilisant l'acide gallique comme standard (**Figure 09**).

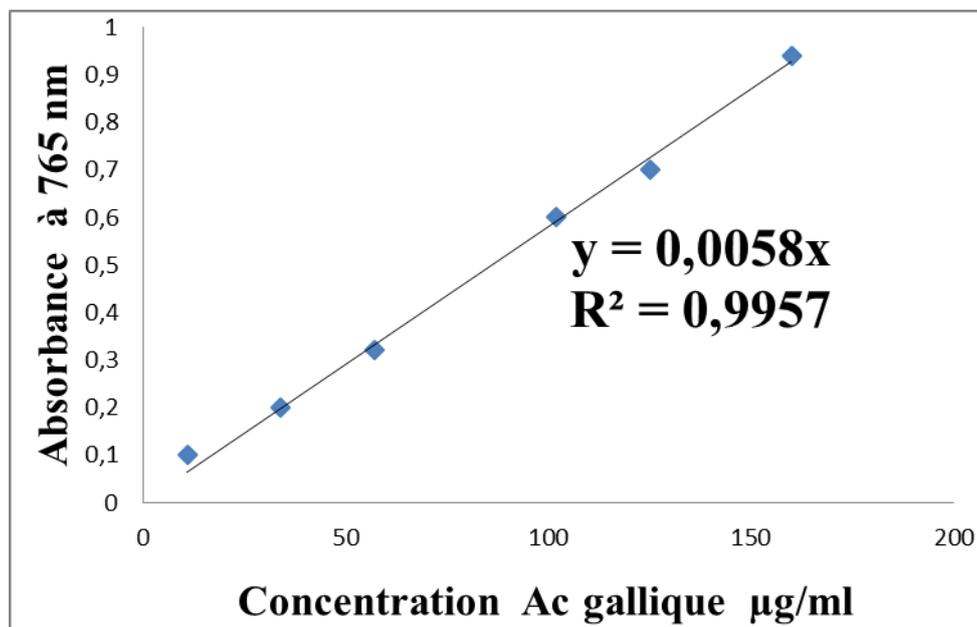


Figure 09 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne \pm SD de trois essais).

Une couleur bleu apparaît après l'ajout du carbonate de sodium confirmant la présence des polyphénols qui réduit le réactif de Folin-Ciocalteu. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité des polyphénols. (**Biozot et Charpentier, 2006**).

D'après nos résultats, la teneur en polyphénols de l'extrait méthanolique testé est de $92,067 \pm 0,343 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait sec (**Tableau II**).

Tableau II : La teneur en composés phénoliques de l'extrait méthanolique.

Extrait	Phénols totaux	Flavonoïdes
	($\mu\text{g EAG/ mg E}$) ^a	($\mu\text{g EQ/ mg E}$) ^b
Méthanolique	$92,067 \pm 0,343$	$10,903 \pm 0,752$

a : microgramme d'équivalent acide gallique par milligramme.

b : microgramme d'équivalent Quercétine par milligramme d'extrait sec.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures \pm SD.

II. Résultats et discussion

Dans ce contexte, il est difficile d'évaluer l'efficacité de l'extrait méthanolique de la résine et de comparer les résultats car il n'existe pas une méthode de référence standardisée.

En plus, les méthodes de la préparation des extraits et les conditions expérimentales se différent d'une étude à l'autre. Pour ces raisons, on trouve qu'il est très difficile de comparer entre les résultats de différentes études.

Meziti et al. (2019) ont étudié l'extrait méthanolique des cônes de *P. halepensis*, qui avait une teneur phénolique de $251,40 \pm 7,07$ μg EAG/mg d'extrait sec, **Bouzenna et al.(2021)** qui ont réalisé son travail sur un extrait aqueux des aiguilles de *P. halepensis*, ils ont trouvé une teneur de $735,41 \pm 0,09$ μg EAG/ mg d'extrait sec. Ces valeurs sont supérieures à celles obtenues avec notre étude.

De plus, une étude réalisée par **Ustün et al. (2012)** indiquent que l'extrait à l'acétate d'éthyle des graines de Pin d'Alep d'origine Turque a donné une valeur de 102,56 mg EAG/ g d'extrait sec qui est proche à notre résultat.

Selon les études menées par **Mahdhi et al. (2021)** qui sont réalisées sur un extrait méthanolique des graines de Pin, la teneur trouvée en polyphénols est de $14,63 \pm 0,05$ mg EAG/g d'extrait sec, et par **Kouachi et Derouiche, (2018)**, qui ont trouvé une teneur de $34,10 \pm 1,77$ μg EAG/mg d'extrait aqueux de l'écorce. Ces valeurs sont inférieures à celles obtenues avec notre résultat.

Tous ces différences dans la teneur en polyphénols peut revenir aux conditions environnementales (le climat, la nature de sol) de chaque région de l'échantillon récolté. **(Belkhiri et al., 2018)**.

Le taux d'extraction des composés phénoliques dépend de la polarité du solvant, qui influe sur la quantité et la qualité des composés extraits, ainsi que le temps d'extraction, la température, le pourcentage de l'échantillon par rapport au solvant et la composition chimique de la plante **(Robards, 2003)**.

II.3. Dosage des flavonoïdes de la résine :

Les quantités des flavonoïdes correspondantes sont rapportées en microgramme équivalent de quercétine par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g EQ}/\text{mg}$ d'extrait sec) utilisant la quercétine comme standard (**Figure 10**).

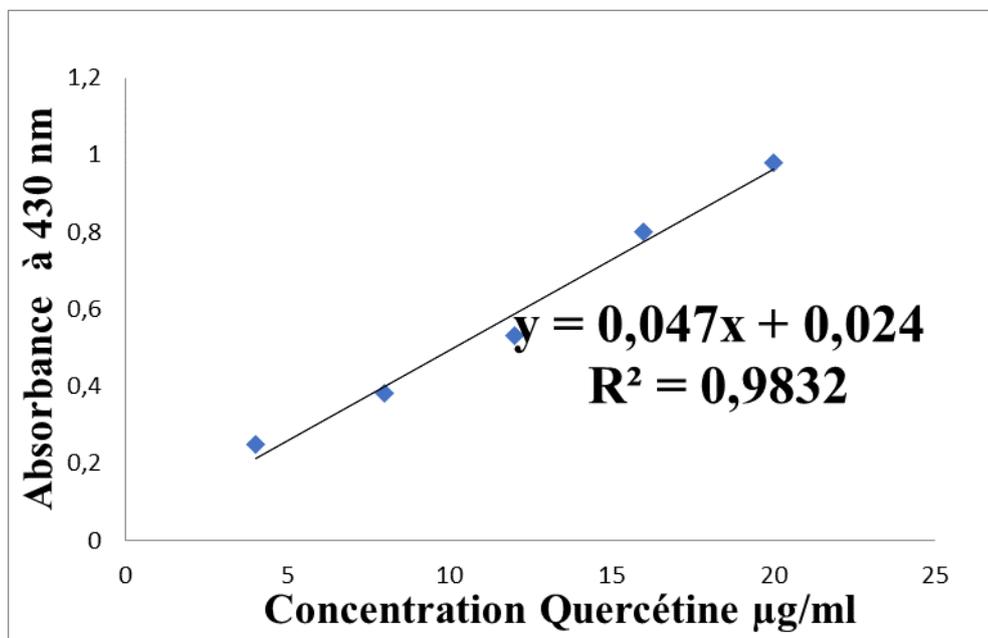


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne \pm SD de trois essais).

