

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE-BIOCHIMIE



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme Master
En Biotechnologie Microbienne



Thème

Étude des activités biologiques de la résine
du pin d'Alep contre les infections respiratoires

Réalisé par : M^{lle} HAMMAMI Ferroudja
M^{lle} TALBI Katia

Soutenu devant le jury composé de :

M^{me} LEKSIR C. Présidente Maître de Conférences classe B à l'UMMTO
M^{me} BRAHMI F. Examinatrice Maître de Conférences classe B à l'UMMTO
M^{me} BENAHMED DJILALI A. Promotrice Professeur à l'UMMTO

Année universitaire 2021 /2022

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier **Allah** tout puissant qui nous a donné la foi et la force, et nous a illuminé le chemin pour mener à bien notre étude.

Nos plus chaleureux et sincères remerciements vont en tout premier lieu à notre chère professeur **Mme Benahmed Djilali Adiba** qui a encadré ce travail, de nous avoir facilitée la réalisation de ce mémoire, en mettant à notre disposition tout ce dont nous avons besoin et pour les conseils avisés, ainsi pour ses orientations.

Ses connaissances scientifiques, et son encouragement nous ont vraiment beaucoup soutenues tout au long de ce travail.

Nos vifs remerciements, vont à l'égard des membres de jury en l'occurrence **Mme Leksir** qui nous a fait l'honneur de présider ce jury et **Mme Brahmí** qui a accepté d'apporter sa contribution en examinant notre travail.

Nous adressons nos reconnaissances aux **ingénieures des laboratoires physicochimiques et de Microbiologie**, pour leurs disponibilités et leurs gentillesse.

Nous tenons également à remercier la **maison du miel "Tamazirt"**, et le vendeur de la résine "**Herboriste de Amyoud**" à Tizi Ouzou, de nous avoir fournis assez d'informations, et de nous aider à choisir les meilleurs échantillons.

Enfin, nos remerciements s'adressent plus particulièrement à **nos familles et toute personne qui a participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.**



Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à ma mère qui été toujours à mes côtés
durant toutes les années des études, celle qui s'est toujours
sacrifiée pour me voir réussir,
aucune dédicace ne pourrait exprimer mes profonds sentiments envers
toi chère maman.*

*À la mémoire de mon cher père que DIEU le garde
dans son vaste paradis.*

À mes deux sœurs Dehbia et Sabrina

À mon frère Hakim

*À toi Katia, avec qui j'ai partagé ce modeste travail; chère amie
avant d'être binôme; on a partagé tellement de choses.*

À sa famille

*À tous ceux qui m'ont encouragé et soutenu tout au long de mes
études,*

À mes amis,

À toute personne qui m'est chère.

Ferroudja





Dédicace

*Au premier lieu, je remercie **Dieu** le tout puissant de m'avoir donné la volonté, le courage et la santé, pour que je réalise ce modeste travail.*

*Et avec un grand plaisir, que je dédie cet évènement marquant de ma vie, accompagné d'un profond amour à **mes parents**.*

*Quoi que je dise ou je fasse, je ne saurai point de te remercier comme il se doit **Maman**, qui me donne l'espoir de vivre, courage, volonté, et que tu n'as jamais cessé de prier pour moi.*

*À toi **Papa**, mon signe d'honneur et de fierté .Nul mot ne parviendra jamais d'exprimer l'amour que je te porte, ton souci, tes sacrifices, tes encouragements sont les gages de ma réussite.*

*Je souhaite que ce travail soit à vos yeux, le fruit de vos efforts, et un témoignage de ma **profonde affection**.*

*À mon bras droit, mon cher frère **MICKEL**, qui me soutient toujours et me donne la force de continuer et été à mes côtés.*

*À la flamme de mon cœur, **ma grand-mère**, je te souhaite une longue vie Inchallah.*

*Sans oublier mon binôme **Ferroudja**, que j'estime beaucoup, pour sa patience et sa gentillesse avec moi, et à sa famille aussi.*

*À toute ma famille **TALBI***

À tous ceux qui m'ont encouragé.

Katia



Liste des abréviations

AGMI : Acides Gras Mono Insaturés

AGPI : Acides Gras Poly Insaturés

AGS : Acides Gras Saturés

ATCC: American Type Culture Collection

CPG : Chromatographie Phase Gazeuse

DPPH: 2,2-DiPhényl-1-PicrylHydrazyl

DO : Densité Optique

EC: Equivalent de β - Carotène

EQ: Equivalent de la Quercetine

I-R: Infra-Rouge

LPV: Leucocidine de Panton-Valentine

MEB : Microscope Electronique à Balayage

MH: Mueller- Hinton

N : Normalité

SGA: *Streptocoques* du groupe A

pH : Potentiel Hydrogène

μ l : Microlitre

μ m : Micromètre

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 01 : Arbre du pin d'Alep (<i>Pinus halpensis</i> Mill) | 02 |
| Figure 02 : Différentes parties de l'arbre de pin d'Alep (<i>Pinus halpensis</i>) | 03 |
| Figure 03 : Méthode de gemmage traditionnelle | 06 |
| Figure 04 : Méthode de gemmage en vase clos | 06 |
| Figure 05 : la différence entre l'angine bactérienne et virale | 10 |
| Figure 06 : Aspect de la résine de pin d'Alep | 17 |
| Figure 07 : Appareil de la CPG | 27 |
| Figure 08 : extracteur soxhlet | 27 |
| Figure 09 : Appareil IR | 29 |
| Figure 10 : profil d'acides gras de la résine de pin d'Alep | 36 |
| Figure 11 : spectre IR global | 39 |
| Figure 12 : spectre IR du mucilage de la résine de pin d'Alep | 42 |
| Figure 13 : Aspect des mucilage extrait à partir de la résine de pin d'Alep | 42 |
| Figure 14 : Spectre IR du médicament (Amoxypen) | 44 |
| Figure 15 : Microstructure de la résine de pin d'Alep observée sous le MEB | 45 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I : Différentes matrices à base de la résine de pin d'Alep | 17 |
| Tableau II : Solutions préparées pour le dosage des flavonoïdes | 22 |
| Tableau III : Conditions chromatographiques..... | 27 |
| Tableau IV : Interprétation des zones d'inhibition..... | 31 |
| Tableau V : Résultats d'analyse photochimique de la résine de pin d'Alep | 32 |
| Tableau VI : Résultats des concentrations des substances bioactives (caroténoïdes et flavonoïdes) des différentes matrices de pin d'Alep | 33 |
| Tableau VII : Résultats d'analyses physico-chimiques de la résine et les matrices de pin d'Alep..... | 35 |
| Tableau VIII : Composition de la poudre de pin d'Alep en acides gras | 37 |
| Tableau IX : Résultats de l'activité anti-oxydante des matrices de la résine de pin d'Alep | 38 |
| Tableau X : les groupements fonctionnels des macéras et de la résine..... | 40 |
| Tableau XI : Groupements fonctionnels des mucilages de la résine de pin d'Alep..... | 43 |
| Tableau XII : Groupements fonctionnels du médicament "Amoxypen" | 44 |
| Tableau XIII : Diamètres des zones d'inhibition des extraits de la résine de pin d'Alep | 46 |
| Tableau XIV : Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques | 46 |

Table des matières

Remerciement

Dédicaces

Liste d'abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction générale 01

Chapitre I : Généralités sur le pin d'Alep

| | |
|-------------------------------------|----|
| 1. Description botanique | 02 |
| 2. Taxonomie..... | 03 |
| 3 .Noms usuels | 04 |
| 4 .Noms vernaculaires | 04 |
| 5. Répartition géographique | 04 |
| 5.1 .Dans le monde..... | 04 |
| 5.2 .En Algérie | 05 |
| 6. Résine | 05 |
| 6.1. Définition | 05 |
| 6.2. Caractéristiques | 05 |
| 6.3. Synthèse | 05 |
| 6.4. Méthodes d'extraction..... | 05 |
| 6.4.1. Méthode traditionnelle | 05 |
| 6.4.2. Méthode moderne..... | 06 |
| 7. Traitement de la résine | 07 |
| 7.1. Prétraitement | 07 |
| 7.2. Distillation..... | 07 |
| 8. Oléorésine..... | 07 |
| 8.1. Colophane..... | 07 |
| 8.2. Térébenthine..... | 08 |
| 9. Intérêts de la résine..... | 08 |

Chapitre II : Aperçu sur les infections respiratoires

| | |
|---|----|
| 1. Infections respiratoires | 09 |
| 2. Types des infections respiratoires | 09 |
| 2.1. Infections respiratoires hautes | 09 |
| 2.1.1. Angines..... | 09 |
| 2.1.2. Rhinopharyngites aiguës | 11 |
| 2.1.3. Otites moyennes aiguës | 11 |
| 2.1.4. Sinusites aiguës | 11 |
| 2.1.5. Laryngites aiguës..... | 11 |
| 2.2. Infections respiratoires basses | 12 |
| 2.2.1. Bronchites..... | 12 |
| 2.2.2. Broncho-pneumopathie | 12 |
| 2.2.3. Pneumonies | 12 |
| 3. Etiologie | 12 |
| 3.1. Virus | 12 |
| 3.2. Fongi..... | 12 |
| 3.3. Bactéries | 13 |
| 3.3.1. Cocci à Gram positif | 13 |
| 3.3.2. Bacille à Gram négatif..... | 13 |
| 4. Les facteurs favorisants | 14 |
| 5. La toux..... | 15 |

Chapitre III : Matériel et méthodes

| | |
|--|----|
| Cadre de l'étude..... | 16 |
| Étude ethnobotanique | 16 |
| 1. Matériel | 16 |
| 1.1. Matériel végétal..... | 16 |
| 2. Méthodes | 17 |
| 2.1. Préparation des matrices de la résine de pin d'Alep | 17 |
| 2.2. Analyses phytochimiques de la résine de pin d'Alep..... | 18 |
| 2.2.1. Préparation de l'infusion de pin d'Alep..... | 18 |
| 2.2.2. Recherche des anthocyanes | 18 |

| | |
|---|----|
| 2.2.3. Recherche des tannins | 18 |
| 2.2.4. Recherche des tannins galliques..... | 18 |
| 2.2.5. Recherche des flavonoïdes | 18 |
| 2.2.6. Recherche des saponosides | 19 |
| 2.2.7. Recherche des quinones libres | 19 |
| 2.2.8. Recherche des quinones combinées | 19 |
| 2.2.9. Recherche des glucosides..... | 19 |
| 2.2.10. Recherche des coumarines | 20 |
| 2.2.11. Recherche des sennosides | 20 |
| 3. Dosage des substances bioactives | 20 |
| 3.1. Extraction et dosage des mucilages..... | 20 |
| 3.2. Extraction et dosage des caroténoïdes..... | 21 |
| 3.3. Dosage des flavonoïdes | 21 |
| 4. Analyses physico-chimiques | 22 |
| 4.1. Détermination de l'acidité..... | 22 |
| 4.2. Détermination du potentiel d'Hydrogène (pH) | 23 |
| 4.3. Détermination de l'humidité | 23 |
| 4.4. Teneur en cendres..... | 24 |
| 4.5. Indice de gonflement..... | 25 |
| 5. Détermination des acides gras par CPG (Chromatographie Phase Gazeuse) | 25 |
| 5.1. Définition | 25 |
| 5.2. Méthode: Trans-estérification à froid au moyen d'une solution méthanolique d'hydroxyde de potassium..... | 26 |
| 6. Activité anti-oxydante | 28 |
| 7. Détermination des groupements fonctionnels par IR (Infra-Rouge)..... | 29 |
| 8. Détermination de la microstructure par le MEB | 30 |
| 9. Activité antimicrobienne | 30 |

Chapitre IV : Résultats et discussion

| | |
|--|----|
| Résultats de l'étude ethnobotanique..... | 32 |
| 1. Résultats d'analyses phytochimiques de la résine du pin d'Alep..... | 32 |
| 2. Résultats du dosage des substances bioactives..... | 33 |

| | |
|--|----|
| 2.1. Résultat des mucilages | 33 |
| 2.2. Résultats des composés nutraceutiques | 33 |
| 3. Résultats d'analyses physico-chimiques de la résine du pin d'Alep..... | 35 |
| 4. Résultats du profil d'acides gras de la poudre de la résine de pin d'Alep (CPG) | 36 |
| 5. Résultats de l'activité antioxydante..... | 38 |
| 6. Résultats d'analyse Infra Rouge..... | 39 |
| 6.1. Analyse globale | 39 |
| 6.2. IR du mucilage de la résine de pin d'Alep | 41 |
| 6.3. IR du médicament (Amoxypen) | 43 |
| 7. Résultats de la microstructure de la poudre de pin d'Alep | 45 |
| 8. Activité antimicrobienne | 46 |

| | |
|---------------------------------|-----------|
| Conclusion générale..... | 48 |
|---------------------------------|-----------|

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

Cette étude a permis la mise en évidence des composés nutraceutiques (flavonoïdes, caroténoïdes, mucilages et acides gras) et phytochimiques, de la poudre de résine pin d'Alep. De plus, quatre matrices à base de résine de pin d'Alep ont été élaborées en utilisant l'eau, l'éthanol, le miel du jujubier et l'huile d'olive. Les mêmes composés nutraceutiques de ces matrices, ont été quantifiés.

L'activité antimicrobienne des quatre matrices à base de résine de pin d'Alep, a été évaluée vis-à-vis de deux souches de *S. aureus* de référence responsables de la toux. De même l'évaluation de leurs activités anti-oxydantes.

La résine de pin d'Alep possède des composés phytochimiques (flavonoïdes, tannins, saponosides triterpéniques, quinones libres et combinés, glucosides, coumarines et sennosides). En effet, les caroténoïdes sont présents à forte concentration dans l'extrait éthanolique ($224,53 \pm 0,08$ mg EC/g d'extrait), en comparaison avec les flavonoïdes qui sont présents à faible concentration dans le même extrait ($15,49 \pm 0,05$ mg EQ/g d'extrait). Elle se caractérise par un pH acide proche de neutralité ($\text{pH} = 6 \pm 0$), par contre les matrices élaborées à base de cette résine présentent un pH acide qui varie de 4,3 à 4,7.

Elle est aussi caractérisée par la présence d'acides gras saturés en grande majorité (74,63%), accompagnés d'autres acides gras à des teneurs relativement faibles: acides gras mono-insaturés (9%), et acides gras polyinsaturés (1%).

Cette résine présente une microstructure composée de particules irrégulières non poreuses de tailles différentes, qui ressemblent à la structure des polymères.

La matrice miel à base de la résine de pin d'Alep possède un pouvoir antioxydant supérieur (60 ± 0 %) à ceux des autres matrices.

La spectroscopie Infra-Rouge nous a permis de détecter les différents groupements fonctionnels de la résine et ses matrices.

Seuls l'extrait éthanolique de la résine de pin d'Alep et le miel à base de la résine ont présenté une activité antimicrobienne contre les deux souches *Staphylococcus aureus* Mu50 et *Staphylococcus aureus* ATCC25923 avec des zones d'inhibition respectivement :

($1,7 \pm 0,15$ cm et $1,3 \pm 0$ cm contre *S. aureus* Mu50) et ($1,8 \pm 0,14$ cm et $1,8 \pm 0,17$ cm contre *S. aureus* ATCC 25923).

Mots clés : résine pin d'Alep, composés nutraceutiques, activité antioxydante, activité antimicrobienne, matrice fonctionnelle.

Abstract

This study has allowed the identification of nutraceutical compounds (flavonoids, carotenoids, mucilages and fatty acids) and phytochemicals of Aleppo pine resin powder. In addition, four matrices based on Aleppo pine were developed using water, ethanol, jujube honey and olive oil. The same nutraceutical compounds of these matrices were quantified. The antimicrobial activity of the four matrices of Aleppo pine resin powder was evaluated against two reference strains of *S. aureus* responsible for cough. Similarly the evaluation of their antioxidant activities.

Aleppo pine resin has phytochemical compounds (flavonoids, tannins, triterpenic saponosides, free and combined quinones, glucosides, coumarins and sennosides). Indeed, carotenoids are present in high concentration in the ethanolic extract ($224, 53 \pm 0, 08$ mg EC/g extract), compared to flavonoids which are present in low concentration in the same extract ($15, 49 \pm 0, 05$ mg EQ/g extract). It is characterized by an acidic pH close to neutrality ($\text{pH}=6 \pm 0$), on the other hand the matrices elaborated on the basis of this resin present an acidic pH which varies from 4,3 to 4,7.

It is also characterized by the presence of saturated fatty acids in large majority (74, 63%), accompanied by other fatty acids at relatively low levels: monounsaturated fatty acids (9%), and polyunsaturated fatty acids (1%).

This resin has a microstructure composed of irregular non-porous particles of different sizes, which resemble the structure of polymers.

The honey matrix based on Aleppo pine resin has a higher antioxidant power ($60 \pm 0\%$) than other matrices.

The Infrared spectroscopy allowed us to detect the different functional groups of the resin and its matrices.

Only the ethanolic extract of the Aleppo pine resin and the honey based on the resin showed antimicrobial activity against the two strains *Staphylococcus aureus* Mu50 and *Staphylococcus aureus* ATCC25923 with inhibition zones respectively: ($1,7 \pm 0,15$ cm and $1,3 \pm 0$ cm against *S. aureus* Mu50) and ($1,8 \pm 0,14$ cm and $1,8 \pm 0,17$ cm against *S. aureus* ATCC 25923).

Keywords: Aleppo pine resin, nutraceutical compounds, antioxidant activity, antimicrobial activity.

Introduction générale

Introduction générale

Depuis des siècles, l'homme a utilisé des plantes issues de la nature comme un remède de maladies d'environ de 80% de la population mondiale (Mansour, 2015 ; Belhouchet et Rabie, 2021). L'essor de ces plantes médicinales est important pour la recherche d'agents thérapeutiques pour la fabrication de médicaments par des techniques modernes et traditionnelles (OMS, 2003 ; El Hilah et *al.* 2015).

De ce fait, 75% de médicaments synthétisés sont à la base d'une matière végétale, et 25% d'entre eux, contiennent au moins une des molécules végétales (Addossides, 2003).

L'Algérie est connue par sa diversité et sa richesse en plantes médicinales, parmi ces plantes on trouve *Pinus halpensis*, communément appelée " pin d'Alep" qui appartient à la famille des *Pinaceae* (Lacreb, 2022). Cette espèce produit une résine liposoluble constituée de composés phénoliques et terpénoïdes, issus de structures spécialisées de la plante (Langenheim, 2003). Cette résine est synthétisée initialement par l'arbre, suite aux attaques des herbivores et des microbes, comme système de défense (Mohamed Ghanmi et *al.* 2006).

Elle est utilisée dans le domaine médical surtout en médecine traditionnelle, comme antiseptique des voies respiratoires, urinaires, analgésiques, et antimicrobiennes (Motto-Florac, 2000). Ses vertus thérapeutiques sont dues à sa richesse en composés nutraceutiques.

A cet effet, nous nous sommes intéressées à étudier l'efficacité de cette résine contre certaines infections respiratoires telles que l'angine et la toux.

L'objectif principal de ce travail est d'élaborer des matrices fonctionnelles à base de cette résine et de caractériser leurs propriétés biochimiques et biologiques (antimicrobiennes et antioxydantes).

Ce mémoire comporte deux parties: une partie théorique qui s'étale sur les propriétés de la résine de pin d'Alep et les infections respiratoires.

La partie expérimentale, comporte matériel et méthodes, résultats et leur discussion. Et en fin, nous terminerons notre étude par une conclusion et perspectives.

Chapitre I :
Généralités sur le pin d'Alep

1. Description botanique

Pinus halepensis est un arbre forestier résineux de 20 à 30 m de hauteur (Figure 01), son tronc est tortueux droit ou penché (Ladjal, 2012). La longévité de cet arbre ne dépassant pas 150 ans (Seigue, 1985).

Son écorce est lisse de couleur argentée se fissure et devient crevacée avec l'âge. Ses rameaux sont verts, puis deviennent gris clair avec l'âge. Ses bourgeons sont bruns, non résineux, aigus possèdent des écailles (Kadik, 1987). Ses aiguilles (ou les feuilles) mesurent de 5 à 10 cm de longueur et une largeur très fine (<1 mm) de couleur verte jaunâtre. Elles sont lisses groupées par deux en pinceaux à l'extrémité des Rameaux (Nahal, 1962). Ses cônes mâles mesurent entre 6 à 7 cm (Nahal, 1986), ils sont responsables de la production du pollen (jaune orangé). Cependant, les cônes femelles sont longs allant de 8 cm jusqu'à 12 cm, de couleur rouge brun et pédonculés (Ladjal, 2012). Ses graines grises d'environ 7 mm (Nahal, 1962) appelées " Zgougou", elles sont comestibles (Dahman, 1986). Son bois est utilisé comme matériel de construction et aussi pour la fabrication de pâte à papier.

Sa résine sécrétée servant à la cicatrisation des blessures de cet arbre (Venet, 1986). Sa quantité est en fonction du nombre et de la taille des canaux résinifères, et du diamètre de tige. D'autres facteurs tels que l'humidité et les conditions atmosphériques, peuvent aussi influencer la quantité de la résine (Pallardy, 2008). Les composés chimiques de la résine de pin d'Alep sont très variables selon les provenances. On trouve le 3-carène (Baradat et al. 1972), les diterpènes bicycliques, les tricycliques et les macrocycliques (Tumen et Reunanen, 2010).



Figure 01 : Arbre du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill) (Seladji, 2014).



Figure 02 : Différentes parties de l'arbre de pin d'Alep (*Pinus halepensis*)
 A: ramaux ; B: feuilles ; C: cônes ; D: graines (Bouazza, 2013 ; Talbi, 2019).

2. Taxonomie

Le pin d'Alep appartient au genre *Pinus*, qui fait partie de la famille des *Pinaceae* (Djerrad et al. 2015). Il est divisé en trois sous genres, qui comportent des sections (Guit, 2015) avec 800 espèces (Kadri et al. 2015).

Le mot *Pinus* est Indo-Européen, provient de <<pit>> qui signifie une résine (Judd et al. 2002 ; Jacues Brosse, 2003).

Pinus halepensis Mill, a été désignée par le botaniste (Philip Miller) en 1768. Communément appelée pin d'Alep ou pin blanc, qui est une espèce très répandue sur le bassin méditerranéen (Ladjal, 2012).

✚ La taxonomie de pin d'Alep est décrite comme suit :

Règne : *Plante*

Embranchement : *Spermaphytes* (Phanérogames)

Sous-embranchement : *Gymnospermes*

Classe : *Pinopsida*

Ordre : Pinale

Famille : *Pinacea*

Sous-famille : *Pinoidée*

Genre : *Pinus*

Sous-genre : *Pinus*

Espèce : *Pinus halepensis* Mill (Seladji, 2014).

3. Noms usuels

On trouve plusieurs appellations selon les pays.

- En France: le pin d'Alep est appelé pin de Jérusalem ou pin blanc (Nahal, 1962)
- En pays Arabes: Sanawbar Halabi ;
- En Angleterre: Jerusalem pine; Aleppo pine ;
- En Berbère: Tayada (Bouazza, 2013) ;
- En Espagnol: Pincarrasco, Pinoblanquillo, Pin bord, Pi blanc.

4. Noms vernaculaires

- Sanawbar en Arabe ;
- Azounbi en kabyle (Amari et Mechouche, 2017).

5. Répartition géographique

5.1. Dans le monde

Pinus halepensis est disponible dans le bassin occidental de la Méditerranée à l'exception de l'Égypte, l'Europe, et l'Afrique du Nord. Cet arbre est abondant en Algérie, en Tunisie et au Maroc (Nahal, 1986). Il occupe une superficie estimée de 2.5 millions d'hectares dans la région méditerranéenne (Quezel, 2000).

En Tunisie par exemple, il couvre environ 370.000 ha de la surface arboricole, alors qu'au Maroc il occupe une superficie de 65.000 ha répartit dans le Rif, le moyen et le haut de l'Atlas (Ammari et al. 2001).

En France, cet arbre couvre des surfaces qui dépassent 36.000 ha et qui peuvent atteindre jusqu'à 232.000 ha (Brochiero et al. 1999), alors qu'en Italie la surface totale qu'il occupe est estimée de 20.000 ha (Pardé, 1957 ; Haffane, 1982).

5.2. En Algérie

En Algérie, la superficie du sol occupée par le pin d'Alep est estimée de 1 1585 333 ha, c'est à dire environ 35 % de la surface arboricole. Cet arbre est assez répandu en Est et en Ouest, tout en passant par le centre. Dans la région de l'Est, il s'est développé dans les forêts des monts de Tébessa et des Aurès. Dans la région du centre, il se localise au niveau des forêts d'Ouarsenis. En Ouest, il est très bien représenté dans les zones suivantes : Mascara, Sidi Bel Abbas, les montagnes boisées de Saïda, et l'Atlas saharien, dans les forêts des monts Ouled Nail, près de Djelfa et Djebel Amour, près d'Aflou (Lakreb, 2022).

6. Résine

6.1. Définition

La résine de pin d'Alep, appelée aussi la gemme (Ravelonirina, 2022) est un ensemble d'acides résiniques, synthétisés dans des canaux résinifères, puis stockés par l'arbre (Joye et Lawrence, 1967).

6.2. Caractéristiques

La résine de pin d'Alep est une substance riche en cannabinoïdes et terpènes. Elle s'écoule d'abord fluide, puis se solidifie en contact avec l'air sous forme d'une masse solide, cassante, jaunâtre et translucide. Elle est insoluble dans l'éther de pétrole, mais soluble dans l'alcool (Modugno et *al.* 2009).

6.3. Synthèse

Généralement, la sécrétion de la résine se fait en hiver (Lorio, 1986). Un abaissement de la température augmente la viscosité de la résine, ce qui génère un flux moindre (Blanche et *al.* 1992).

Au cours de la journée, un flux maximal de la résine s'écoule à l'aube, puis il diminue vers l'après-midi, avec la diminution de la teneur en eau dans le tronc (Pallardy, 2008). La quantité de gemme du Pin produite est estimée de 3Kg/arbre/an (Bouazza, 2013).

6.4. Méthodes d'extraction

6.4.1. Méthode traditionnelle

Le gemmage est une technique d'extraction de la résine à partir des arbres de pin d'Alep âgés de 30 ans (Rodrigues-Garcla et *al.* 2014). Selon le « Système de Hugos », breveté

en 1844, le gemmage consiste à réaliser une blessure à l'aide d'un outil (hâpshot) au niveau de l'écorce de l'arbre. La gemme s'écoule vers un pot placé en bas de la care, et coincé par un clou et une lamelle en Zinc (Figure 03).

A la fin de l'extraction, l'acide sulfurique est appliqué sur la surface de la blessure, ce qui empêche sa cicatrisation, et renforce sa biosynthèse (Verma et Pant, 1978 ; Rodrigues et Fett-Neto, 2009).



Figure 03 : Méthode de gemmage traditionnelle (Fancès, 2019)

6.4.2. Méthode moderne

Il s'agit d'une récolte dans un récipient en plastique clos (Figure 04) fixé à l'entaille afin d'éviter l'oxydation de la résine avec l'air (Holiste, 2017). Un pique sera réalisé à l'aide d'une perceuse équipée avec une scie à cloche. A la fin un acide organique naturel est appliqué au lieu de l'acide sulfurique, afin de protéger l'arbre (Bernad-Dagan, 1988).



Figure 04 : Méthode de gemmage en vase clos (Fancès, 2019).

7. Traitement de la résine

7.1. Prétraitement

La gemme ne peut être valorisée dès sa récolte (Courau, 1999). Elle va être fondue et filtrée par une méthode adéquate, afin d'éliminer les impuretés solides et minérales (écorces, poussière, etc.) (Mohamed Ghanmi et *al.* 2013). Le filtrat obtenu va subir trois essais d'hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (Clevenger, 1928).

7.2. Distillation

La distillation a pour but de séparer la colophane de l'essence de térébenthine (Courau, 1999). Plusieurs modes de distillation ont été adoptés à savoir : la distillation à la vapeur du bois brut, la distillation des coproduits obtenus lors du procédé kraft, et la distillation destructive du bois par combustion) (Masten et *al.* 2002), mais l'hydrodistillation est la méthode la plus utilisée (Tumen et Reunanen, 2010).

L'hydrodistillation est une opération qui repose sur le dépôt de la résine dans un montage de distillation à une température de 110 °C, puis faire introduire progressivement une vapeur sous pression à travers des soupapes de recharge, tout en augmentant la température de manière constante, jusqu'à ce que cette dernière atteint une valeur autour de 160 - 170 °C.

Les vapeurs de térébenthine s'accompagnent des vapeurs d'eau, et seront ensuite piégées lors de leurs passage, c'est là alors qu'on lui enlève toute résine résiduelle. La dernière étape consiste à condenser ces vapeurs dans un condenseur refroidi à l'eau (Coppen et Hone, 1995). L'essence de térébenthine est donc séparée du résidu non distillée : la colophane (Fancès, 2019).

8. Oléorésine

Est un mélange condensé d'une fraction non volatile dite colophane et une fraction volatile qui est la térébenthine (Rubini et *al.* 2022).

8.1. Colophane

Est une fraction solide, non volatile, fragile, vitreuse, translucide, de couleur jaune clair vers marron. Cette fraction représente 70% de la masse initiale de la gemme (Coppen et Hone, 1995). Elle est insoluble dans l'eau, et soluble dans le méthanol, l'éthanol, et l'acétone. La colophane contient deux principaux acides résiniques : les pimaranes, et les abiétanes (Rezzi et *al.* 2005).

Cette fraction est utilisée en chimie (Neis et *al.* 2019b), comme polymère antibactérien (Kanerva et *al.* 2019) ou dans l'emballage (Narayanan et *al.* 2017).

8.2. Térébenthine

Est un produit liquide, volatil d'odeur caractéristique, utilisé à l'état pure ou mélangée, dans différents domaines (cosmétique ou industriel) (Ravelonirina, 2022). Il représente 20 à 30 % de la résine récoltée après distillation, formé de composés terpéniques ($C_{10}H_{16}$) (Tumen and Reunanen, 2010). La teneur en ces composés varie selon l'espèce, la situation géographique, et la technique de distillation (Ghanmi et *al.* 2007).

La térébenthine a une activité antifongique et antimicrobienne (Philips et Croteau, 1999 ; Ulukanli et *al.* 2014). Elle a été employée dans le passé en médecine pour traiter le rhumatisme, les sciatiques, les cystites ou encore les névralgies (Tumen et Reunanen, 2010), comme solvant, et en phytothérapie (Gülçin et *al.* 2003 ; Chen et *al.* 2015 ; Holiste, 2017), et comme additif dans les carburants (Karthikeyan et Mahalakshim, 2007 ; Vallinayagam et *al.* 2017 ; Dubey et Gupta, 2018).

9. Intérêts de la résine

- ✓ La poudre de la résine, est utilisée pour le traitement de maladies respiratoires comme l'asthme, la bronchite, et la toux (Kizilarслан et Sevgi, 2013).
- ✓ En médecine traditionnelle algérienne, la résine de pin d'Alep est considérée comme antiseptique puissant. Elle a des formes d'usages externes et internes.

Pour les usages externes, elle est utilisée afin de prévenir et de traiter les maladies infectieuses respiratoires, pulmonaires, grippe, rhumatisme, maladies infectieuses fongiques, et la sinusite, en la mélangeant soit avec le miel ou l'huile d'olive, puis l'appliquer sur le dos, la poitrine ou sur les parties infectées.

Pour les usages internes, elle est incorporée à l'état liquide dans l'huile d'olive, ou bien à l'état solide dans le miel. L'administration de ces mélanges se fait une fois par jour (Boulâacheb, 2010).