D'après nos résultats, la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique testé est de $10,903 \pm 0,752 \mu\text{g EQ}/\text{mg}$ d'extrait sec (**Tableau II**).

Par comparaison aux travaux d'**Ustün et al. (2012)**, l'extrait d'acétate d'éthyle des aiguilles du Pin a une teneur en flavonoïdes très élevée par rapport à notre résultat de $52,49 \pm 3,57 \text{ mg EQ}/\text{g}$ d'extrait sec.

Les taux des flavonoïdes des graines de Pin obtenues par **Kadri et al. (2015)** et **Mahdhi et al. (2021)** sont respectivement $0,80 \pm 0,048 \text{ mg EQ}/\text{g}$ d'extrait sec et $3,30 \pm 0,02 \text{ mg EQ}/\text{g}$ d'extrait sec qui sont largement plus faibles par rapport à notre résultat de $52,49 \pm 3,57 \text{ mg EQ}/\text{g}$ d'extrait sec.

Kouachi et Derouiche, (2018) ont rapporté une teneur faible de ces composés dans l'extrait aqueux de l'écorce $3,27 \pm 0,49 \mu\text{g EQ}/\text{mg}$ d'extrait sec.

II.4. Activité antioxydante

II.4.1. Test de DPPH :

Le DPPH possède un électron non apparié sur un atome de pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, le DPPH· reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire (Popovici *et al.*, 2009).

Les substances capables d'effectuer une réduction par hydrogène ou par don d'électrons peuvent être considérées comme des piègeurs de radicaux et donc des antioxydants. Le degré de changement de couleur des radicaux DPPH du violet au jaune lors de la réduction indiquent le potentiel de piégeage des radicaux de l'antioxydant (Moghaddam *et al.*, 2012).

Le test DPPH a été utilisé pour mesurer la performance de la résine de pin à piéger le radical libre DPPH par don d'atome d'hydrogène ou d'électron (Tepe *et al.*, 2005).

Le résultat était basé essentiellement sur la détermination de la concentration efficace de la valeur IC₅₀, qui indique la concentration de l'échantillon qui pouvait inhiber une réduction de 50% de radical DPPH, la valeur IC₅₀ la plus basse signifie l'échantillon le plus actif en tant qu'antioxydant.

L'ensemble des résultats de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la résine de *Pinus halepensis* ainsi que le standard utilisé est exprimée en IC₅₀ (Tableau III) :

Tableau III : L'activité anti radicalaire de l'extrait méthanolique de la résine de *Pinus halepensis* et de la Quercétine.

Echantillons	IC ₅₀ (mg/ ml)
Extrait méthanolique	0,2596 ± 0,1200
La Quercétine	0,0063 ± 0,0004

Les résultats obtenus montrent une activité anti-radicalaire considérable dans l'extrait méthanolique de la résine de *Pinus halepensis* avec IC₅₀ = 0,259 ± 0,120 mg/ml. En comparaison avec l'antioxydant standard (Quercétine) qui démontre une IC₅₀ = 0,006 ± 0,0004 mg / ml.

Les travaux d'**Aloui et al. (2022)** ont révélé une activité anti radicalaire faible par rapport à la présente étude avec des IC₅₀ élevées allant à 17 et 16,81 mg/ml pour la résine de pin d'Alep et le pin maritime respectivement.

L'effet scavenger du radical DPPH de notre extrait méthanolique est meilleur à celui rapporté par **Djerrad et al. (2015)** à l'aide des huiles essentielles de dix provenances de *Pinus halepensis* avec des valeurs d'IC₅₀ allant de 212,96 ± 2,19 à 284,12 ± 3,99 g/ml.

Mais d'un autre côté, nos résultats sont faibles par rapport à celles trouvés par **Haichour et al. (2021)** qui ont fait leur étude sur un extrait aqueux lyophilisé de la résine de *Pinus halepensis* avec une valeur d'IC₅₀ 83,64 µg/ml.

L'extrait méthanolique de la résine de Pin obtenu a une IC₅₀ supérieure à celle obtenue par **Rigane et al. (2019)** ; **Abbou et al. (2019)** pour les graines de *Pinus halepensis* qui ont rapportés des valeurs d'IC₅₀ d'ordre de 14 ± 0,22µg/ ml, et de 79,90 ± 1,26 µg/ml respectivement ; ces derniers ont alors une puissante activité de piégeage des radicaux DPPH par rapport de notre extrait.

De plus, selon **Meullemiestre et al. (2014)**, les huiles essentielles de *Pinus pinaster* ont une activité de piégeage de radicaux élevée avec IC₅₀ de 123µg/ ml.

L'activité DPPH dans la résine pourrait être attribuée à leur forte teneur en composés phénoliques. Cependant, l'activité anti-radicalaire dépend de la structure chimique des composés phénoliques et de la disponibilité des groupements hydroxyles (OH) (**Aloui et al., 2022**).

Les phénols sont des composés organiques qui contiennent un groupe hydroxyle lié directement à l'anneau aromatique et l'H-atome du groupe hydroxyle peut emprisonner des radicaux de peroxy, empêchant d'autres composés à s'oxyder. De cette façon, l'activité antioxydante est due à la présence des phénols. (**Nguyen et al., 2003**).

D'autres composés tels que l'acide ascorbique, le tocophérol et certains pigments contribuent aussi au pouvoir antioxydant des plantes (**Li et al., 2005** ; **Tamert et Latreche, 2016**).

Fellah *et al.* (2008) ont montré que l'activité antioxydante ne dépend pas seulement à la concentration des polyphénols, mais également à la nature de la structure des antioxydants dans l'extrait. Généralement, les polyphénols ayant un nombre élevé des groupements hydroxyles présentent une activité antioxydante très importante.

Aussi, la température est l'une des paramètres influençant le profil phytochimique des plantes et leurs activités biologiques diverses (**M'Hiri, 2015**). Les températures élevées conduisent à l'altération des composés phénoliques.

Notre extrait semble avoir un potentiel antioxydant prometteur qui peut être utilisée comme traitement complémentaire aux traitements de diverses maladies liées au stress oxydant.

II.5. Evaluation in vitro de l'activité anti-inflammatoire

II.5.1. Inhibition de la dénaturation protéique (Ovalbumine) :

Pour évaluer l'activité antiinflammatoire in vitro de l'extrait méthanolique de la résine de pin à différentes concentrations (300, 250, 200 µg /ml), on a testé l'inhibition de la dénaturation thermique de l'ovalbumine.

On sait bien que, les processus inflammatoires et antiinflammatoires impliquent de différentes molécules, principalement les protéines. La dénaturation des protéines impliquant l'altération des liaisons stabilisatrices de la structure 3D (hydrogène, électrostatique, disulfure, hydrophobe) induit une perte de propriétés biologiques pouvant déclencher ou accentuer l'inflammation. (**Abbou *et al.*, 2019**).

Les taux d'inhibition pour différentes concentrations d'extrait méthanolique de la résine de *Pinus halepensis* et le Diclofénac sont présentés dans la (**Figure 11**).