Chapitre II
Aperçu sur les infections
respiratoires

1. Infections respiratoires

Les infections respiratoires se placent au deuxième rang des principales causes de mortalité des enfants (après les diarrhées), dans les pays en développement. Dans le monde, les estimations indiquent que 2.000.000 d'enfants meurent chaque année à cause de ce type d'infections. De ce fait, les infections respiratoires comptent parmi les grands problèmes de santé publique (Ramdani-Bougoussa et al. 2005 ; Sanogo, 2010).

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (1990), une infection est dite respiratoire, lorsque elle atteint les voies aériennes inférieures et/ou supérieures. Une telle infection, peut être causée par une bactérie, un virus ou même par un champignon (Zanzoul, 2011).

Selon les parties infectées (inférieures ou supérieures), deux types d'infections respiratoires sont distinguées: les infections hautes ou basses (Dorin, 2012).

Les infections respiratoires hautes, touchent les fosses nasales, le pharynx et le larynx (autrement dite les voies aériennes supérieures). Elles incluent les Angines, Rhinopharyngites, otites moyennes, sinusites et laryngites (Sanogo, 2010).

Les infections respiratoires basses affectent les voies respiratoires allant de la trachée aux alvéoles pulmonaires. Elles comprennent la bronchite aiguë, l'exacerbation aiguë de bronchite chronique, la pneumonie et la bronchiolite du nourrisson (Leophonte, 1999).

2. Types des infections respiratoires

2.1. Infections respiratoires hautes

2.1.1. Angines

L'angine est une infection de gorge, plus précisément au niveau des amygdales, et peut s'étendre sur le pharynx, elle est fréquente chez les enfants et les adolescents (Bourillon et Benoist, 2011).

Les angines sont majoritairement provoquées par des virus (60% à 90%), tel que les virus Influenza, Adénovirus... (Bisno Al, 1996).

Quand il s'agit d'une angine d'origine bactérienne, la bactérie principalement retrouvée est le *Streptocoque* du groupe A (SGA), cependant, d'autres bactéries peuvent être impliquées, comme *Staphylococcus aureus*, *Neisseria sp.*, *Bacteroides*, *Haemophilus influenzae* (Pessey, 2008).

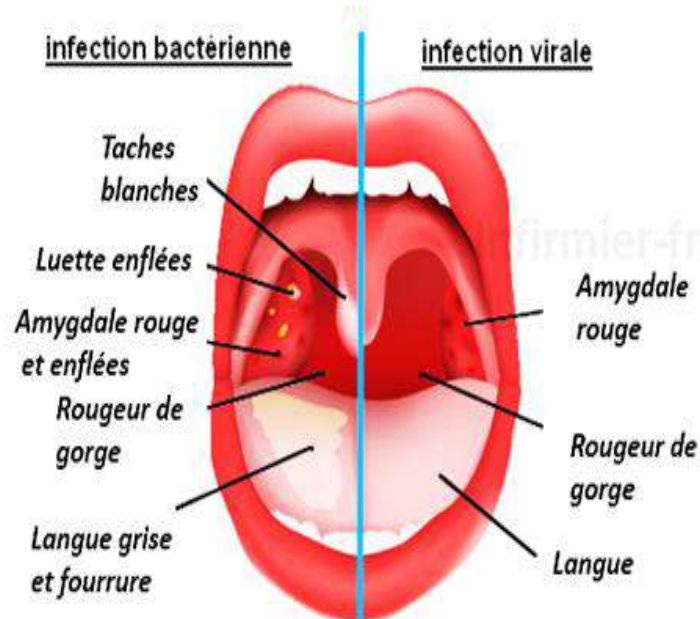


Figure 05 : La différence entre l'angine bactérienne et virale (Hunter, 2015).

Il existe plusieurs types d'angines :

- ✓ Angines rouges (érythémateuses) ;
- ✓ Angines blanches (érythémato-pultacées) ;
- ✓ Angines pseudomembraneuses (à fausses membranes) ;
- ✓ Angines herpétiques ;
- ✓ Angines ulcéreuses et nécrotiques ;
- ✓ Angine vésiculaire ;
- ✓ Angines gangréneuses nécrosantes (Ballorini, 2014 ; Cuisnier, 2002).

La personne atteinte de l'angine est reconnue par l'apparition de certains symptômes communs, comme la fièvre, gêne douloureuse à la déglutition, changement de l'aspect du l'oropharynx. Il existe d'autres symptômes indicateurs, tel que les douleurs abdominales, éruption, et quelques signes respiratoires (la toux, gêne respiratoire, enrouement, rhinorrhée...) (Debry et al. 2011).

Généralement, dans le cas d'une angine, on fait appel aux antibiotiques : la Pénicilline pendant 10 jours car elle a un spectre vaste, et une efficacité qui dépasse parfois les antibiotiques utilisés dans le cas d'angines *Streptococciques*, ou l'Amoxicilline qui appartient à la famille de β -lactamines, du groupe des pénicillines A, ou amino-pénicillines, considéré comme antibactérien et bactéricide. Ce médicament est employé pour le traitement des infections relatives aux germes suivants (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus fecalis*, *Clostridium sp*, *Leptospira*, *Treponema*, *Borrelia*, *Actinomyces*) (Humair, 2013 ; Dictionnaire SAIDAL, 2005).

2.1.2. Rhinopharyngites aiguës

C'est une inflammation virale de la partie supérieure du pharynx. Elle peut être également causée par une bactérie, dans ce cas, elles sont le plus souvent causées par *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* : ces germes peuvent être aussi à l'origine d'otites et de sinusites. Les rhinopharyngites aiguës affectent environ 25 millions de personnes chaque année. (Mauffrey, 2012 ; Aubry et Gaüzère, 2022).

2.1.3. Otites moyennes aiguës

C'est une infection virale, parfois bactérienne de l'oreille moyenne. Dans le cas d'une infection bactérienne, elle est liée notamment aux germes suivants: *Haemophilus influenzae* et *Streptococcus pneumoniae* et *Moraxella catarrhalis* (Monnot, 2014; Aubruchet, 2016).

2.1.4. Sinusites aiguës

C'est l'inflammation qui touche les cavités osseuses du visage et du crâne (ces parties sont appelées sinus) (UNICEF, 2002).

Elles se produisent soit par voie nasale ou bien par voie dentaire. Les bactéries susceptibles de provoquer une sinusite aiguë sont: *Pneumocoque* ; *Streptocoque*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* et *Staphylocoque* (Traore, 2010; Chaboud, 2018).

2.1.5. Laryngites aiguës

La laryngite aiguë correspond à une inflammation au niveau du larynx (Hamza, 2016), qui est due à une infection soit par une bactérie : c'est le cas le plus fréquent; soit par un virus. La majorité des laryngites d'origine bactérienne sont causées par : *B. catarrhalis*, *H. influenzae*, *Pneumocoque*, *streptocoques*, *staphylocoque*... (Allard-Bain, 2017).

2.2. Infections respiratoires basses

2.2.1. Bronchites

Le plus souvent est une infection virale, de l'arbre trachéo- bronchite, par *virus influenzae A* et *B*, *virus para- influenzae*. En outre, les bactéries peuvent être en causes, telles que *Clamidia pneumonia*, *Mycoplasma pneumoniae*, et *Bordeletta pertussis* provoquant la coqueluche (toux sévère dans la nuit) (Aubry et Gaüzère, 2022).

2.2.2. Broncho-pneumopathie

C'est une infection pulmonaire irréversible chroniques des voies respiratoires basses, qui résulte essentiellement du tabac, ou du développement d'agents bactériens tels que : *Sreptococcus pneumonia*, *Hamophilus influenzae*, *Moraxella catharallis* (Khaiti, 1983 ; Yapo et al. 2012).

2.2.3. Pneumonies

Ce sont des maladies complexes provoquées par l'évolution d'agents infectieux tels que *Streptococcus pneumoniae* (30-50% des cas), *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, et *Legionella pneumophila*, au niveau des tissus pulmonaires, induisant la fièvre, la toux, des douleurs thoraciques, la dyspnée... chez les personnes atteintes de la maladie (Dao, 1997 ; Yapo, 2012).

3. Etiologie

3.1. Virus

Les virus responsables des infections respiratoires, ciblent et prolifèrent les organes de l'appareil respiratoire comme hôte, tels que les *virus influenza*, *Paramyxoviridae*, *Virus respiratoire syncytial*, *Métapneumovirus humain* et *Coronavirus* (Dorin, 2012 ; Monand-Joubert et al. 2017).

3.2. Fongi

Différentes espèces fongiques pathogènes, persistent et infectent les poumons suite à des inhalations ou des disséminations hématogènes (Eddaoudi, 2016).

3.3. Bactéries

Parmi les bactéries les plus fréquentes de l'étiologie des infections respiratoire basses : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Actinobacter sp.* , *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* ... etc. (Konaté et al. 2022).

Après leurs adhésions aux tissus, elles les détruisent avec la formation de lésions par production de toxines bactériennes, et de facteurs inflammatoires, par les neutrophiles et les macrophages (Collège Français des Pathologistes (CoPath), 2012).

3.3.1. Cocci à Gram positif

a. *Streptococcus pneumoniae*

Est un germe sensible, aéro- anaérobie, difficile à cultiver (Manzano, 2009 ; Lupien, 2015). Le *Streptocoque* est un important agent pathogène chez l'humain, impliqué dans l'étiologie des pneumopathies. Il se transmet par voies aériennes (Avril et al. 1992).

b. *Streptococcus β Hémolytiques*

Ce sont des coques à Gram+, aéro-anaérobies facultatives. Généralement, les souches du séro-groupe A, sont parmi les plus fréquentes étiologies des infections respiratoires, en synthétisant des toxines hémolytiques (streptolysines O et S) qui ciblent la membrane cytoplasmique, et détruisent les cellules sensibles (Heraud, 1982).

c. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie coque, Gram positif, de 0,5 à 1µm de diamètre. Immobile, non sporulante, coagulase et catalase positif, aéro-anaérobie facultatif (Leung, 2014). Elle appartient au branchement des *Firmicutes*, et se trouve dans les cavités nasales d'environ 30% de personnes (Mais Maree et al. 2022).

Staphylococcus aureus est parmi les plus fréquents agents pathogènes qui provoquent des infections toxiques chez l'homme. En outre, cette souche situe un sujet d'actualité, causante des infections respiratoires et des Pneumonies nécrosantes, associées à la production de toxines sèvres tel que Leucocidine de Panton-Valentine (LPV), qui se propagent par comorbidité chez les personnes âgées en période post-grippal. *S. aureus*, représente ainsi, 20 à 30% de pneumopathies nosocomiales (Valour et al. 2013).

3.3.2. Bacille à Gram négatif

a. *Haemophilus influenza*

Est la flore commensale des voies respiratoires supérieures (Tiecoura, 2011). Elle est peu observée dans la muqueuse buccale, la surface de la muqueuse vaginale, et de la salive.

Hamemophilus, est la principale cause des infections ORL, et rarement des pneumonies aiguës (OMS, 2018).

b. Entérobactéries

Ce sont des Gram négatives, aérobies ou anaérobies facultatives, qui causent des infections pulmonaires nosocomiales. On distingue essentiellement: *Escherichia coli*, *Klepsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Poteus mirsbilis*, (Singleton et al. 1987).

c. Pseudomonas

Le genre *Pseudomonas* est impliqué dans la manifestation des pneumopathies, qui peuvent se transformer à une affection du sang (septicémie), tel que *Pseudomonas aeruginosa*, responsable de la surinfection des bronches, suite à la production de facteurs de virulence (Youenn, 2014).

d. *Ligionella pneumophila*

Sont des bactéries aquatiques banales, représentent 0,5 à 5% des pneumonies létales. Les pneumopathies légionnaires, sont des maladies à déclaration obligatoire (Avril et al. 1992 ; Berche, 2003).

e. *Bordetella pertussis*

Est un bacille à Gram négatif. L'homme est le seul réservoir de ce germe, qui se transforme par les voies aériennes (Berche, 2003 ; Avril et al. 1992).

4. Les facteurs favorisants

- ✓ La saison et le climat : il y'a une forte corrélation entre la baisse de température, l'humidité et l'augmentation de nombre de personnes atteintes des infections respiratoires (Pilly, 1994).
- ✓ Age : les infections respiratoires font partie des maladies les plus courantes chez les enfants.
- ✓ Le sexe : les infections respiratoires touche davantage les hommes.
- ✓ L'état immunologique: généralement, les personnes qui souffrent d'une immunodéficience ont tendance à contracter des infections à répétition.
- ✓ Des facteurs environnementaux : la fumée du tabac, l'exposition à la pollution de l'air et d'autres facteurs, peuvent entraîner différentes infections respiratoires.
- ✓ Les conditions de vie : la vie en collectivité, bas niveau d'éducation, pauvreté...ce sont tous des facteurs qui favorisent la propagation des infections respiratoires aiguës (Aubry et Gaüzère, 2022).

5. La toux

La toux est un symptôme fréquent lors d'une infection respiratoire, notamment pour l'angine. C'est un symptôme clinique, qui a pour but de protéger les voies aériennes vis à vis des corps étrangers, et de les libérer en expulsant les sécrétions produites (Moinard et Manier, 2000). Généralement, au niveau du larynx et des voies aériennes inférieures, se trouvent des structures éternuées (du nerf vague), à partir de là, la toux se déclenche (Widdicombe, 1995 ; Delacourt, 2001).

Elle peut être causée par une infection, ou par divers facteurs environnementaux (pollution atmosphériques, poussières, gaz, la fumée...) (Smeltzer et Bare, 1992).

Selon la durée, trois situations cliniques de la toux sont reconnues: la toux est dite aiguë lorsqu'elle dure moins de 3 semaines, subaiguë si elle dure entre 3 et 8 semaines, au-delà, elle est chronique (Espinosa et *al.* 2014).

Des antitussifs sont recommandés dans le cas d'une toux sèche irritante de la gorge, à une dose suffisante, pendant une courte durée. Ils se trouvent sous forme de comprimés, pâtes à mâcher, mais le plus souvent sous forme de sirops (Gazengel et Orecchioni, 1999).

Chapitre III
Matériel et méthodes

Cadre de l'étude

Ce travail a été réalisé au niveau des laboratoires Physico-Chimique (I et II), et de Microbiologie, de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. La période de réalisation s'étale de 16 Mars 2022 jusqu'au 28 Juin 2022.

Au cours de notre étude nous avons réalisé les expérimentations suivantes:

1. Formulation de quatre matrices fonctionnelles à base de la résine de pin d'Alep : l'huile d'olive, le miel, l'eau distillée, et l'éthanol conservées à température ambiante et à l'obscurité pendant un mois et demi ;
2. Analyses phytochimiques de la poudre de la résine de pin d'Alep ;
3. Dosage des composés nutraceutiques (mucilages, caroténoïdes, flavonoïdes, et acides gras essentiels) de la résine de pin d'Alep ;
4. Analyses physico-chimiques de la résine et ses matrices ;
5. Étude des activités biologiques (activité antioxydante et activité antimicrobienne) des différentes matrices élaborées ;
6. Analyse des groupements fonctionnels de la résine et ses matrices ;
7. Analyse de la microstructure par le MEB de la résine de pin d'Alep.

Étude ethnobotanique

L'étude ethnobotanique a été réalisée sur 50 personnes de différents âges et professions, dans la wilaya de Tizi Ouzou, dans les régions suivantes : Yatafene (village Ait Saada), Akbil (village Ait Ouabane), Ain El Hemmam, durant le mois de Mai et juin 2022.

Cette étude a été menée dans le but de se renseigner, et de réunir des informations concernant les usages thérapeutiques de la résine de pin d'Alep étudiée, dans ces régions.

1. Matériel

L'ensemble du matériel et de produits utilisés dans le laboratoire sont résumés dans l'**Annexe 1**.

1.1. Matériel végétal

La résine de pin d'Alep, connue localement sous le nom de "Tizeft" ou "Aselghagh" a été achetée chez un herboriste, de la ville de Tizi-Ouzou, Les petites pierres de la résine (Figure 6) ont été broyées manuellement à l'aide d'un mortier pour avoir une poudre.



Figure 06 : Aspect de la résine de pin d'Alep
a): sous forme de pierres ; b): sous forme de poudre

2. Méthodes

2.1. Préparation des matrices de la résine de pin d'Alep

La poudre de résine de pin d'Alep a été soumise à une macération dans différentes matrices (l'eau distillée, le miel du jujubier, l'huile d'olive et l'éthanol) pendant un mois et demi à température ambiante et à l'obscurité.

Le tableau I résume la composition des différentes matrices élaborées.

Tableau I : Différentes matrices à base de la résine de pin d'Alep

| Quantité de la résine de pin d'Alep en poudre | Matrices | Nombre d'échantillons |
|---|--------------------------------|-----------------------|
| 1 g | Dans 50 ml du miel de jujubier | 2 Flacons |
| | Dans 50 ml de l'huile d'olive | |
| | Dans 50 ml d'eau distillée | |
| | Dans 50 ml d'éthanol | |

2.2. Analyse phytochimique de la résine de pin d'Alep

Cet analyse a pour but la recherche et l'identification des métabolites et des substances chimiques, qu'une matière végétale peut contenir, et vise à connaître leurs propriétés intrinsèques, ou encore leurs aptitudes de réagir avec des réactifs particuliers.

A fin de mettre en évidence l'absence ou la présence de ces métabolites, dans la résine de pin d'Alep, nous avons suivi les méthodes standards de screening phytochimique (Dahou et *al.* 2003 ; Kumar et *al.* 2010). Cependant, l'intensité de la couleur ou du précipité qui apparait, est équivalente à la quantité de la substance recherchée.

2.2.1. Préparation de l'infusion de pin d'Alep

✓ Mode opératoire

On mélange 20g de la poudre de résine de pin d'Alep avec 100 ml d'eau distillée.

Chauffer le mélange jusqu'à ébullition.

Après refroidissement, filtrer puis compléter avec l'eau distillée jusqu'à 100 ml.

2.2.2. Recherche des anthocyanes

Dans un bêcher, introduire 5 ml de l'infusion puis rajouter quelques gouttes d'HCl et laisser réagir. La présence des anthocyanes est traduite par l'apparition d'une coloration rouge.

2.2.3. Recherche des tannins

5 ml de l'infusion sont mélangés avec quelques gouttes de la solution FeCl_3 (5%).

La coloration bleue noire indique la présence des tannins.

2.2.4. Recherche des tannins galliques

Dans le but de détecter la présence des tannins galliques dans notre substance, on additionne une petite quantité d'acétate de sodium (CH_3COONa) à 5 ml du filtrat afin de le saturer, ensuite quelques gouttes de FeCl_3 .

Le changement de la coloration du mélange vers le bleu foncé révèle la présence des tannins galliques.

2.2.5. Recherche des flavonoïdes

Dans un bêcher, laisser réagir une pincée de magnésium (Mg), 1ml d'alcool 2-butanol et 5 ml de l'infusion. La présence des flavonoïdes est révélée par l'apparition d'une coloration rouge orange.

2.2.6. Recherche des saponosides

Afin de révéler la présence et identifier le type des saponines contenues dans la résine de pin d'Alep, nous avons effectué une comparaison entre le volume de la mousse obtenue dans deux tubes contenant de l'infusion avec soit une base (NaOH) ou un acide (HCl) comme suit :

1^{er} tube : 3 gouttes de l'infusion + 5 ml de NaOH.

2^{ème} tube : 3 gouttes de l'infusion + 5 ml d'HCl.

Pour dire qu'une substance contient des saponosides, la présence d'une mousse persistante est nécessaire.

Le type des saponines est identifié selon le volume de la mousse formée :

Si on obtient le même volume de la mousse dans les deux tubes, on dit qu'il s'agit des saponines stéroïdiennes.

Si le volume de la mousse dans le 1er tube est supérieur que celui du deuxième tube, on déduit que la poudre contient des saponines tri-terpéniques.

2.2.7. Recherche des quinones libres

Dans un bêcher, mélanger 2 g de poudre de résine, 2 ml d 'HCl (1N) et 20 ml de chloroforme puis laisser reposer pendant 3h. On réalise une filtration à l'aide d'un papier filtre. Additionner au filtrat 5ml d'ammoniaque (1/2V: V). Lorsqu'une coloration violette se manifeste, la réaction est dite positive.

2.2.8. Recherche des quinones combinées

Mélanger 2 g de poudre de résine de pin d'Alep avec 5 ml d'H₂SO₄. Chauffer le mélange dans un chauffe ballon pendant 1h. Après refroidissement, additionner 20 ml de chloroforme. Une évaporation à sec a été ensuite réalisée. Par la suite, la solution est reconstituée par l'ammoniaque. Une coloration rouge se manifeste lorsque la coloration est positive.

2.2.9. Recherche des glucosides

Prélever quelques gouttes d'H₂SO₄ à l'aide d'une pipette. Verser le contenu de cette dernière sur 2 g de poudre de résine de pin d'Alep. En premier lieu, une coloration rouge brique apparaît puis se transforme immédiatement en violet. Cette coloration est due à la présence des glucosides.

2.2.10. Recherche des coumarines

Préparer 20 ml du mélange Éthanol + eau distillée (V : V) qui sera ensuite additionné à 2 g de poudre de résine de pin d'Alep. La solution obtenue est portée à l'ébullition pendant 15 min. Cette étape est suivie d'une filtration et un refroidissement. Dans un bêcher contenant 5ml du filtrat, additionner quelques gouttes d'HCl (10 %) et 10 gouttes de la solution KOH (10%).

Les coumarines sont identifiées par l'apparition d'un trouble.

2.2.11. Recherche des sennosides

Un mélange constitué de 2,5 g de poudre de résine de pin d'Alep, 2 ml d'HCl concentré et 50 ml d'eau distillée est mis dans une fiole conique, puis chauffé pendant 15 min à 80°C au bain marie.

La deuxième étape consiste à ajouter 40 ml d'éther 2 méthylène après que la solution soit refroidit. On récupère le mélange puis on sèche la phase organique étherée. Le séchage se fait par sulfate de sodium anhydre ($\text{Na}_2\text{SO}_4\text{H}_2\text{O}$), suivi d'une évaporation. 5 ml d'ammoniaque (1/2) sont ensuite ajoutés.

Les sennosides sont déterminés par le virage de la couleur de la solution vers le jaune ou orange. Après chauffage pendant 2 min au bain marie, la couleur se transforme et donne une coloration violette rouge.

3. Dosage des substances bioactives

3.1. Extraction et dosage des mucilages

➤ Mode opératoire

Mettre un mélange constitué de 30 g de la poudre de résine de pin d'Alep et 100 ml d'eau distillée dans un bain marie à 50 °C pendant 96 min. Après refroidissement, rajouter 35 ml d'éthanol. Effectuer un séchage à 40 °C pendant quelques jours jusqu'à évaporation totale d'eau et de tout le liquide.

➤ Calcul du rendement

On récupère le résidu précipité au fond du récipient sous forme de poudre. Ce résidu représente les mucilages.

Peser la poudre obtenue, puis le rendement est calculé comme suite :

$$\text{Rendement \%} = \frac{\text{Mm}}{\text{Mv}} \times 100$$

Mm : masse des mucilages obtenus (g).

Mv : masse initiale de poudre de la résine de pin d'Alep (g).

3.2. Extraction et dosage des caroténoïdes

➤ Mode opératoire

Dissoudre 1 g de poudre de la résine de pin d'Alep dans 20 ml d'acétone (25%), ainsi 1ml de chaque matrice à base de pin d'Alep dans la même quantité de l'acétone, selon la méthode de (Jourdan, 2006). L'absorbance de chaque extrait a été mesurée à 450 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

➤ Courbe d'étalonnage

Mode opératoire

Préparation de la solution mère

10 ml d'éthanol sont ajoutés à 2 mg de β -carotène. La densité optique de la solution obtenue a été mesurée à 450 nm au moyen d'un spectrophotomètre.

➤ Préparation des dilutions

À partir de la solution mère, on prépare des dilutions décimales, leurs valeurs sont représentées dans l'**Annexe 2**.

En faisant l'extrapolation par rapport à la courbe d'étalonnage (**Annexe 3**), nous obtenons les concentrations des caroténoïdes.

3.3. Dosage des flavonoïdes

➤ Mode opératoire

À partir des quatre matrices à base de pin d'Alep et $AlCl_3$, nous avons préparé les solutions suivantes, résumées dans le tableau II:

Tableau II : Solutions préparées pour le dosage des flavonoïdes

| Nombre de solution | Quantité de la matrice à base de pin d'Alep | Quantité du réactif $AlCl_3$ à 2 % |
|--------------------|--|------------------------------------|
| Solution 1 | 1 ml d'extrait aqueux de la résine de pin d'Alep | 1 ml |
| Solution 2 | 1 ml d'extrait éthanolique de la résine de pin d'Alep | |
| Solution 3 | 1 ml d'huile d'olive à base de la résine de pin d'Alep | |
| Solution 4 | 1 ml de miel de jujubier à base de la résine de pin d'Alep | |

Les quatre solutions préparées ont été incubées à l'obscurité pendant 10 min et leurs absorbances ont été mesurées à 430 nm au moyen d'un spectrophotomètre (Kosalec et *al.* 2004).

➤ **Courbe d'étalonnage**

À partir d'une solution mère préparée de Quercétine, nous avons tracé une courbe d'étalonnage (**Annexe 4**) qui va nous permettre de déterminer la quantité des flavonoïdes de chaque solution préparée.

➤ **Expression des résultats**

Chaque gramme de l'échantillon macéré a une teneur en flavonoïdes (en milligramme) équivalente à celle de la Quercétine.

4. Analyses physico-chimiques

4.1. Détermination de l'acidité

Il s'agit d'un titrage par la solution d'Hydroxyde de sodium NaOH (0,1N), de la poudre de pin d'Alep, ainsi que leurs matrices, par le Phénolphtaléine comme indicateur de couleur (NF V 05-101,1974).

➤ **Mode opératoire**

- 70mL d'eau distillée bouillie et refroidie, sont ajoutées à 10g de l'échantillon à l'intérieur d'une fiole ;
- Homogénéiser, et chauffer au bain marie pendant 30 minutes ;

- Le contenu sera refroidi, et transvaser dans une fiole jaugée de 100 ml, puis compléter avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge ;
- bien mélanger, et filtrer ;
- Dans un bécher, on mélange 10 ml d'eau distillée, avec 10 ml du filtrat et trois gouttes de Phénolphthaléine, en agitant ;
- Titrer le contenu du bécher par la solution d'hydroxyde de sodium (0,1N), jusqu'à l'apparition de la couleur rose persistante pendant 30 secondes.

Expression des résultats

Le résultat de l'acidité est exprimé par la formule suivante :

$$A(\%) = \frac{175 \times V_1}{V_0 \times M}$$

Soit :

A(%): Pourcentage d'acidité ;

M : Masse prélevée ;

V₀ : Volume en ml de la prise d'essai ;

V₁ : Volume en ml de la solution NaOH (0,1N).

4.2. Détermination du potentiel d'Hydrogène (pH)

Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH mètre, suivant la méthode potentiométrique (NF V 05-108,1997).

➤ Mode opératoire

- 1g de chaque échantillon, est ajouté à 25ml d'eau distillée chaude ;
- Mélanger, et laisser refroidir ;
- Étalonner le pH mètre, par la solution tampon ;
- Prélever un volume V, permettant l'immersion de l'électrode dans l'échantillon ;
- La valeur du pH sera notée par la suite (trois essais ont été effectués).

4.3. Détermination de l'humidité

Un séchage de la poudre de résine de pin d'Alep, a été réalisé, dans l'étuve à 105±3°C, jusqu'à avoir un poids constant.

➤ Mode opératoire

- Peser quatre capsules en aluminium vides, puis tarer la balance ;

- Mettre dans chaque une 5g de la résine de pin d'Alep, puis les placer à l'étuve (105±3°C) ;
- Chaque 30 minutes, retirer les capsules de l'étuve, puis les placer dans un dessiccateur afin de les refroidir,
- Répéter l'opération jusqu'à avoir un poids constant.

➤ **Expression des résultats**

Le résultat de l'humidité est déterminé par la formule suivante:

$$H(\%) = \frac{M1 - M2}{P} \times 100$$

Soit :

H(%): Pourcentage de l'humidité ;

M₁ : Masse de la capsule vide+ matière fraîche avant le séchage (g) ;

M₂ : Masse de la capsule+ la matière après séchage (g) ;

P : Masse de la prise d'essai (g).

- La matière sèche est calculée par la formule suivante:

$$\text{Matière sèche}(\%) = 100 - H\%$$

4.4. Teneur en cendres

Une calcination a été réalisée dans un four à moufle à 550°C, jusqu'à avoir un poids constant des cendres blanchâtres avec une augmentation progressive de la T°, afin d'éviter une mauvaise calcination (NF V 05-113,1972).

➤ **Mode opératoire**

- Peser 1g de la résine de pin d'Alep dans 03 creusets en porcelaine ;
- Mettre les creusets dans un four à moufle à 550±15°C, jusqu'à l'obtention de cendres blanchâtres à poids constant ;
- Retirer les creusets du four ;
- Les refroidir dans un dessiccateur ;
- Peser le poids final à l'aide d'une balance de précision.

Expression des résultats

- La quantité de la matière organique est déterminée par :

$$MO(\%) = \frac{M1 - M2}{P} \times 100$$

Soit :

MO : Matière organique en (g)

M_1 : Masse de creuset + la prise d'essai en (g)

M_2 : Masse de creuset après incinération en (g)

P : Masse de la prise d'essai.

- Le taux de cendres a été calculé par la formule suivante :

$$Tc(\%) = 100 - MO\%$$

4.5. Indice de gonflement

Il exprime le volume en (ml) occupé par 1g de poudre, ainsi le mucilage qui adhère, et qui se gonfle dans un liquide aqueux après 4h (Paris, 1976).

➤ **Mode opératoire**

- Introduire 1g de la poudre de résine de pin d'Alep, dans trois éprouvettes rodées et graduées à bouchon (20mm de diamètre et 20cm de hauteur) ;
- Additionner 1ml d'alcool, puis 25ml d'eau distillée ;
- Couvrir avec le papier aluminium ;
- Appliquer une agitation chaque 10 minutes, pendant 1h, puis les laisser reposer durant 3h ;
- Mesurer par la suite, le volume occupé par la poudre dans les trois éprouvettes.

➤ **Expression des résultats**

L'indice de gonflement (IG) est mesuré par la moyenne des trois volumes occupés par la poudre, selon l'équation suivante :

$$IG = \frac{(V1 + V2 + V3)}{3}$$

Soit :

V_1, V_2, V_3 : Les trois volumes occupés par la poudre de résine étudiée respectivement.

5. Détermination des acides gras par CPG (Chromatographie Phase Gazeuse)

5.1. Définition

La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) ou Gras Chromatography (GC : en anglais) est une méthode qui permet la séparation d'un mélange de molécules volatiles. Elle est utilisée dans différents domaines : biologiques, chimiques, industriels...etc. (George, 2017).

5.2. Méthode: Trans-estérification à froid au moyen d'une solution méthanolique d'hydroxyde de potassium

➤ Principe

Les esters méthyliques se forment par trans-estérification, dans une solution méthanolique D'hydroxyde de potassium comme phase intermédiaire avant la saponification (point 5 de La méthode ISO 5509:2000, point 5 de la méthode IUPAC 2.301).

➤ Réactifs

- Méthanol ne contenant $\leq 0,5\%$ (m/m) d'eau ;
- Heptane pour la chromatographie
- Hydroxyde de potassium;
- Solution méthanolique d'environ 2 N (dissoudre 11,2 g D'hydroxyde de potassium dans 100 ml de méthanol).

➤ Matériel

- Tubes à bouchon vissant (de 5 ml de capacité) ;
- Un bouchon muni d'un joint de PTFE ;
- Pipettes graduées ou automatiques de 2 ml et 0,2 ml.