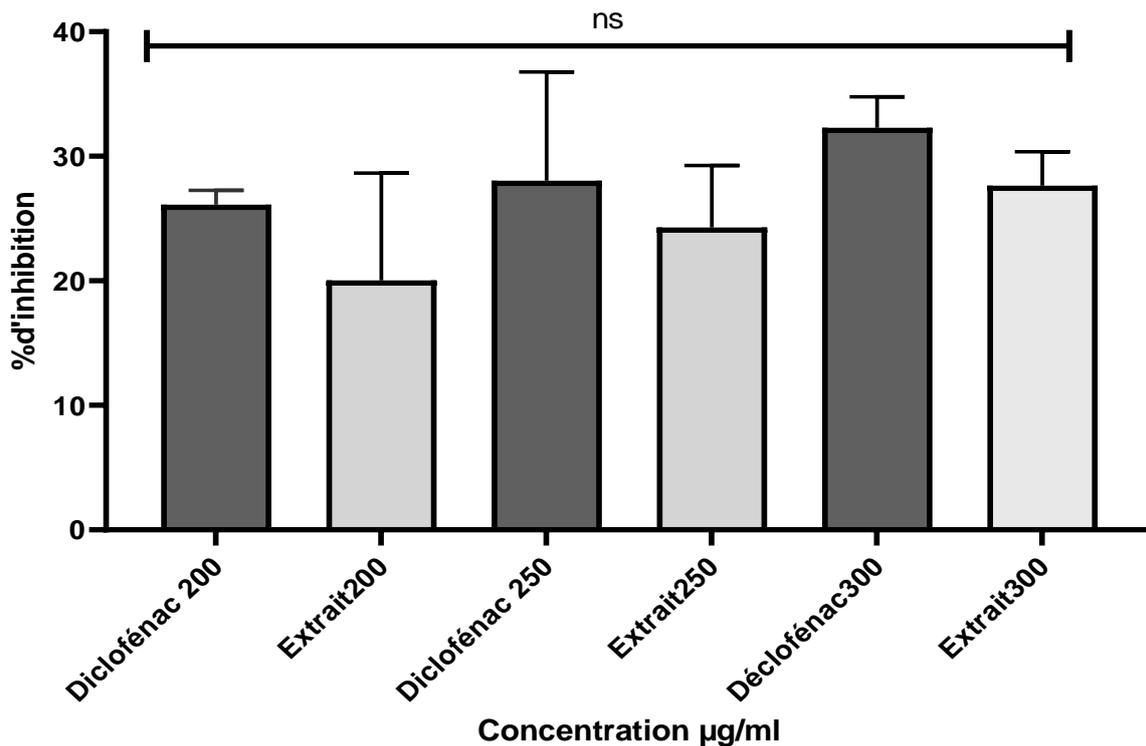


Figure 11 : Taux d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine à différentes concentrations de l'extrait méthanolique de la résine de *Pinus halepensis* et Diclofénac.

ns : différence non significative (* $p > 0,05$).

Les résultats ont démontré que notre extrait méthanolique et le Diclofénac testés ont induit une protection de la protéine ovalbumine contre la dénaturation engendrer par une température élevé (70°C).

D'après l'histogramme de pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique (**Figure 11**), l'extrait méthanolique de la résine de *Pinus halepensis* présente une inhibition de la dénaturation des protéines égale à $(27,64 \pm 2,72)\%$ à 300 µg/ml, alors que le diclofénac présente une inhibition de $(32,29 \pm 2,49)\%$ à la même concentration.

Selon l'étude statistique ils n'existent pas une différence significative entre l'extrait de la résine de *Pinus halepensis* et le standard (diclofénac).

Ces variations des taux d'inhibition pour les deux substances augmentent proportionnellement en fonction de la concentration.

II. Résultats et discussion

L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre que notre extrait possède une forte activité anti-inflammatoire *in vitro*.

Il n'existe pas une différence significative entre l'inhibition présentée par l'extrait et celle de standard (* $p < 0,05$).

La dénaturation des protéines est un processus dans lequel les protéines perdent leurs structures tertiaire et secondaire par l'application d'un stress externe ou d'un composé tel qu'un acide fort ou une base, d'une concentration en sel inorganique, un solvant organique ou par la chaleur dont la plupart des protéines perdent leur fonctions biologiques lorsqu'elles sont dénaturées (**Marliyah et Ananthi, 2015**). Cette dernière est une cause de l'inflammation bien documentée, elle peut être à l'origine de la production d'auto-antigènes dans certaines maladies arthritique comme la polyarthrite rhumatoïde (**Chandra *et al.*, 2012**).

Par ailleurs, la production ou l'apparition des auto-antigènes dans certaines maladies arthritiques peut entrer d'être à la dénaturation des protéines *in vivo*. Les agents qui peuvent empêcher la dénaturation des protéines donc, seraient de bons candidats pour le développement de nouvelles molécules anti-inflammatoires (**Chandra *et al.*, 2012**).

L'activité anti-dénaturante de l'extrait pourrait être d'être à l'interaction de certaines composantes avec deux sites (présentes au niveau de certaines protéines ex : albumine) de liaisons riches en Tyrosine, Thréonine et Lysine (**Williams *et al.*, 2002**). **Lu** et ses collaborateurs ont rapporté que les composants des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle, exercent leurs effets pharmaceutiques grâce à leur capacité de se lier aux protéines plasmatiques (**Lu *et al.*, 2008**). En effet selon l'étude effectuée par **Dufour et Dangles, (2004)** sur l'interaction des flavonoïdes avec l'albumine, cette dernière possède une forte affinité pour la quercétine, ce qui pourrait expliquer l'activité protectrice des polyphénols contre la dénaturation thermique de l'albumine.

Conclusion

Conclusion :

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Ces plantes contiennent des composés bioactifs qui sont des alternatives efficaces aux produits de synthèse en pharmacie et très connu pour leur effets thérapeutiques sans effets secondaires pour améliorer l'avenir du système de santé dans le monde.

Dans la présente étude nous sommes intéressés à la recherche des substances naturelles issues de la résine de *Pinus halepensis* et de savoir ses activités biologiques à travers divers méthodes *in vitro*.

Cette étude a été menée dans l'optique globale de participer à la recherche de nouvelles molécules naturelles dotées d'activités biologiques. Notre étude a permis de quantifier quelques antioxydants (polyphénols totaux et flavonoïdes) de la résine de *Pinus halepensis* (pin d'Alep) et d'évaluer leurs activités antioxydantes et anti-inflammatoires *in vitro*.

Le rendement de l'extrait méthanolique de la résine de pin d'Alep a été jugé très satisfaisant (73,32%).

L'analyse quantitative des phénols totaux, des flavonoïdes a été réalisé par les courbes d'étalonnages des étalons l'acide gallique, la quercétine respectivement. Celles-ci nous ont permis de confirmer que notre plante contient des quantités importantes en composés phénoliques. L'évaluation du contenu des phénols totaux et des flavonoïdes, est effectué par la méthode de Folin-Ciocalteu et celle de Chlorure d'Aluminium respectivement, révèlent la présence des quantités très importantes en phénols totaux ($92,067 \pm 0,343 \mu\text{g EAG/ mg d'extrait sec}$) et moyennement importante en flavonoïdes ($10,903 \pm 0,752 \mu\text{g EQ/ mg d'extrait sec}$).