➤ Mode opératoire

Peser environ 5g de la poudre de la résine de pin d'Alep, dans un tube à bouchon vissant de 5 ml ;

Ajouter 2 ml d'heptane ou Hexane puis agiter ;

Ajouter 0,2 ml de la solution méthanolique 2 N D'hydroxyde de potassium ;

Bien fermé à l'aide du bouchon muni d'un joint en PTFE ;

Agiter énergiquement pendant 30 secondes.

Laisser reposer jusqu'à ce que la partie supérieure de la solution devienne claire ;

Décanter la couche supérieure (celle qui contient les esters méthyliques) ;

La solution d'heptane sera prête pour l'injection dans le Chromatographe.

Il est conseillé de maintenir la solution au réfrigérateur jusqu'au moment de l'analyse chromatographique. Il n'est pas recommandé de stocker la solution plus de 12 heures.

Le tableau III indique l'ensemble des conditions chromatographiques.

Tableau III : Conditions chromatographiques

| Conditions Chromatographiques pour esters méthyliques des huiles | |
|---|---|
| Chromatographe | Chrompack CP 9002 |
| Détecteur | FID (260C°) |
| Injecteur | SPLIT 1/100 (250C°) |
| Gaz vecteur | Azote |
| Colonne Capillaire | CpSil 8 CB(5%Phenyl+ 95%dimethylpolysiloxane) |
| Longueur | 30 m |
| Diamètre intérieur | 0,32 mm *0.25 UM |
| Epaisseur | 0,25 µm |
| Injecteur | 250°C |
| Détecteur | 260°C |
| Four | 150 C°-4C°/mn----- 230C° |
| Quantité injectée | 0.8ul |
| Vitesse du papier | 0.5 cm/ mn |



Figure 07 : Appareil de la CPG
(Chrompack CP 9002)



Figure 08 : Extracteur soxhlet

6. Activité anti-oxydante

L'évaluation de l'activité anti-oxydante, des extraits de la résine de pin d'Alep a été faite par un piégeage d'un radical libre stable le DPPH.

➤ Principe du DPPH

Le DPPH (DiPhényle Picryl Hydrazyle) de couleur violette en solution, et une absorbance caractéristique à 517nm (Sanchez-Mareno, 2002). Il permet de mesurer le pouvoir d'un antioxydant tel que les composés phénoliques à réduire un radical chimique, par la disparition de la couleur initiale violette du DPPH en captant un Hydrogène puis il se réduit en 2-2-diphényl-1-picryl hydrazine de couleur jaune (Kim et *al.* 2002).

➤ Préparation de la solution DPPH

- Mélanger 0,004g du DPPH avec 80ml de méthanol et 20ml d'eau distillée ;
- Agiter bien, puis le couvrir avec le papier Aluminium.

➤ Mode opératoire

- 2,9ml de la solution de DPPH préparée, sont ajoutés à 0,1 ml de chaque extrait à base de la résine de pin d'Alep ;
- Couvrir les béchers avec le papier Aluminium ;
- Incuber à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes ;
- Mesurer la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre à 517nm.

➤ Expression des résultats

L'effet de piégeage du radical DPPH de l'activité antioxydante, s'exprime en % d'inhibition (Dieng et *al.* 2017). Selon l'équation suivante:

$$PI = 100 \times \frac{(A_0 - A_1)}{A_0}$$

Soit:

PI: Pourcentage d'Inhibition ;

A₀: Absorbance de la solution du DPPH ;

A₁: Absorbance de l'échantillon.

7. Détermination des groupements fonctionnels par I-R (Infra-Rouge)

➤ Principe

L'interaction du rayonnement Infra-Rouge (I-R) avec l'échantillon, une partie de cette lumière sera absorbée par ce dernier. Lors de ce passage, les molécules subissent des vibrations, qui se traduisent en pics, et en bandes d'absorptions, dans un spectre partagé en trois domaines: le proche I-R, I-R moyen, et I-R lointain.

Cette spectroscopie, permet l'identification des composés par la détection des groupements fonctionnels, ainsi, leurs conformations, leurs organisations, et leurs interactions inter et /ou intra- moléculaires (Servant et *al.* 2011). L'analyse des groupements fonctionnels des poudres a été réalisée à l'aide de l'appareil d'I-R de marque SHIMADZU (Figure 09), au niveau du laboratoire d'Analytique de Bastos à l'UMMTO.

Les poudres analysées sont :

- La poudre de la résine de pin d'Alep ;
- La poudre de mucilage extrait de la résine de pin d'Alep ;
- Les poudres des matrices de la résine de pin d'Alep (à l'exception de la poudre de l'extrait éthanolique) ;
- La poudre d'un médicament Amoxypen (antibiotique) préparé à raison 1g du médicament dans 50 ml d'eau distillée.



Figure 09 : Appareil I-R

8. Détermination de la microstructure par le MEB

➤ Principe

La Microscopie Électronique à Balayage, ou SEM : Scanning Electron Microscopy) en anglais est une méthode permettant une observation topographique des surfaces, basée sur l'interaction entre les électrons et la matière.

Un faisceau d'électron balaie la surface de l'échantillon, les particules seront analysées par des détecteurs spécifiques, qui recueillent un signal significatif afin d'avoir une image de pouvoir séparateur <5nm, et un champ à grande profondeur (Ruste, 2017).

L'analyse de la microstructure de la résine de pin d'Alep a été réalisée au niveau du laboratoire Chimie -Physique de Hasnaoua de l'UMMTO.

9. Activité antimicrobienne

➤ Principe

L'activité antimicrobienne de quatre extraits de la résine de pin d'Alep contre deux souches de référence de *Staphylococcus aureus* Mu50 et *Staphylococcus aureus* ATCC25923 a été réalisée selon la méthode de diffusion sur disques.

Ces souches ont été cultivées sur la gélose Mueller Hinton (MH), qui favorise leurs croissances. Les zones d'inhibition qui apparaissent autour des disques, sont mesurées après la durée d'incubation.

➤ Préparation des disques

- Préparer les disques du papier Wattman de 6 mm de diamètre ;
- Ces disques sont mis dans un tube à essai puis stérilisés dans un autoclave à des fins d'utilisation.

➤ Préparation des près-cultures

- Les deux souches de *S. aureus* Mu50 et *S. aureus* ATCC25923 ont été cultivées sur la gélose nutritive, et incubées à l'étuve pendant 18 à 20h (culture jeune) à 37°C.

➤ Standardisation de la culture bactérienne

- Dans la zone stérile, prendre à l'aide d'une pipette Pasteur ; quelques colonies bien isolées de chaque culture puis les mettre dans deux tubes stériles différents, contenant 10 ml d'eau physiologique stérile ;
- Homogénéiser puis standardiser au spectrophotomètre à 620nm, DO soit [0,08-0,1], selon Benhammou et *al.* (2008).

➤ Test d'antibiogramme

La méthode de diffusion sur disque a été adoptée pour réaliser l'activité antimicrobienne (Benjelali et *al.* 1986)

Couler la gélose MH dans plusieurs boîtes Pétri (de 90mm de diamètre), jusqu'à une épaisseur de 4mm, puis les laisser refroidir.

Chaque suspension bactérienne testée a une DO = 0,1 a été transvasée quantitativement dans un tube contenant un écouvillon.

Nous avons ensemencé les boîtes par écouvillonnage, en appliquant des stries bien serrés, en tournant la boîte 3 fois $\sim 60^\circ$, afin d'assurer une distribution homogène de la culture bactérienne, puis nous avons déposé à l'aide d'une pince stérile trois disques de papier Wattman, et deux autres disques d'antibiotiques: un disque d'Amoxicilline (Ax), et l'autre la Gentamycine (CN).

Les disques de papier Wattman ont été imbibés avec 10 μL de chaque matrice par une micropipette. Les boites ont été placées au réfrigérateur pendant 30 minutes, ensuite, incubées à l'étuve pendant 24h à 37°C .

➤ Lecture

La lecture des résultats se fait en mesurant les diamètres des zones d'inhibition, qui indiquent la sensibilité des souches vis à vis l'échantillon (Ponce et *al.* 2003). L'interprétation des résultats a été faite selon le tableau IV.

Tableau IV : Interprétation des zones d'inhibition

| Diamètres des zones d'inhibition (cm) | Interprétations |
|--|-----------------------------------|
| < à 0,8 | Souche résistante ou sensible (-) |
| Entre 0,9 et 1,4 | Souche sensible (+) |
| Entre 1,5 et 1,9 | Souche très sensible (++) |
| > à 2,0 | Souche extrêmement sensible (+++) |

Chapitre IV
Résultats et discussion

✚ Résultats de l'étude ethnobotanique

L'analyse des résultats de l'enquête ethnobotanique a montré que la résine de pin d'Alep est utilisée pour traiter certaines infections respiratoires, en particulier l'angine et la toux, et qu'elle est plus efficace chez les enfants. La résine est mélangée avec du miel ou l'huile d'olive puis consommés par voie orale, rarement utilisés par voie cutanée.

1. Résultats d'analyse photochimique de la résine du pin d'Alep

Les résultats d'analyse phytochimique de la résine du pin d'Alep sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau V: Résultats d'analyse photochimique de la résine de pin d'Alep

| Substances phytochimiques | Résultats |
|---------------------------|---|
| Anthocyanes | - |
| Tannins | + |
| Tannins galliques | - |
| Flavononoides | + |
| Saponosides | HCl : mousse fine. NaOH : mousse épaisse. Présence de saponines tri-terpénique. |
| Quinones libres | ++ |
| Quinones combinées | + |
| Glucosides | ++ |
| Coumarines | + |
| Sennosides | ++ |

(-) : absence de substances.

(+) : présence de substances avec une faible concentration.

(++) : Présence de substances avec forte concentration.

Cet analyse a permis de révéler la présence de composés phytochimiques tels que les tannins, saponosides tri-terpéniques, flavonoïdes, quinones combinés, quinones libres, glucosides, coumarines et sennosides. Ainsi, l'absence de certains d'autres: anthocyanes et tannins galliques.

D'après nos résultats, on déduit que la teneur de la résine du *Pinus halpensis* en polyphénols est importante. Ces composés phénoliques, semblent avoir des rôles importants dans les différentes activités biologiques.

2. Résultats du dosage des substances bioactives

2.1. Résultat des mucilages

La résine du pin d'Alep, possède une faible teneur en mucilages, de l'ordre de (0,6 %). Ce pourcentage affirme la valeur nulle de l'indice de gonflement de la poudre de pin d'Alep analysée et sa faible teneur en humidité (inférieure à 2 %).

Il est important de signaler que, les mucilages, sont des polysaccharides ou glucides complexes contenant un ou plusieurs monosaccharides. Ils sont aussi appelés des polymères de condensation. Ces biopolymères sont capables de retenir l'eau (Kulkarni et *al.* 2002).

Comme propriété de mucilage, quand il rentre en contact avec les fluides, il forme une masse collante et visqueuse (Haboni, 2002). Le mucilage extrait a la même couleur que celle de la poudre de pin d'Alep analysée.

2.2. Résultats des composés nutraceutiques

Le tableau VI représente les concentrations en substances bioactives des matrices de pin d'Alep.

Tableau VI : Résultats des concentrations des substances bioactives (caroténoïdes et flavonoïdes) des différentes matrices de pin d'Alep

| Matrices | Caroténoïdes | Flavonoïdes |
|--|---|---|
| | Concentrations (mg E Carotène /g d'extrait) | Concentrations (mg E Quercétine /g Extrait) |
| Extrait aqueux de la résine de pin d'Alep | 9,51 ± 0,0075 | 6,24 ± 0,03 |
| Extrait éthanolique de la résine de pin d'Alep | 224,53 ± 0,08 | 15,49 ± 0,05 |
| Huile d'olive à base de la résine de pin d'Alep | 19,90 ± 0,03 | 12,03 ± 0,27 |
| Miel du jujubier à base de la résine de pin d'Alep | 169,90 ± 0,01 | 11,45 ± 0,01 |

✚ Les caroténoïdes sont des pigments de couleur varie du jaune au rouge (Britton et al. 2008). L'importance du dosage de ces pigments réside dans les bénéfices qu'ils peuvent apporter surtout pour la santé par exemple, certains d'entre eux sont capables de se convertir en Vitamine A (Bendich et al. 1986). La plupart des caroténoïdes présentent une activité anti-oxydante, grâce à leurs structures chimiques qui leurs permettent de neutraliser l'oxygène singulier et les radicaux libres (Böhm et al. 2001). Par fois, même après isomérisation et dégradation, ils restent antioxydants (Mueller et al. 2011) mais cette propriété peut se perdre à tout moment ce qui va induire à la formation des pro-oxydants (Siems et al. 2002; Alija et al. 2004). Les concentrations en caroténoïdes des quatre matrices à base de la résine ont été estimées en utilisant l'équation de la droite d'étalonnage de β -carotène ($y = 0,0072x$; $R^2 = 0,6916$), les résultats sont exprimés en (mg EC/g d'extrait). (**Annexe 3**).

Nous remarquons que l'éthanol et le miel favorisent une forte libération des caroténoïdes avec des teneurs respectivement ($224,53 \pm 0,08$; $169,90 \pm 0,01$ mg EC/g d'extrait). Par contre, les autres matrices révèlent des teneurs faibles en caroténoïdes.

Nous pouvons considérer que, l'éthanol est un bon solvant d'extraction des caroténoïdes. Cependant, le miel est riche en ces composés qui sont à l'origine de la nourriture des abeilles.

Nos valeurs sont plus importantes que celles signalées par Drici S et Drici A, (2019). Qui ont analysé des échantillons d'huile d'olive extra vierge du marché local, présentant des teneurs comprises entre (0,815 et 1,170 mg/Kg).

✚ Les concentrations en flavonoïdes dans les matrices analysées, sont obtenues à partir de l'équation de la droite d'étalonnage de la Quercétine ($y = 0,0942x - 0,0387$ avec $R^2 = 0,9982$), les résultats sont exprimés en (mg EQ/g Extrait) (**Annexe 4**).

D'après les résultats présentés dans le (tableau VI), l'extrait éthanolique de la résine étudiée présente la concentration la plus élevée en flavonoïdes ($15,49 \pm 0,05$ mg EQ/g Extrait), en comparaison avec l'extrait aqueux ($6,24 \pm 0,03$ mg EQ/g Extrait). En comparant avec les deux autres matrices (miel et l'huile d'olive), celles-ci favorisent la libération des flavonoïdes avec des teneurs proches et plus au moins élevées, que ceux libérés en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction.

Nous pouvons expliquer cette différence, d'une part, par la nature de la substance libérée et le type du solvant ou la matrice utilisée. La libération des composés phénoliques (flavonoïdes) dans l'éthanol est due à sa polarité (Bruneton, 1999 ; Mueller-Harvey, 2001).

Amari et Mechouche, (2017), ont analysé la résine de pin d'Alep, récoltée à Bejaia. Ces auteurs, ont démontré que l'extrait ethanologique de pin d'Alep présente une teneur très élevée en flavonoïdes de l'ordre $91,81 \pm 2,66$ mg EQ/g Extrait.

Cette différence, peut être attribuée aux facteurs extérieurs ou intérieurs, les conditions de stockage, les techniques d'échantillonnage, la zone géographique, les conditions climatiques, et les méthodes d'extraction et de quantification (Bergonzi et *al.* 2001 ; Wang an et Zheng, 2001 ; Ebrahimzadeh et *al.* 2008).

3. Résultats d'analyses physico-chimiques de la résine du pin d'Alep

Les résultats d'analyse physico-chimiques sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau VII: Résultats d'analyses physico-chimiques de la résine et les matrices de pin d'Alep

| Paramètres | Matrices analysées | | | | |
|----------------------|-----------------------------------|---|--|---|--|
| | Poudre de la résine de pin d'Alep | Extrait aqueux de la résine de pin d'Alep | Extrait éthanologique de la résine de pin d'Alep | Huile d'olive à base de la résine de pin d'Alep | Miel du jujubier à base de la résine de pin d'Alep |
| Acidité (%) | $0,43 \pm 0$ | $2,28 \pm 0$ | $11,37 \pm 0$ | $11,39 \pm 0$ | $5,52 \pm 0$ |
| pH | $6 \pm 0,5$ | $4,3 \pm 0,08$ | $4,5 \pm 0,17$ | $4,1 \pm 0,07$ | $4,7 \pm 0,05$ |
| Humidité (%) | 2 ± 0 | — | | | |
| Cendres (%) | Absence total de cendres | | | | |
| Indice de gonflement | Pas d'indice de gonflement | | | | |

De point de vue des propriétés physico-chimiques, la poudre de la résine de pin d'Alep se caractérise par un pH plus au moins neutre ($\text{pH}=6 \pm 0,5$), et un taux d'acidité faible ($0,43 \% \pm 0$). De plus, elle ne possède pas des cendres.

Les quatre matrices analysées présentent approximativement un pH très acide (pH allant de 4,1 à 4,7). Une acidité élevée est observée dans le cas d'utilisation de l'éthanol et d'huile d'olive comme matrices, celles-ci présentent des valeurs similaires en acidité de l'ordre de (11,3%). Néanmoins, les autres matrices présentent des valeurs plus au moins faibles.

La matrice huile d'olive à base de la résine présente une acidité faible ($11,39 \pm 0\%$), par rapport à celle d'huile d'olive extra vierge analysée par Drici S et Drici A, (2019). À l'obscurité, qui est de 27%, ceci explique l'acidité élevée de notre huile d'olive utilisée.

Les paramètres physico-chimiques analysés, peuvent être influencés par la durée de la macération, et l'exposition à la lumière.

4. Résultats du profil d'acides gras de la poudre de la résine de pin d'Alep (CPG)

Le profil d'acides gras de la résine de pin d'Alep est illustré par la figure 10.



Figure 10 : profil d'acides gras de la résine de pin d'Alep

Le tableau suivant représente les résultats du profil d'acides gras de la poudre de pin d'Alep.

Tableau VIII : Composition de la poudre de pin d'Alep en acides gras

| Acide gras | Dénomination | Echant (%) | Type de l'acide gras |
|-----------------------------------|-----------------------|------------|--|
| C10 :0 | Acide Caprique | 1,49 | Acides Gras Saturés (AGS) 74,63% |
| C12 :0 | Acide Laurique | 8,18 | |
| C14 :0 | Acide Myristique | 3,66 | |
| C15 :0 | Acide Pentadécanoïque | 1,46 | |
| C16 :0 | Acide palmitique | 11,74 | |
| C17 :0 | Acide margarique | 0,86 | |
| C18 :0 | Acide stéarique | 1,37 | |
| C20 :0 | Acide arachidique | 4,97 | |
| C22 :0 | Acide Béhénique | 32,37 | |
| C24:0 | Acide lignocérique | 8,53 | |
| C16 :1ω9 | Acide palmitoléique | 2,70 | Acides Gras Monoinsaturés (AGMI) 9% |
| C18 :1ω9 | Acide oléique | 2,75 | |
| C20 :1ω9 | Acide gondoïque | - | |
| C22 :1 | Erucique | 3,52 | |
| C18 :2ω6 | Acide linoléique | 1,00 | Acides Gras Polyinsaturés (AGPI) 1% |
| C18 :3ω3 | Acide linoléinique | - | |

La poudre de pin d'Alep présente un pourcentage élevé en acides gras saturés (74,63%), et un pourcentage plus au moins faible en acides gras mono-insaturés de 9%.

Parmi les acides gras consommés, les acides gras saturés (44%), et les acides gras mono-insaturés (39%). L'apport journalier en acides gras exigé par les femmes est de 32g/j d'AGS et pour les hommes est de 36g/j d'AGS. Les effets pharmacologiques de ces acides sur la santé sont liés à leurs métabolismes, certains participent au développement de quelques pathologies (diabète de type 2, ou les maladies cardiovasculaires), suite à une surconsommation tel que l'acide palmitique (Walrand et MarieBourre, 2010).

Toutefois, le rôle des acides gras poly-insaturés dans les différents processus physiologiques, et sur la santé de l'homme a été démontré. Ces acides peuvent prévenir de maladies cardiovasculaires, diabète, l'hypertension, troubles inflammatoires, et la sensibilité à l'insuline. Ils sont aussi considérés comme protecteurs contre les neuropathologies (Vaysse et Billeaud, 2019).

Selon la recommandation canadienne, une consommation modérée d'AGMI, peut participer au traitement des dyslipidémies, y compris les maladies cardio-vasculaires (Anderson et al. 2016). En plus, il a été démontré que, la consommation des AGMI, améliore le profil lipidique plasmatique, par rapport aux AGS ou les lipides (Schwingshackl et Hoffman, 2014 ; Joris et Mensink, 2016).

5. Résultats de l'activité antioxydante

Les pourcentages d'inhibition du DPPH des différentes matrices à base de pin d'Alep sont résumés dans le tableau IX.

Tableau IX : Résultats de l'activité anti-oxydante des matrices de la résine de pin d'Alep

| Échantillon | % d'inhibition du DPPH |
|--|------------------------|
| Extrait aqueux de la résine de pin d'Alep | 12 ± 0 |
| Extrait éthanolique de la résine de pin d'Alep | 20 ± 0 |
| Huile d'olive à base de la résine de pin d'Alep | 29 ± 0 |
| Miel de jujubier à base de la résine de pin d'Alep | 60 ± 0 |

Les radicaux libres sont à l'origine de plusieurs pathologies, c'est pour cette raison nous nous sommes intéressées dans cette partie à l'étude de la capacité de piégeage du radical libre DPPH, par les substances anti-oxydantes constituant les différentes matrices de la résine de pin d'Alep.

Nous remarquons d'après le tableau IX que, la matrice du miel présente le pourcentage d'inhibition du DPPH le plus élevé (60%). Cette activité anti-oxydante s'explique par la disponibilité de l'ensemble des composés antioxydants (caroténoïdes, flavonoïdes et acides gras saturés) du mixe miel et poudre de pin d'Alep.

Il a été démontré par Sarvanan et *al.* (2014) que, les composés poly-phénoliques notamment les tannins et les flavonoïdes, exercent une activité antioxydante, anti-inflammatoire, et analgésique.

6. Résultats d'analyse Infra-Rouge

6.1. Analyse globale

La figure 11 présente les résultats de l'IR des formulations élaborées et de la poudre de résine de pin d'Alep.

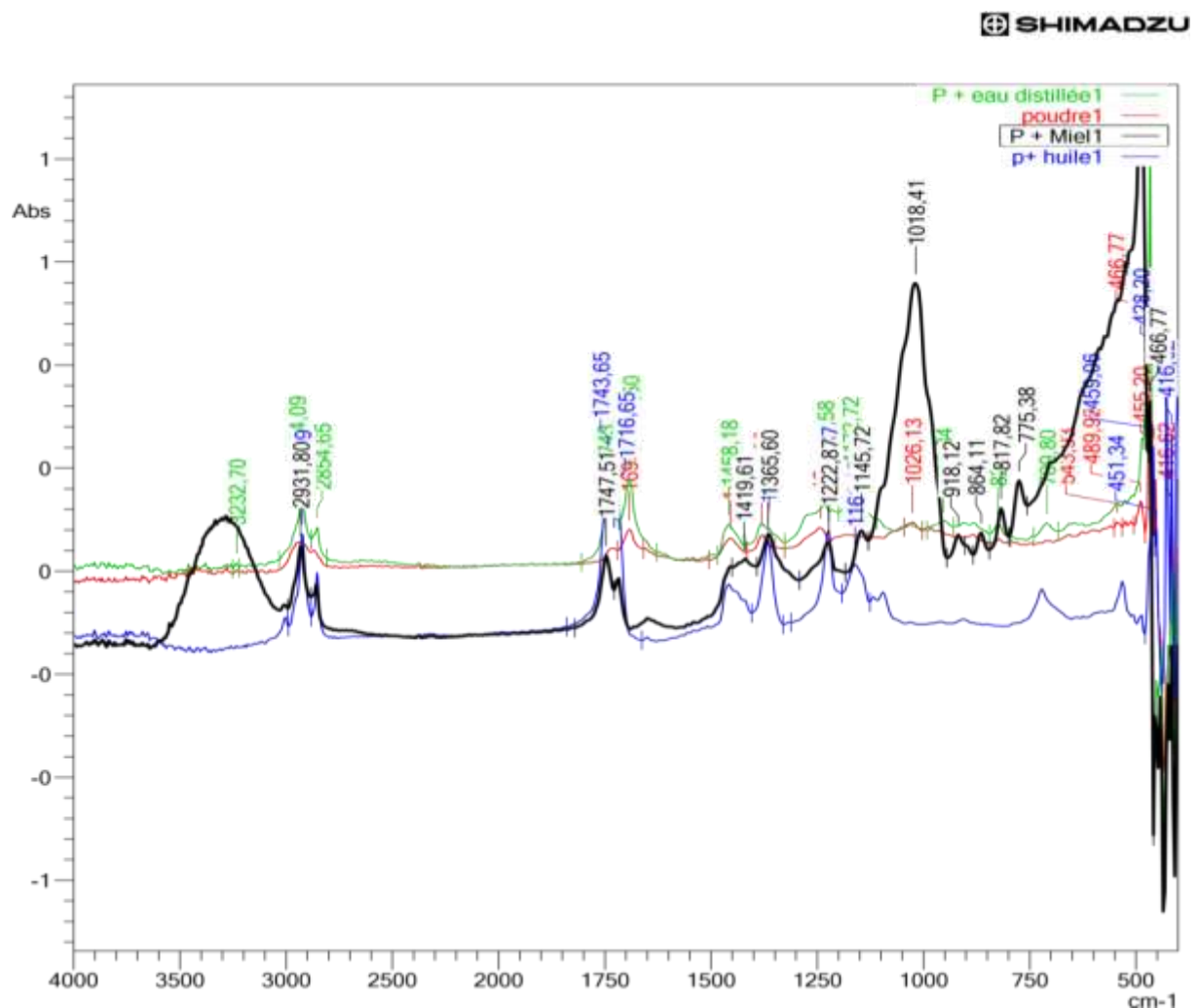


Figure 11 : spectre IR global

Le tableau X présente les différents groupements fonctionnels de la poudre de résine de pin d'Alep et des matrices étudiées.

Tableau X : les groupements fonctionnels des macéras et de la résine

| IR global | | | |
|--|-----------------------|-------------|----------------------|
| Nombre d'ondes (cm^{-1}) | Groupement | Liaisons | Vibrations |
| 3232,70 | Alcool | OH alcool | Faible |
| 2931,80-2854,65 | Hydrocarbure linéaire | Liaison -CH | Bonde forte et large |
| 2854,65 | Aliphatique | C-H | Elongation faible |
| 1747,51-1716,65 | Cétone | C=O | Forte |
| 1693,50 | Acide carboxylique | C=O | moyenne |
| 1242,16-1172 | Ester | C-O | Forte |
| 1161,15- 1145,72 | Alcool tertiaire | C-O | Forte |
| 1026,13-1018,41 | Alcool primaire | C-O | Forte |
| 775,38-709,80 | Sulfure | C-S | Elongation moyenne |
| 543,93- 451,34 | chlorophylle | - | - |

✚ L'analyse Infra-Rouge de la poudre de résine de pin d'Alep a révélé la présence de plusieurs pics d'absorption. Des bandes d'absorption sont observées à $1693,50 \text{ cm}^{-1}$ sont attribuées au groupement Acide carboxylique (C=O). En outre, les bandes enregistrées à $1242,16 \text{ cm}^{-1}$ appartiennent au groupement Ester (C-O). Une bande située à $1026,13 \text{ cm}^{-1}$ correspond au groupement Alcool primaire (C-O). Les signaux observés de $416,62 \text{ cm}^{-1}$ spécifiques à la Chlorophylle.

✚ Le spectre de l'Infra-Rouge de l'extrait aqueux de la résine de pin d'Alep indique la présence des bandes d'absorptions suivantes :

La bande enregistrée à $3232,70 \text{ cm}^{-1}$ peut être considérée comme spécifique au groupement Alcool (OH alcool). Une autre bande observée à $2924,09 \text{ cm}^{-1}$ correspond au groupement (-CH) d'un Hydrocarbure linéaire. Généralement, la bande située à $2854,65 \text{ cm}^{-1}$ peut être considérée comme spécifique au groupement (C-H), l'absorption observée autour de $1743,65 \text{ cm}^{-1}$ est attribuée au groupement (C=O). La bande qui apparaît à $1693,50 \text{ cm}^{-1}$ appartient au groupement carboxylique (C=O). Les bandes enregistrées aux alentours de $1230,58 \text{ cm}^{-1}$, $1172,72 \text{ cm}^{-1}$ correspondent au groupement Ester (C-O). De même, l'absorption observée à $709,80 \text{ cm}^{-1}$ est spécifique au groupement Sulfure.

✚ D'après les spectres d'Infra-Rouge, nous remarquons une ressemblance entre les spectres d'absorption de la résine et son extrait aqueux. En effet, on retrouve la moitié des

groupements fonctionnels de la poudre de la résine dans le profil infra-rouge de l'extrait aqueux (Acide carboxylique, Ester), cela explique que la résine est soluble dans l'eau.

✚ L'analyse du spectre Infra-rouge de l'huile à base de la résine de pin d'Alep a montré la présence des bandes d'absorptions suivantes :

Un signal est observé autour $2924,09\text{cm}^{-1}$ correspond au groupement ($-\text{CH}$) d'un Hydrocarbure linéaire. D'autres sont enregistrés aux alentours de $1743,65$ jusqu'à $1716,65\text{cm}^{-1}$ sont attribués au groupement Cétone ($\text{C}=\text{O}$). Une bande située à $1222,87\text{cm}^{-1}$ est caractéristique du groupement Ester ($\text{C}-\text{O}$). Une autre absorption observée à $1161,15\text{cm}^{-1}$ elle est attribuée au groupement alcool tertiaire ($\text{C}-\text{O}$), et une autre à 451cm^{-1} qui démontre la présence de la chlorophylle.

✚ Le profil Infra-Rouge du miel à base de la résine de pin d'Alep indique la présence d'une bande d'absorption à $2931,80\text{cm}^{-1}$ attribuée au groupement ($-\text{CH}$), une autre bande est observée à $1747,51\text{cm}^{-1}$ correspond au groupement Cétone ($\text{C}=\text{O}$). Le signal enregistré à $1222,87\text{cm}^{-1}$ peut être considéré comme spécifique au groupement Ester ($\text{C}-\text{O}$), celui qui a été enregistré à $1145,72\text{cm}^{-1}$ correspond au groupement Alcool tertiaire ($\text{C}-\text{O}$). Une bande observée à $1018,41\text{cm}^{-1}$ appartient au groupement Alcool primaire ($\text{C}-\text{O}$), celle enregistrée à $775,38\text{cm}^{-1}$ correspond au groupement Sulfure ($\text{C}-\text{S}$). La bande qui apparaît à $466,77\text{cm}^{-1}$ est spécifique à la Chlorophylle.

✚ Nous constatons aussi, une grande ressemblance entre la matrice miel à base de la résine de pin d'Alep et celle d'huile d'olive à base de la résine (présence de plusieurs groupements fonctionnels en commun: Hydrocarbure linéaire ($-\text{CH}$), Cétone ($\text{C}=\text{O}$), Ester ($\text{C}-\text{O}$), Alcool tertiaire ($\text{C}-\text{O}$), Chlorophylle), avec une légère différence d'intensité, cas de la matrice (miel à base de la résine) qui a un pic caractéristique avec une bande d'absorption au alentour de $1018,41\text{cm}^{-1}$, correspondant à l'Alcool primaire($\text{C}-\text{O}$), qui paraît spécifique au miel.

6.2. IR du mucilage de la résine de pin d'Alep

La figure 13 indique le profil de l'IR du mucilage extrait à partir de la résine de pin d'Alep.