Le potentiel anti-radicalaire de l'extrait méthanolique de la résine de Pin a été déterminé par la méthode spectrophotométrique qui utilise le radical libre DPPH. Dont les résultats montrent que l'extrait possède une bonne activité antioxydante. Donc cette résine contient des molécules considérées comme des agents antioxydants potentiels.

En outre, nous avons réalisé un test anti-inflammatoire pour évaluer l'activité de l'extrait méthanolique de la résine à stabiliser la protéine ovalbumine contre la dénaturation thermique, dont l'efficacité est significativement la même à celle d'AINS de Diclofénac, ce qui supporte son usage traditionnelle pour le soulagement de diverses affections inflammatoires.

Il serait nécessaire d'approfondir ce travail par :

- ✓ L'évaluation de ces activités *in vitro* par des autres techniques plus précises.
- ✓ Détermination de la composition chimique de la résine de *Pinus halepensis* par HPLC et spectroscopie de masse... etc.
- ✓ La réalisation des tests de toxicité *in vivo* et *ex vivo*.
- ✓ Etude de l'extrait de la résine de *Pinus halepensis* dans le domaine alimentaire pour connaître son l'efficacité comme agent antioxydant dans la sécurité alimentaire.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques:

- **Abbou, A., Kadri, N., Debbache, N., Dairi, S., Remini, H., Dahmoune, F., Berkani, F., Adel, K., Belbahi, A., Madani, K. (2019).** Effect of precipitation solvent on some biological activities of polysaccharides from *Pinus halepensis* Mill. seeds. *Int. J. Biol. Macromol.* 141, 663–670. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.266>.
- **Adrach verma, M., Ajay Kumar, P., Kavitha, D., Aurag, K.B. (2011).** Antidenaturation and antioxidant activity of Annon cherimola in vitro. *International. Journal of Pharma and Bio Science*, 2 (2): 1-6.
- **Abdulkhaleq.L.A., Assi.M.A., Rasedee.A., Zamri-Saad.M., Taufiq-Yap.Y.H., Hezmee.M.N.M. (2018).** The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Veterinary World* 11: 627-635 .
- **ALHAKMANI F., KUMAR S., KHAN S A. (2013).** Estimation of total phenolic content, in vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3(8). ELSIVIER. Pp623-627.
- **Aloui, F., Baraket, M., Jedidi, S., Hmairi, B., SALEM, EB, Jdairi, N., ... & Abbas, C. (2022).** Evaluation des activités biologiques de la résine extraite des pinèdes tunisiennes. *Pack. J.Bot* .
- **Barton, G.(2008).** A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *J Clin Invest*, 118: 413-420).
- **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J.C., Pinkas, M.(1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46(11): 1086-1089.
- **Belkhiri, B., Bouab, C., Zellagui, A. (2018).** Extraction, dosage des composés phénoliques et évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH de la propolis et pollen de l'est Algérien.
- **Benkhniq, O., Zidane, L., Fadli, M., Elyacoubi, H., Rochdi, A., & Douira, A. (2010).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta botánicabarcinonensia*, 191-216.

- **Betina-Benchair, S. (2014).** Isolement et caractérisation de saponosides extrait de deux plantes médicinales *Cyclamen africanum*, *Zygophyllum cornutum* et évaluation de leur activité anti-inflammatoire. Thèse de doctorat en biologie et écologie et en pharmacognosie. Université de Constantine 1, de Bourgogne. Algérie, France. P :58-61 .
- **Boizot N. & Charpentier J.P., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le cahier des techniques de l'INRA. 79-82.
- **Bourgou, S., Beji, R. S., Medini, F., & Ksouri, R. (2016).** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of New Sciences*, 28.
- **Bouyahya, A., Abrini, J., Et-Touys, A., Lagrouh, F., Dakka, N., & Bakri, Y. (2018).** Analyse phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des échantillons du miel marocain. *Phytothérapie*, 16(S1), S220-S224.
- **Bouzenna, H., Samout, N., Fatma, G., Dhibi, S., & Saidi, I. (2021).** Phytochemical, antioxidant and antibacterial activities of the aqueous and ethanol extracts of *Pinus halepensis*. *Discovery Phytomedicine*, 8(1), 24-28.
- **Bussy, J. C. (1971).** La gomme et les produits résineux en France. *Revue forestière française*, 23(3), 377-384 .
- **Carine, D. B. (2006).** *Les lésions des acides nucléiques: détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation* (Doctoral dissertation, thèse doctorat, GRENOBLE).
- **Chabrier, J. Y. (2010).** PLANTES MÉDICINALES PLANTES MÉDICINALES ET FORMES D'UTILISATION EN PHYTOTHÉRAPIE D'UTILISATION EN PHYTOTHÉRAPIE TOTHÉRAPIE.

- **Chandra S., Chatterjee P., Dey P., and Bhattacharya S. (2012).** Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 178-180.
- **Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Logny, G., Blecher, C., Deroanne, C., & Attia, H. (2008).** Strol composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) and Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill) seed oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(2), 162-168.
- **Cuendet M., H.K., Dyatmiko W., Potterat O. , 1997.** Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagyaea blumei* Helvetica Chimica Acta, 80: 1144-1152.
- **Dhibi, M., Mechri, B., Brahmi, F., Skhiri, F., Alsaif, M. A., & Hammami, M. (2012).** Fatty acid profiles, antioxidant compounds and antiradical properties of *Pinus halepensis* Mill. cones and seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(8), 1702-1708.
- **Djerrad, Z., Kadik, L., & Djouahri, A. (2015).** Chemical variability and antioxidant activities among *Pinus halepensis* Mill. essential oils provenances, depending on geographic variation and environmental conditions. *Industrial Crops and Products*, 74, 440-449.
- **Dufour, C et Dangles, O. (2004).** Flavonoid-serum albumin complexation: determination of binding constants and binding sites by fluorescence spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1721 : 164– 173.
- **EL KHASMI, M., & FARH, M. (2022).** Impact des plantes médicinales sur le rein.

- **El Omari, N., Guaouguaou, F. E., El Meniyi, N., Benali, T., Aanniz, T Chamkhi, I., Bouyahya, A. (2021).** Phytochemical and biological activities of *Pinus halepensis mill.*, and their ethnomedicinal use. *Journal of Ethnopharmacology*, 268, 113661.
- **Endo, T., Fukunaga, T., Yoshimura, T., Esumi, K. (2006).** Scavenging DPPH radicals catalyzed by binary noble metal–dendrimer nanocomposites. *Journal of Colloid and Interface Science*, 302(2): 516-521.
- **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5) : 372-379.
- **Gaziano J. M., Gibson C. M., (2006).**- Potential for drug-drug interactions in patients taking analgesics for mild-to-moderate pain and low-dose aspirin for cardioprotection. *Am J Cardiol*, 97 : 23-9.
- **Ghanmi, M., Satrani, B., Chaouch, A., Aafi, A., Abid, AE, Ismaili, MR et Farah, A.(2007).** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'essence de térébenthine du pin maritime (*Pinus pinaster*) et du pin d'Alep (*Pinus hale-pensis*) du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, 154 , 293 - 300.
- **GHEDADBA, N. (2018).** *Contribution à l'étude de l'activité biologique des deux espèces de Marrubium vulgare L et Marrubium deserti de Noé in vitro et in vivo* (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).
- **GUIT, B. (2015).** *CROISSANCE ET ÉTAT SANITAIRE DES PEUPLEMENTS DE PIN D'ALEP (PINUS HALEPENSIS MILL.) DANS LE MASSIF FORESTIER DE SENALBA (RÉGION DE DJELFA)* (Doctoral dissertation).

Références bibliographiques

- **Gülçın, İ., Oktay, M., Kireçci, E., Küfrevioğlu, Ö.İ. (2003).** Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83(3): 371-382.
- **HAICHOIR, N. (2021).** ÉTUDE DES EFFETS BIOLOGIQUES DE LA RÉSINE DE PIN. Thèse de doctorat spécialité microbiologie appliquée. Sétif : université Ferhat Abbas Sétif 1, 134p.
- **Henrotin, Y., Deby-Dupont, G., Reginster, J. Y. (2001).** Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. *Revue Médicale de Liège*, 56(6).
- **Hermes-Lima, M. (2005).** Oxygen in Biology and Biochemistry: Role of Free Radicals. *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*. Hoboken, NJ: Wiley-Liss, 319-368.
- **Himour, Sara & Yahia, Abdouhab & Hakima, Belattar & Bellebcir, Leila. (2016).** *Etude phytochimique de feuilles d'Olea europaea L. var Chemlel d'Algérie.*
- **Humblet, M. F., & Godeau, J. M. (2005).** L'haptoglobine, marqueur protéique de l'inflammation aiguë, dans l'espèce bovine. In *Annales de Médecine Vétérinaire* (Vol. 149, No. 1). Annales Medecine Veterinaire, Liege, Belgium.
- **Huntington, J & Stein, P. (2001).** Structure and properties of ovalbumin. *Journal of chromatography B*, 756 :189-198 .
- **Kada, S. (2018).** *Recherche d'extraits de plantes médicinales doublées d'activités biologiques* (Dissertation de doctorat).
- **Kadik, B. (1987).** *Contribution à l'étude du Pin d'Alep (Pinus halepensis Mill.) en Algérie: écologie, dendrométrie, morphologie.* Office des Publications Universitaires.

- **Kadri, N., Khettal, B., Aid, Y., Kherfellah, S., Sobhi, W., & Barragan-Montero, V. (2015).** Some physicochemical characteristics of pinus (*Pinus halepensis* Mill., *Pinus pinea* L., *Pinus pinaster* and *Pinus canariensis*) seeds from North Algeria, their lipid profiles and volatile contents. *Food chemistry*, 188, 184-192.
- **Kaouachi A, Derouiche S (2018).** Phytochemical analysis, DPPH antioxidant activity and Acute toxicity of bark aqueous extracts of *Pinus halepensis*. *Res J Chem Environ Sci.* 6 (3): 86-91).
- **Lagha-Benamrouche, S., Madani, K.(2013).** Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: Peels and leaves. *Industrial Crops and Products*, 50: 723-730.
- **Langenheim, JH (2003).** Résines végétales : chimie, évolution, écologie et ethnobotanique.
- **Lakreb, N., Sen, U., Bezzazi, B., & Pereira, H. (2022).** Les propriétés physico-mécaniques et thermiques du bois de pin d'Alep (*Pinus halepensis*) d'Algérie en tant que composant de panneaux sandwich. *iForest-Biogéosciences et Foresterie* , 15 (2), 106.
- **Lee, S. E., Hwang, H. J., Ha, J. S., Jeong, H. S., & Kim, J. H. (2003).** Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Life sciences*, 73(2), 167-179.
- **LH KELLAL SIHAM (2021).** L'étude de la germination des grains du pollen du Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill: 9p.).
- **Lim, Y. Y. and Murtijaya, J. (2007).** Antioxidant properties of *Phyllanthusamarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT*, 40: 1664-1669.
- **Li, H., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Jiang, Y.,(2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102(3): 771-776.

- **Li, J., Ding, S., Ding, X. (2005).** Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochemistry*, 40(11), 3607-3613.
- **Lu et al, (2008)** in Duganath, N., Rubesh Kumar, S., Kumanan, R et Jayaveera, K.N. (2010). Evaluation Of Anti-Denaturation Property And Anti-Oxidant Activity Of Traditionally Used Medicinal Plants. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(2) : 1-7.
- **Mahdhi, A., Ghazghazi, H., El Aloui, M., Ben Salem, R., & Rigane, G. (2021).** Identification and quantification of phenolic and fatty MS and -ESI-acid profiles in *Pinus halepensis* mill. seeds by LC-ESI-MS and GC: Effect of drying methods on chemical composition. *Food Science & Nutrition*, 9(4), 1907-1916.
- **Mauri A, Di Leo M, De Rigo D, Caudullo G. (2016).** *Pinus halepensis* and *Pinus brutia* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayaz J, de Rigo D, Caudullo G, Houston Durrant T, Mauri A. (Eds), *European atlas of forest tree species*. Publ. Off. EU, Luxembourg. pp: 22-23.
- **Marliyah M. and Ananthi T. In vitro anti-inflammatory activity of seed extract of Zea Mays (L.), 2015.** *J. Journal of Global Biosciences*. Vol. 4, n°5, p. 2168-2173
- Marsolais, D., et Frenette, J. (2005). Inflammation et réparation tendineuse. *M/S : médecine sciences*, 21(2), 181–186 .
- **Meullemiestre, A., Kamal, I., Maache-Rezzoug, Z., Chemat, F., & Rezzoug, S. A. (2014).** Antioxidant activity and total phenolic content of oils extracted from *Pinus pinaster* sawdust waste. Screening of different innovative isolation techniques. *Waste and Biomass Valorization*, 5, 283-292.
- **Meziti, H., Bouriche, H., Kada, S., Demirtas, I., Kizil, M., Senator, A., & Garrido, G. (2019).** Analyse phytochimique et effets hémolytiques et génotecteurs de *Quercus* -antioxydants, antiextraits et *Pinus halepensis* Mill. *illex L.* 272.-, 260 7 , *Rés. Pharmac. J.Pharm. méthanoliques. J.Pharm.Pharmac.Rés.* 7,260-272.

- **M'Hirit, N. (2015).** Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange " Maltaise demi sanguine" et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone. Alimentation et Nutrition. Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques. Université de Lorraine. France. 205p.
- **Migdal, C & Serres, M. (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
- **Millet, A. (2014).** Rôle pro-inflammatoire et immuno-modulateur de la protéinase 3 membranaire exprimée au cours de l'apoptose ; Implications dans la granulomatose avec polyangéite. Thèse de doctorat de Biologie et Biotechnologie. Université Paris Descartes, France .P : 14-16.
- **Modugno, F., Ribechini, E. and Colombini, M.P. (2006).** Aromatic resin characterisation by gas chromatography-mass spectrometry: Raw and archaeological materials. *Journal of Chromatography* .85: 164-173.
- **Moghaddam AH, Nabavi SM, Nabavi SF, Bigdellou R, Mohammadzadeh S, Ebrahimzadeh MA. (2012)** Antioxidant, antihemolytic and nephroprotective activity of aqueous extract of *Diospyros lotus seeds*. *Acta Pol Pharm* 69: 687–692.
- **Muthiah P., U.M., Asokkumar K. (2012).** In vitro antioxidant activities of leaves, fruits and peel extracts of citrus. *International Journal of Phytopharmacy*, 2(1): 13-20.
- **Naczki, M., & Shahidi, F. (2006).** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(5), 1523-1542.
- **Nahal I. (1962).** Le pin d'Alep. Etude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. *Annales de l'école Nationale des Eaux et Forêts* 19 (4) :533-627.).