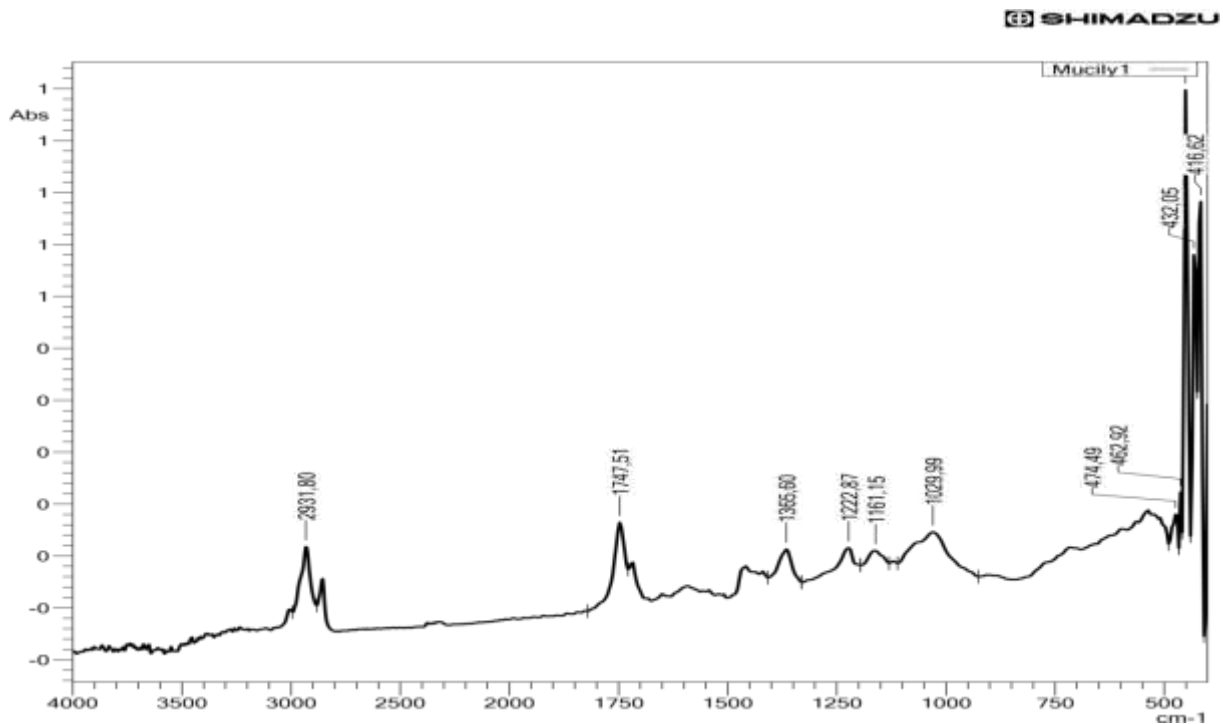


Figure 12 : Spectre IR du mucilage de la résine de pin d'Alep

La figure suivante montre les mucilages extraits à partir de la résine de pin d'Alep.



Figure 13 : Aspect des mucilage extrait à partir de la résine de pin d'Alep

Le tableau XI présente les différents groupements fonctionnels des mucilages de la résine de pin d'Alep.

Tableau XI : Groupements fonctionnels des mucilages de la résine de pin d'Alep

| Groupements fonctionnels de mucilages de la résine de pin d'Alep | | | |
|---|--|-----------------|-------------------|
| Nombre d'ondes (cm^{-1}) | Groupements | Liaisons | Vibrations |
| 2931,80 | Hydrocarbure linéaire | -CH | Forte |
| 1747,51 | Cétone | C=O | Forte |
| 1365,60 | Amines tertiaires | N-H | - |
| 1222,87 | Esters méthyliques des acides gras à longues chaînes | C-O | Forte |
| 1161,15 | Alcool tertiaire | O-H | Forte |
| 432,05 | Chlorophylle | - | - |

L'analyse Infra-Rouge des mucilages extraits à partir de la résine de pin d'Alep révèle la présence d'une bande d'absorption à $2931,80 \text{ cm}^{-1}$ attribuée au groupement Hydrocarbure linéaire (-CH), une autre bande est située au alentour de $1747,51 \text{ cm}^{-1}$ correspond au groupement Cétone (C=O). Le signal observé à $1365,60 \text{ cm}^{-1}$ peut être considéré comme spécifique aux groupes Amines tertiaires, celui observé à $1222,87 \text{ cm}^{-1}$ est attribué aux groupes Esters (C-O). Une bande d'absorption est située à $1161,15 \text{ cm}^{-1}$ correspond au groupement Alcool tertiaire (O-H). L'absorption observée autour de $432,05 \text{ cm}^{-1}$ est caractéristique de la Chlorophylle.

On constate que la plupart des groupements fonctionnels retrouvés dans le profil Infra-Rouge des mucilages extraits à partir de la résine de pin d'Alep, composent l'extrait aqueux de la résine de pin d'Alep, les groupements en communs sont : Hydrocarbure linéaire (liaison C-H), groupement Cétone (C=O), groupement Ester (C-O), Alcool (OH).

6.3. IR du médicament (Amoxypen)

La figure 15 indique les bandes d'absorption du médicament (Amoxypen).

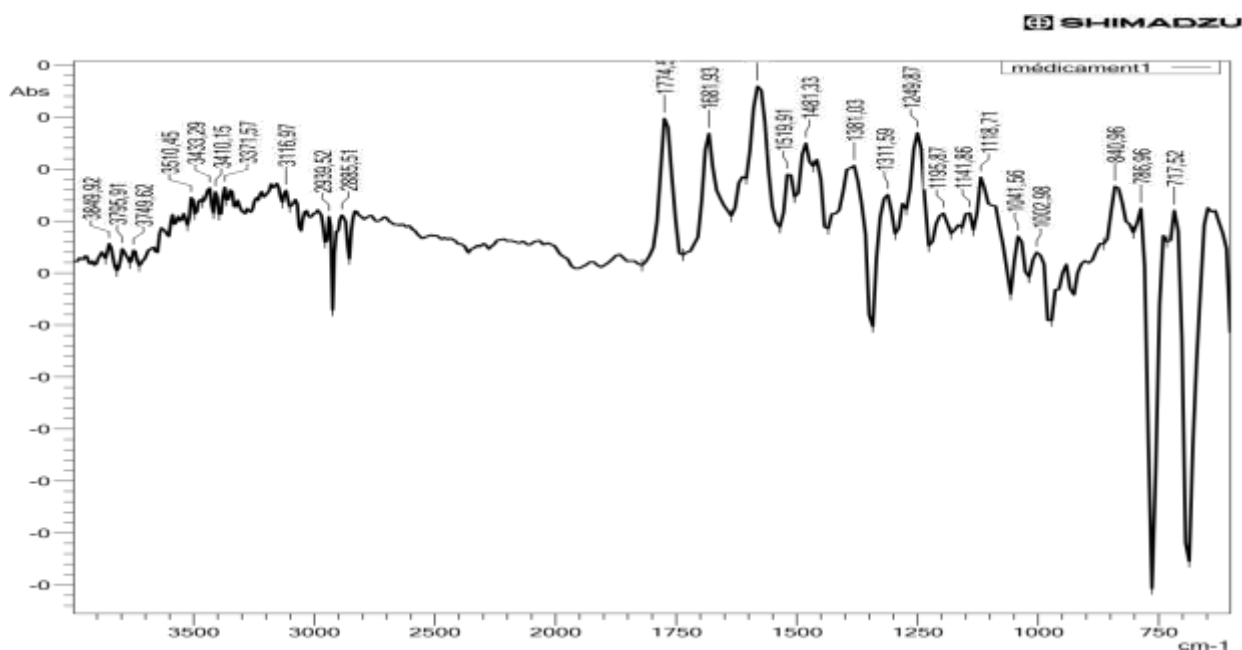


Figure 14 : Spectre IR du médicament (Amoxypen)

Les groupements fonctionnels du médicament (Amoxypen) sont présentés dans le tableau XII.

Tableau XII : Groupements fonctionnels du médicament "Amoxypen"

| IR de médicament (Amoxypen) | | | |
|------------------------------------|--------------------------------|-------------------|--------------------|
| Nombre d'ondes (cm ⁻¹) | Groupements | Liaisons | Vibrations |
| 3510,45 | alcool libre | OH alcool | Forte (fin) |
| 3433,2 | Amine secondaire | CONH ₂ | - |
| 3410,15-3116,97 | Alcool | OH alcool | Forte |
| 2939,52 | Hydrocarbure linéaire | CH | Forte |
| 2885,51 | Groupe hydroxyl | O-H | Forte |
| 1774,5 | Acide Anhydride | C=O | Forte |
| 1681,93 | Acide carboxylique | C=O | Moyenne |
| 1519,91 | Amide secondaire | N-H | - |
| 1481,33 | Noyau de benzène substitué | C=C | Moyenne |
| 1381,03 | Hydrocarbure à chaîne ramifiée | C-H | Moyenne |
| 1311,59 - 1249,87 | Ester des acides | C-O | Forte |
| 1195,87 | Isovalérat | C-O | Forte |
| 1118,71 | Alcool secondaire | C-O | Forte |
| 1041,56 | Alcool primaire | C-O | Forte |
| 840,96 - 786,96 | Hydrocarbure aromatique | C-H | Forte |
| 717,52 | Sulfure | C-S | Elongation moyenne |

De manière générale, l'analyse Infra-Rouge de ce médicament (**Annexe 5**) révèle la présence de plusieurs groupements fonctionnels constituant les différentes matrices analysées.

7. Résultats de la microstructure de la poudre de pin d'Alep

Les figures ci-dessous représentent la structure de la résine de pin d'Alep observée sous le microscope électronique à balayage.

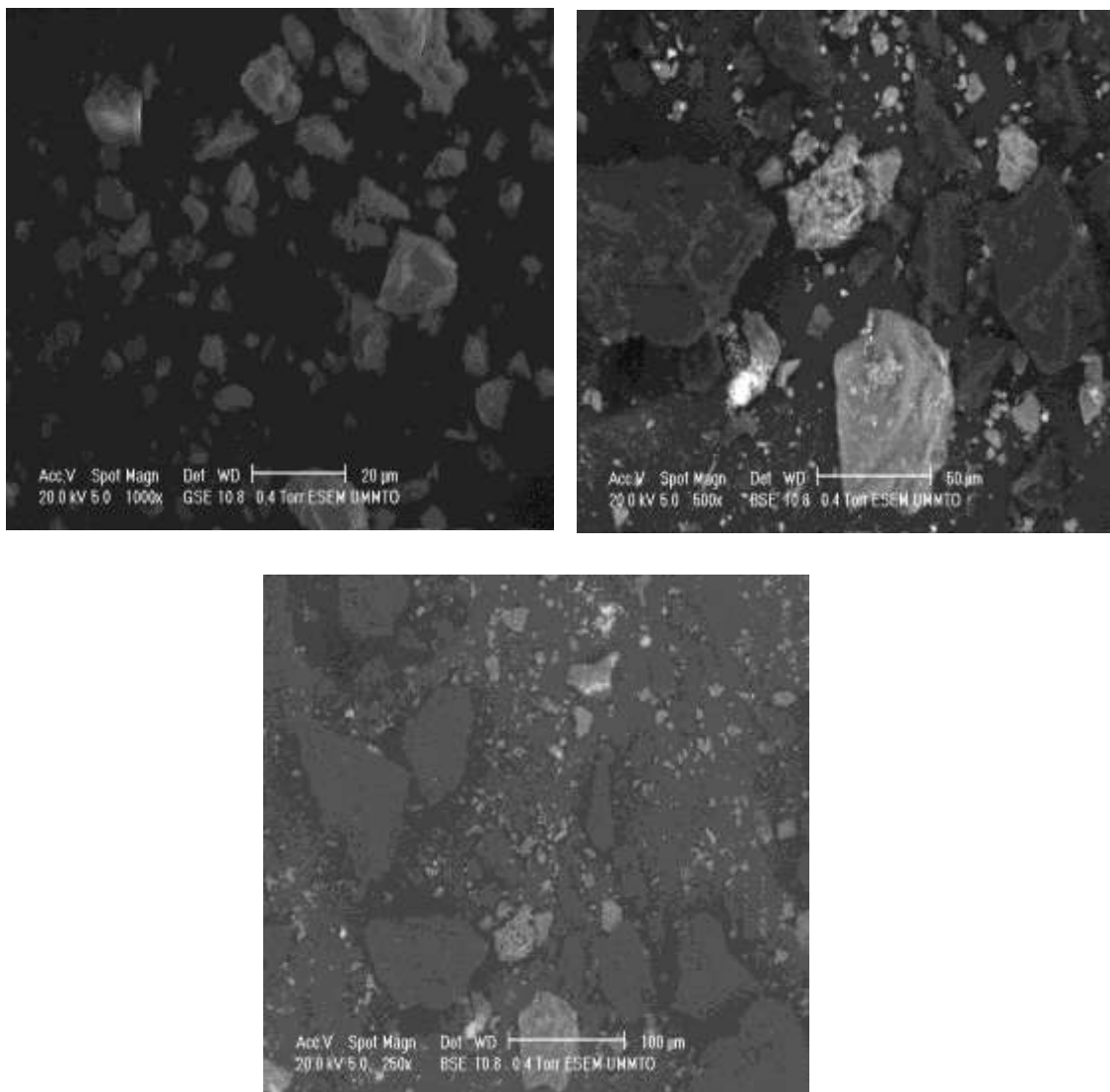


Figure 15 : Microstructure de la résine de pin d'Alep observée sous le MEB

La poudre de pin d'Alep est composée de particules irrégulières non poreuses de tailles différentes. Elle ressemble à la structure des polymères.

8. Activité antimicrobienne

Les diamètres des zones d'inhibition des différentes matrices à base de pin d'Alep ainsi des antibiotiques, ont été mesurés, et représentés dans les tableaux suivants :

Tableau XIII : Diamètres des zones d'inhibition des extraits de la résine de pin d'Alep

| Souches bactériennes testées | Diamètres des zones d'inhibition (cm) | | | | | | | |
|---|---------------------------------------|-------------|----------------------|--------------------|-----------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|--|
| | Echantillons purs (de référence) | | | | Matrices | | | |
| | Eau distillée pure | Ethanol pur | Miel de jujubier pur | Huile d'olive pure | Extrait aqueux de la résine | Extrait éthanolique de la résine | Miel à base de résine de pin d'Alep | Huile d'olive à base de résine de pin d'Alep |
| <i>Staphylococcus aureus</i> Mu50 | - | 1,2± 0,08 | - | - | - | 1,7 ± 0,15 | 1,3 ± 0 | - |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | - | 1,3 ± 0 | - | - | - | 1,8 ± 0,14 | 1,8± 0,17 | - |

Tableau XIV : Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques

| Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques (cm) | | | |
|---|-------------------|------------------|----------------|
| | Amoxicilline (Ax) | Gentamicine (CN) | Amoxypen (Axy) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> Mu50 | 0,8 ± 0 | 2 ± 0 | 3 ± 0 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | 0,7 ± 0,1 | 2,6 ± 0 | 3 ± 0 |

La découverte de bio-substances actives, issues des extraits de plantes, ont un effet thérapeutique efficace vis-à-vis les micro-organismes (Sagdic et al, 2002).

Dans cette étude, nous avons évalué le pouvoir antimicrobien de la résine du pin d'Alep, vis-à-vis deux souches pathogènes résistantes (*Staphylococcus aureus* Mu50 et *Staphylococcus aureus* ATCC25923), responsables de certaines maladies respiratoires (la toux et l'angine).

Les figures (**Annexe 6**) montrent les résultats du test antibactérien.

Les échantillons de référence (eau distillée pure, l'huile d'olive pure, et le miel du jujubier pur), n'exercent aucun effet antibactérien contre les deux souches testées, à l'exception de l'éthanol qui a présenté une zone d'inhibition de l'ordre de $1,2 \pm 0,08$ cm contre *S. aureus* Mu50 ; et $1,3 \pm 0$ cm contre *S. aureus* ATCC 25923.