- **Nguyen, M.T., Kryachko, E.S., Vanquickenborne, L.G. (2003).** General and Theoretical Aspects of Phenols. *The Chemistry of Phenols*, 1-198. NJ:Wiley-Liss, 319-368.
- **Okoli, CO et Akah, PA. (2004).** Mécanismes de l'activité anti-inflammatoire des extraits de feuilles de *Culcasia scandens* P. Beauv (Araceae). *Pharmacologie, biochimie et comportement* , 79 (3), 473-481.
- **Ozenda, P. (2006).** Les végétaux. Organisation et diversité biologique. 2^{ème} édition. Dunod. Paris. P : 516.
- **Pandey KB ;Rizvi SI. (2011).** Biomarkers of oxidative stress in red blood cells. Biomedical paper of medicine faculty- University Palacky Olomouc-Czech Republic, 155: 131-136 .
- **Pisoschi, A.M., Negulescu, G.P. (2011).** Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*.01, 1-10.).
- **Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Génie Industriel*, 4(16), 26–39.)
- **Rigane, G., Jebali, J., Ghazghazi, H., Riguene, H., Khouja, M. L., & Salem, R. B. (2019).** Chemical composition and biological activities of *pinus halepensis* Mill. oil. *Revue Roumaine de Chimie*, 64(11), 999-1006.
- **Rigolot, E. (2004).** Predicting postfire mortality of *Pinus halepensis* Mill. and *Pinus pinea* L. *Plant Ecology*, 171(1-2), 139-151.

- **Robards, K. (2003).** Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1000(1–2): 657-691.
- **Sanogo, R., Diallo, D., Diarra, S., Ekoumou, C., & Bougoudogo, F. (2006).** Activité antibactérienne et antalgique de deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali. *Med. Afr. noire (En ligne)*, 18-24.
- **Schwager.S et Detmar.M. (2019).** Inflammation and Lymphatic Function. *Frontiers in Immunology* 10: 308.
- **Sghaier, T., & Ammari, Y. (2012).** Croissance et production du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) en Tunisie. *Ecologia mediterranea*, 38(1), 39-57.
- **Sivaraj R., Balakrishnan A., Thenmozhi M., Venckatesh R. (2011).** Antimicrobial activity of *Aegle marmelos*, *Ruta graveolens*, *Opuntia dellini*, *Euphorbia royleena* and *Euphorbia antiquorum*. *Journal of Pharmacy research*, 4(5), 1507-1508.
- **Stalikas, C.D. (2007).** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 30(18): 3268-3295.
- **TAHRI, N., EL BASTI, A., ZIDANE, L., ROCHDI, A., & DOUIRA, A. (2012).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la province de Settat (Maroc). *Kastamonu University Journal of ForestryFaculty*, 12(2), 192-208.
- **Tamert, A., Latreche, A. (2016).** Activité antioxydante des extraits de six Lamiaceae aromatiques de l'Algérie occidentale. *Phytothérapie* : 1-8.
- **Tepe, B., D. Daferera, A. Sokmen, M. Sokmen and M. Polissiou. (2005).** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (*Lamiaceae*). *Food. Chem.*, 90: 333-40.

Références bibliographiques

- **Ustun, O., Senol, FS, Kurkcuoglu, M., Orhan, IE, Kartal, M. et Baser, KHC (2012).** Enquête sur la composition chimique, les activités anticholinestérasiques et antioxydantes des extraits et des huiles essentielles des espèces turques de Pinus et du pycnogenol. *Cultures et produits industriels*, 38, 115-123.
- **Zeghal, K. M., & Sahnoun, Z. (2013).** La réaction inflammatoire et le stress oxydant. In *Abrégé de physiologie à l'usage des acupuncteurs et des réflexothérapeutes* (pp. 47-53). Springer, Paris.).
- **Williams, L. A. D., Vasquez, E. A., Milan, P. P., Zebitz, C., & Kraus, W. (2002).** In vitro anti-inflammatory and antimicrobial activities of phenylpropanoids from Piper betle L.(Piperaceae). *Natural Products in the New Millennium: Prospects and Industrial Application*, 221-227.

Annexes

Annexe 01 : Préparation de la poudre et des extraits.



Figure 01 : Étapes de préparation de la poudre de la résine *Pinus halepensis*
(1) séchage, (2) broyage, (3) tamisage.

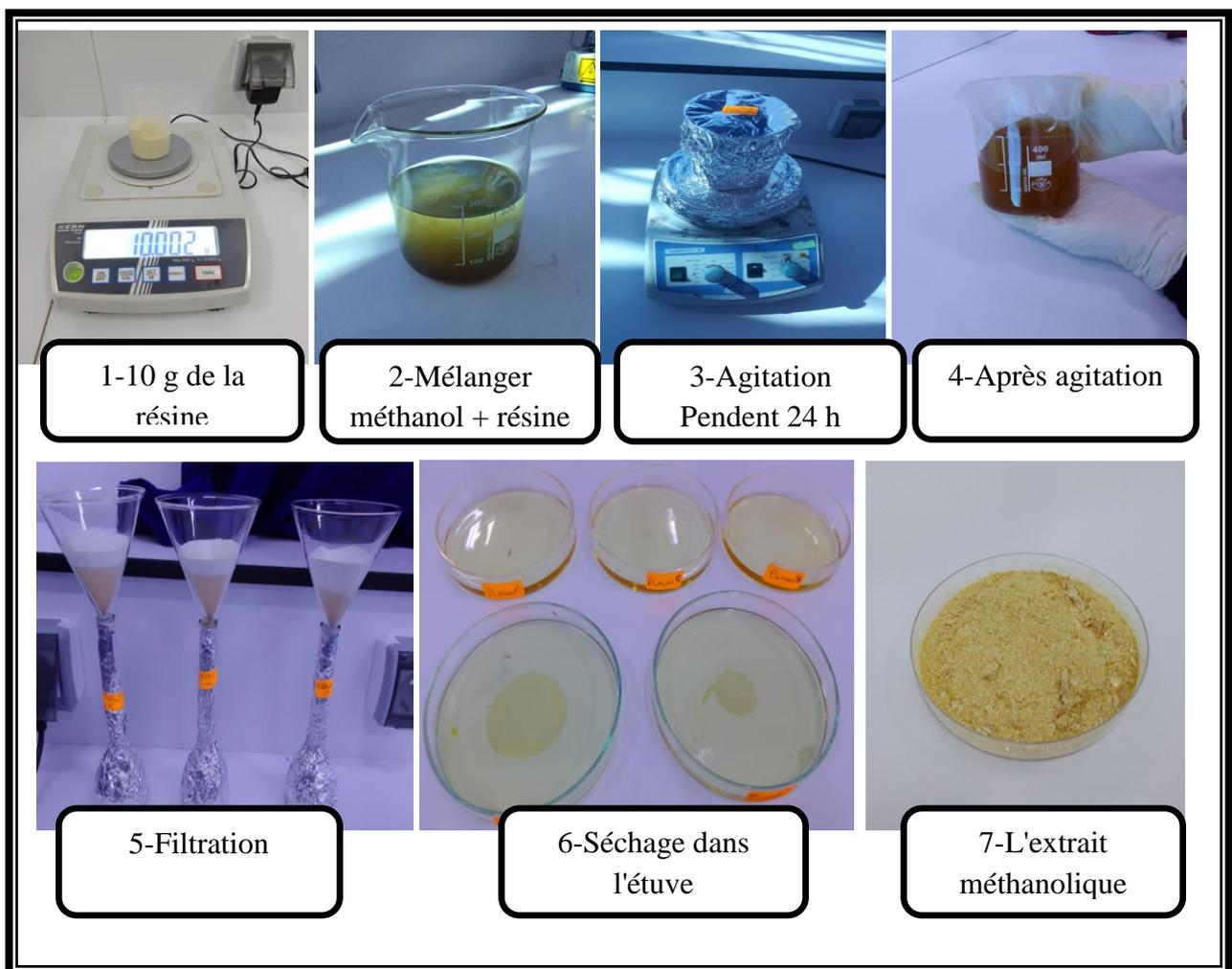


Figure 02 : Étapes de préparation de l'extrait méthanolique.

Annexe 02: Tests réalisé

✚ Dosage des polyphénols

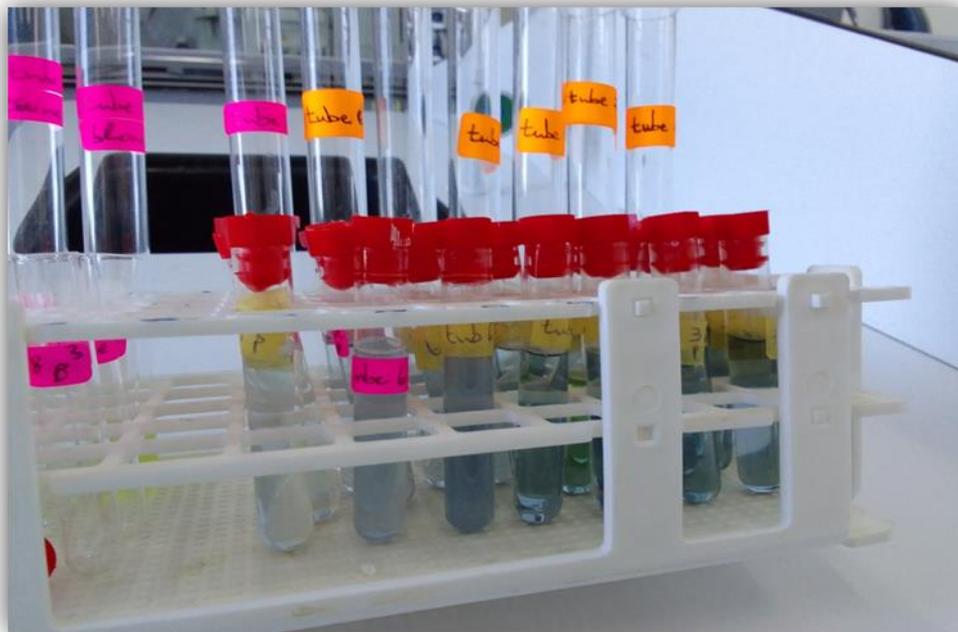


Photo 01 : Dosage des polyphénols (originale, 2023).

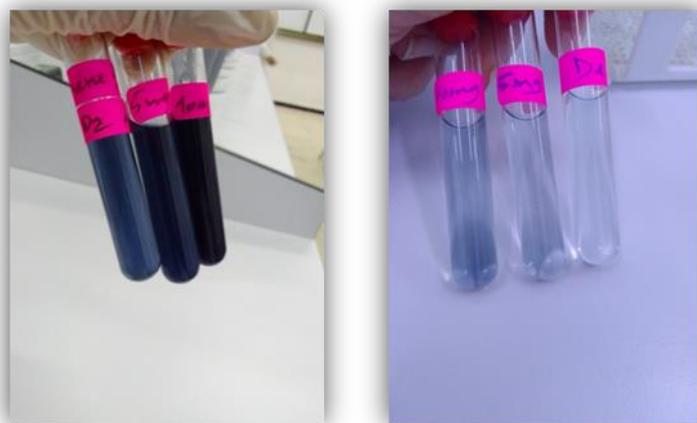


Photo 02 : La richesse de l'extrait de la résine en polyphénols (originale, 2023).

✚ Dosage des flavonoïdes

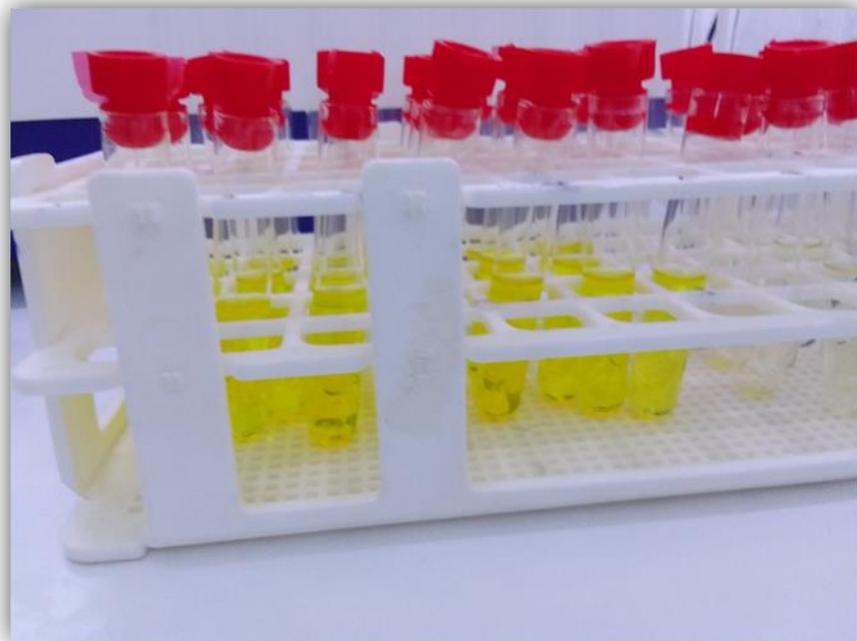


Photo 03 : Dosage des flavonoïdes (standard) (originale, 2023).

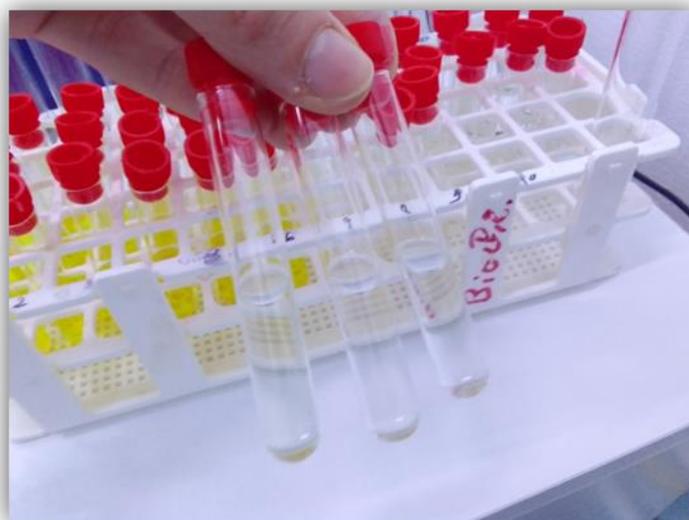


Photo 04 : Dosage des flavonoïdes de l'extrait (originale, 2023).

Inhibition de la dénaturation protéique de l'ovalbumine

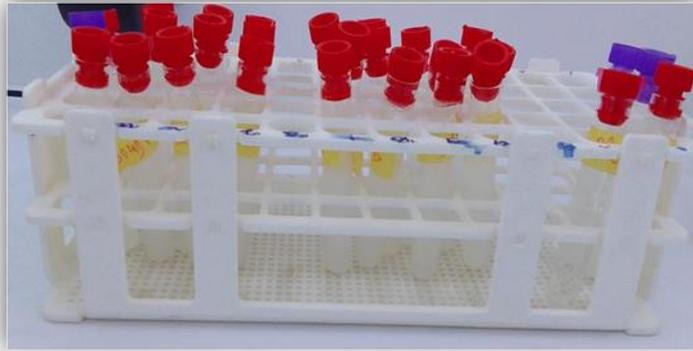


Photo 06 : Inhibition de la dénaturation protéique de l'ovalbumine (**originale, 2023**).

Annexe 02 : Appareillage et produits chimique

Pour réaliser cette étude, on a utilisé un ensemble d'équipements, de verreries, d'appareillages et de produits chimiques :

Produits:

- ✓ Trichlorure d'Aluminium $AlCl_3$.
- ✓ Les étalons poly-phénoliques (quercétine, acide gallique).
- ✓ Méthanol
- ✓ Carbonate de sodium (Na_2CO_3).
- ✓ Folin-Ciocalteu.
- ✓ DPPH (1,1-diphényle-2-picrylhydrazyle).
- ✓ Tampon phosphate K_2HPO_4 - KH_2PO_4
- ✓ Diclofénac (anti-inflammatoire).

Appareils et verreries:

- ✓ Spectrophotomètre UV-visible.
- ✓ PH-mètre.
- ✓ Etuve.
- ✓ Agitateur magnétique.
- ✓ Vortex.
- ✓ Micropipette.
- ✓ Centrifugeuse de laboratoire.
- ✓ Bain Marie.

- ✓ Différents verreries (tubes, bécher, entonnoirs, erlenmeyers...etc.).

Résumé

La résine de *Pinus halepensis* connu sous le nom vernaculaire « Elk el Snober » est l'une des substances végétales qui possède de nombreuses propriétés biologiques, largement utilisée en médecine traditionnelle Algérienne comme traitement de diverses maladies. La présente étude vise à l'estimation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes et l'évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de la résine de pin d'Alep. La teneur en polyphénols totaux est $92,067 \pm 0,343 \mu\text{g EAG}/\text{mg}$ d'extrait sec. La teneur en flavonoïdes est $10,903 \pm 0,752 \mu\text{g EQ}/\text{mg}$ d'extrait sec. L'effet antioxydant de l'extrait méthanolique de la résine de pin d'Alep testé *in vitro* en utilisant le test du DPPH, montre que cet extrait possède une forte activité scavenger de radical DPPH. L'extrait a révélé une activité antioxydante avec une IC_{50} de $0,2596 \pm 0,1200 \text{ mg}/\text{ml}$. L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par le test d'inhibition de dénaturation protéique de l'ovalbumine qui a révélé une importante inhibition significative de la dénaturation protéique. En conclusion, la résine de pin d'Alep pourrait être une source potentielle des composés bioactifs ayant un potentiel antioxydant et anti-inflammatoire.

Mots clés : Résine , *Pinus halepensis*, polyphénols, flavonoïdes, antioxydant , DPPH, activité anti-inflammatoire.

Abstract

Pinus halepensis resin known under the vernacular name "Elk el Snober" is one of the plant substances that has many biological properties, widely used in traditional Algerian medicine as a treatment for various diseases. The present study aims to estimate the content of polyphenols and flavonoids and the evaluation of the antioxidant and anti-inflammatory activity of the methanolic extract of Aleppo pine resin. The content of total polyphenols is $92.067 \pm 0.343 \mu\text{g EAG}/\text{mg}$ of dry extract. The flavonoid content is $10.903 \pm 0.752 \mu\text{g EQ}/\text{mg}$ dry extract. The antioxidant effect of the methanolic extract of Aleppo pine resin tested *in vitro* using the DPPH test, shows that this extract has a strong DPPH radical scavenger activity. The extract showed antioxidant activity with IC_{50} of $0.2596 \pm 0.1200 \text{ mg}/\text{ml}$. The anti-inflammatory activity was evaluated by the protein denaturation inhibition test of ovalbumin, which revealed a significant inhibition of protein denaturation. In conclusion, Aleppo pine resin could be a potential source of the compounds bioactives with antioxidant and anti-inflammatory potential.

Key words: Resin, *Pinus halepensis*, polyphenols, flavonoids, antioxidant, DPPH, anti-inflammatory activity.

ملخص

رانتج *Pinus halepensis* المعروف باسم العامية Elk el Snober هو احد المواد النباتية التي لها العديد من الخصائص البيولوجية , و تستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي الجزائري كعلاج لمختلف الامراض. تهدف الدراسة الحالية الى تقدير محتوى البوليفينول والفلافونويد وتقييم النشاط المضاد للاكسدة ومضاد الالتهاب للمستخلص الميثانولي لراتنج الصنوبر الحلبي. محتوى البوليفينول الكلي هو $92,067 \pm 0,343$ ميكروغرام / ملغ من المستخلص الجاف. محتوى الفلافونويد هو $10,903 \pm 0,752$ ميكروغرام / ملغ من المستخلص الجاف. يظهر التأثير المضاد للاكسدة للمستخلص الميثانولي لراتنج الصنوبر الحلبي، الذي تم اختباره في المختبر باستخدام اختبار DPPH، ان هذا المستخلص له نشاط مضاد جذري قوي ل DPPH. اظهر المستخلص نشاطا مضادا للاكسدة مع IC_{50} $0,2596 \pm 0,1200$ مجم / مل. تم تقييم النشاط المضاد للالتهابات من خلال اختبار تثبيط تخريب بنية البروتين المستخلص من زلال البيض و الذي اظهر تثبيط كبير لتخريب البروتين , و في الختام يمكن ان يكون رانتج الصنوبر الحلبي مصدرا محتملا للمركبات الحيوية النشطة بمضادات الاكسدة و مضادات الالتهاب.

الكلمات المفتاحية: رانتج *Pinus halepensis*, بوليفينول, فلافونويد, مضاد للاكسدة, نشاط مضاد للالتهابات, DPPH