L'extrait aqueux, et la matrice d'huile d'olive à base de la résine, n'ont aucune activité contre les souches, cela peut être dû à la faible quantité de l'échantillon. Par contre, la matrice d'éthanol à base de la résine de pin d'Alep révèle une zone d'inhibition de l'ordre de $1,7 \pm 0,15$ cm contre *S. aureus* Mu50 ; et $1,8 \pm 0,14$ cm contre *S. aureus* ATCC 25923. Ces zones, sont plus intéressantes que celles de l'éthanol pur, cette inhibition est due à la disponibilité des composés phénoliques (flavonoïdes), et d'autres composés caroténoïdes extraits par l'éthanol.

Il y a lieu de signaler que le miel pur étudié n'a aucune activité contre les souches testées, par contre, a joué un rôle dans la libération des composés nutraceutiques de la résine, responsables de l'apparition des zones intéressantes de l'ordre de $1,3 \pm 0$ cm et $1,8 \pm 0,17$ cm respectivement pour les deux souches *S. aureus* Mu50 ; et *S. aureus* ATCC 25923.

Nous pouvons conclure que le miel est un bon agent antibactérien contre les deux souches testées.

Comme usage traditionnel, le mélange de trois cuillères à soupe de la résine tamisée et filtrée dans 500g de miel, est un bon remède de bronchite (Hammiche, 2015).

Les deux souches testées s'avèrent très sensibles contre les deux antibiotiques Gentamycine et Amoxypen avec des diamètres respectivement: 2 ± 0 cm ; 3 ± 0 cm contre *S. aureus* Mu50 et $2,6 \pm 0$; 3 ± 0 contre *S. aureus* ATCC 25923. Elles sont aussi sensibles à la matrice miel à base de résine pin d'Alep, mais résistante à l'Amoxicilline ($0,8 \pm 0$ cm pour *S. aureus* Mu50; et $0,7 \pm 0,1$ *S. aureus* ATCC 25923).

Conclusion générale

Conclusion générale

Dans le présent travail, nous sommes intéressées à l'étude d'une espèce végétale, dans le but de découvrir son pouvoir thérapeutique, et ses différents effets biologiques, afin de trouver des alternatives à certaines substances chimiques, qui peuvent présenter parfois des effets indésirables, ou des risques sur la santé humaine.

Il s'agit de la résine de pin d'Alep, dont les arbres sont les plus répandus dans le nord de notre pays.

L'étude phytochimique, a contribué à compléter les connaissances sur les constituants chimiques de la résine de pin d'Alep. D'après les différents tests réalisés, la résine est une source naturelle de plusieurs composés tels que: flavonoïdes, tannins, saponosides tri-terpéniques, quinones combinés et libres, glucosides, coumarines et sennosides.

Le dosage des substances bioactives, nous a permis de révéler le rendement de trois substances, qui sont les flavonoïdes, les caroténoïdes et les mucilages. De point de vue quantitatif, l'extraction par éthanol donne le meilleur rendement d'extraction des flavonoïdes et des caroténoïdes, Ainsi, la matrice à base de miel présente une teneur élevée en caroténoïdes ($169,90 \pm 0,01$ mg EQ/g d'échantillon).

La résine de pin d'Alep a un pH acide proche de la neutralité (pH=6), néanmoins, les quatre matrices préparées possèdent un pH qui varie de 4,3 à 4.7.

En outre, cette résine est très riche en acides gras essentiels (74,63%) citant: acide caprique, acide laurique, acide myristique, acide pentadécanoïque, acide palmitique, acide margarique, acide stéarique, acide arachidique, acide béhénique, acide lignocérique.

L'évaluation du potentiel antioxydant a révélé que la matrice miel à base de résine de pin d'Alep, possède un pouvoir antioxydant meilleur (60%), en comparaison à d'autres matrices. La résine et ses matrices, ainsi ses mucilages, partagent un même groupement fonctionnel, qui est l'Ester.

L'extrait ethanolique de la résine de pin d'Alep, et la matrice miel à base de résine de pin d'Alep possèdent des zones d'inhibitions intermédiaires contre les souches *Staphylococcus aureus* Mu50 et *Staphylococcus aureus* ATCC25923 respectivement ($1,7 \pm 0,15$ cm et $1,3 \pm 0$ cm contre *S. aureus* Mu50) et ($1,8 \pm 0,14$ cm et $1,8 \pm 0,17$ cm contre *S. aureus* ATCC 25923).

Il serait intéressant de compléter la présente étude en développant les points suivants:

- Isolement et purification des substances bioactives de la résine de pin d'Alep;
- Le test de toxicité de ces substances;
- D'autres activités pharmacologiques in-vivo.

A

1. **Adossides A. (2003).** La filière plantes aromatiques & médicinales, FAO projet ; Assistance au Recensement Agricole. 70p.
2. **Allard-Bain, L. (2017).** État des lieux de la prise en charge des laryngites aiguës Sous-glottiques aux urgences pédiatriques dans les centres hospitalo-universitaires De France. Thèse de doctorat en médecine. Université de Brest – Bretagne Occidentale.65 Pages.
3. **Ammari, M., Mechouche, K. (2017).** Contribution à l'étude des activités biologiques de la résine de *Pinus halpensis* Mill. Mémoire de Master 2 : Pharmacologie moléculaire. Université A.Mira-Béjaïa.11p.
4. **Ammari, Y., Sghaier, T., Khaldi, A., Garchi, S. (2001).** Productivité du pin d'Alep en Tunisie: Table de Production. Annales de l'Ingref N° Special, 239-246.
5. **Anderson, TJ., Grégoire, J., Pearson, GJ., Barry, AR., Couture, P., Dawes, M., Francis, GA., Genest, J., Grover, S., Gupta, M., et al. (2016).** Canadian Cardiovascular Society Guidelines for the management of dyslipidemia for the prevention of cardiovascular disease in the adult. Canadian Journal of Cardiology. doi: 10.1016/j.cjca.2016.07.510.
6. **Aubrey, Pierre & Bernard-Alex Gaüzère. (2022).** Médecine tropicale. Consulté le 16 septembre 2022, à l'adresse <http://medecinetropicale.free.fr>.
7. **Aubruchet, H. (2016).** Prévention et prise en charge des pathologies de l'oreille, par Le pharmacien d'officine. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en Pharmacie. Université angers. 109 Pages.
8. **Avril, J. L., et al. (1992).** Bactériologie clinique. [éd.] Edition Marketing. 2^{ème} Edition. ISBN2-7298-9218-4.

B

9. **Ballorini, M. (2014).** Utilisation du test de diagnostic rapide des angines en Officine : Etude pilote sur le bassin de Santé de Montauban, Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse, France. 69p.
10. **Baradat, Ph., Bernard-Dagan, C., Fillon, C., Marpeau, A., Pauly, G. (1972).** Les terpènes du Pin maritime : aspects biologiques et génétiques. II — hérédité de la teneur en monoterpènes. *Annales des sciences forestières* 29, 307–334.
<https://doi.org/10.1051/forest/19720301>
11. **Belhouchet, A., & Rabie, B. E. L. G. A. C.EM. (2021).** Screening phytochimique et activités Biologique de l'artemisiaabsinthium (Doctoral dissertation, université Larbi Tébessi Tébessa).
12. **Benahmed Djilali, A., Nabiev, M., Gelicus, A., Benamara, S., & Allaf, K. (2016).** Evaluation of Physical-Chemical, Pharmacodynamic and Pharmacological Attributes of Hot Air Dried and Swell Dried Jujube Powder .*Journal of Food Process Engineering*, 40(2), e12364. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12364>
13. **Berche, P. (2003).** Les bactéries des infections respiratoires communautaires. *Bacteriologie systématique D.C.E.M 1*. Faculté de médecine Neker-Enfant malade. Pages: 48-62.
14. **Bergonzi, M.C., Bilia, A.R., Gallori, S., Guerrini, D. & Vincieri, F.F. (2001).** Variability in the content of the constituents of *Hypericum perforatum* L. and some commercial extracts. *Drug Development and Industrial Pharmacy*.27: 491–497.
15. **Bernard-Dagan, C. (1988).** Les substances de réserve du Pin maritime: Rôle éventuel des métabolites secondaires. *Bulletin de la Société Botanique de France* .Actualités Botaniques 135, 2540.<https://doi.org/10.1080/01811789.1988.10826883>
16. **Bisno, AL. (1996).** Acute pharyngitis: etiology and diagnosis .*Pediatrics*; 97: 949-54.

17. **Blanche, C. A., Lorio, P.L., Sommers, R.A., Hodges, J.D., Nebeker, T.E. (1992).** Seasonal cambial growth and development of loblolly pine: Xylem formation, inner bark chemistry, resin ducts, and resin flow .Forest Ecology and Management 49, 151-165.[https://doi.org/10.1016/03781127\(92\)90167-8](https://doi.org/10.1016/03781127(92)90167-8)
18. **Böhm, V., Puspitasari-Nienaber, N. L., Ferruzzi, M. G. & Schwartz, S. J. (2001).** Trolox Equivalent Antioxidant Capacity of Different Geometrical Isomers of α -Carotene, β -Carotene, Lycopene, and Zeaxanthin. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50, 1, 221-226.
19. **Bouazza, F. (2013).** Intérêt de la mycorhization contrôlée du Chêne vert (*Quercus ilex* L.) et du Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Miller) par deux espèces de Terfez, en conditions gnotoxéniques et axéniques. Université d'Oran Es-Senia Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biotechnologie. 99 pages
20. **Boulâacheb, N. (2010).** La résine de *pinus halepensis* Mill. Usage traditionnel par la Population de la petite kabylie (algerie, nord afrique).Acta Horticulturae. International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants.853: 435-438.
21. **Bourillon, A., Benoist, G. (2011).** Pédiatrie connaissances et pratique, Elsevier Masson, 19 déc.2011.
22. **Britton, G., Liaaen-Jensen, S. et Pfander, H. (2008).** Special Molecules, Special Properties. Carotenoids. G. Britton, S. Liaaen- Jensenet H Pfander. Basel-Boston-Berlin, Birkhäuser Verlag. 4, 1-6.
23. **Brochiero, F., Chandioux, O., Ripert, C., Vennetier, M. (1999).** Autécologie et croissance du pin d'Alep en Provence calcaire. Forêt Méditerranéenne, 20(2): 215-224.
24. **Brule et ALL. (2002).** L'examen clinique dans la pratique infirmière. Edition du Renouveau pédagogique. 733p.
25. **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. Technique et documentation Lavoisier. 3 : 286-347 ; 632-643.

26. **Bruneton, J. (1999).** « pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales », Ed. Lavoisier. Technique et documentation, Paris, 2^{ème} Édition, p 632-643.

C

27. **Chaboud, L. (2018).** Prise en charge ambulatoire des sinusites aigue infectieuse de L'adulte. Thèse pou le diplôme d'état de docteur en médecine. Université de Poitiers, 73 Pages.
28. **Collège Français des Pathologistes (CoPath). (2012).** La réaction inflammatoire. Les inflammations.
29. **Coppen, J.J.W et Hone, G.A. (1995).** Gum naval stores, turpentine and rosin from pine resin. Food and Agriculture Organization of the United Nations 1–62.
30. **Courau, C. (1999).** La relance du gemmage en forêt de Gascogne, éd. des Régionalismes. ed, Radics. PyrÉMonde.
31. **Cuisnier, O. (2002).** Les angines ; Faculté de Médecine de Grenoble ; ed ; 1-6

D

32. **Dahman, M. (1986).** Les produits du pin d'Alep en Tunisie .option 86/1CIHEAM.
33. **Debry, C., Mondain, M., Reyt, T. (2011).** Collège Français d'ORL et de Chirurgie.
34. **Decastro, N & Molina, J. (2011).** Infections respiratoires basses de l'adulte. EMC (Elsevier Mason SAS, Paris), pneumologie 6-003-D-10. 2011.
35. **Delacourt, C. (2001).** Physiopathologie de la toux. Arch Pédiatrie; 8:600 – 602.
36. **Dieng, S. I. M., Fall, A.D., Diatta-Badji, K., Sarr, A., Sene, M., Sene, M., Mbaye, A., Diatta, W., & Bassene, E. (2017).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 11(2), 768. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v11i2.19>

37. **Djerrad., 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.
38. **Djoubari, B., Kalem, L. (2020).** Prévalence des infections respiratoires d'origine bactérienne au niveau de CHU Mustapha Bacha. Mémoire Master 2 : Microbiologie appliquée .UAMOB, P 1-21.
39. **Dorin, J. (2012).** Etude épidémiologique des infections respiratoires virales des Hivers 2009 à 2012 en milieu hospitalier et apport des nouvelles technologies au diagnostic viral. Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur en Pharmacie. Lorraine: Université De Lorraine, 2012. 96 Pages.
40. **Drici, S., Drici, A. (2009).** Etude de la qualité de l'huile d'olive algérienne : effet des conditions de stockage. Mémoire de Master 2 : Chimie physique. Université 8 mai 1945 Guelma, 51-61p
41. **Dubey, P., Gupta, R. (2018).** Influences of dual bio-fuel (Jatropha biodiesel and turpentine oil) on single cylinder variable compression ratio diesel engine. *Renewable Energy* 115, 1294–1302. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.09.055>

E

42. **Ebadi, M. (2001).** Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine .CRC Pres LLC.
43. **Ebrahimzadeh, M. A., Pourmorad, F. & Bekhradnia, A.R. (2008).** Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *African Journal of Biotechnology*.7 (18): 3188-3192.
44. **Eddaoudi, S. (2016).** Les mycoses profondes à propos de 7 cas. Thèse pour l'obtention de diplôme doctorat en médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, 2016. 84 Pages.
36. Eeckels, R et j, e. 1996. Pédiatrie Capita Selecta. (Garant, Éd.) louvain(belgique) : s.n., 1996. Pages : 89-90.

45. **El Hilah, F., Ben Akka, F., Dahmani, J., Belahbib, N. & Zidane L. (2015)**. Etude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des infections du système respiratoire dans le plateau central marocain. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 25: 3886-3897.

F

46. **Fancès, M. (2019)**. Etude de la mise au point d'un vernis industriel à base de colophane et d'huile végétale. Thèse doctorat : Polymères. Université de Pau et des Pays de l'Adour, 21-25 p.
47. **Fauchre, J. (1997)**. Bactériofishes techniques en Bactériologie clinique. Edition Ellipses. 174p.

G

48. **Gazengel, J-M. & Orecchioni, A-M. (1999)**. «Le préparateur en pharmacie, guide théorique et pratique», 1ère édition, éditions médicales internationales, pp. (882, 884, 1222, 1243).
49. **Ghanmi, M., Satrani, B., Chaouch, A., Aafi, A., Abid, A.E., Ismaili, M.R., Farah, A., (2007)**. Composition chimique et activité antimicrobienne de l'essence de térébenthine du pin maritime (*Pinus pinaster*) et du pin d'Alep (*Pinus halepensis*) du Maroc. *Acta Botanica Gallica* 154, 293–300. <https://doi.org/10.1080/12538078.2007.10516058>
50. **Guesnet, P., Alessandri, J. M., Astorg, P., Pifferi, F., & Lavalie, M. (2005)**. Les rôles physiologiques majeurs exercés par les acides gras polyinsaturés (AGPI). *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 12(5-6), 333-343. <https://doi.org/10.1051/ocl.2005.0333>
51. **Guillaume, G. (2017, 15 décembre)**. La chromatographie en phase gazeuse : principe. *CultureSciences-Chimie*. <https://culturesciences.chimie.ens.fr/auteurs/guillaume-george>
52. **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). Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques, Ecole nationale supérieure d'agronomie, Alger.

53. **Gülçin, I., Büyükokuroglu, M.E., Oktay, M., Küfreviöglu, O.I. (2003).** Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra* Arn .subsp. *pallsiana* (Lamb.) Holmboe. *J Ethnopharmacol* 86, 51–58. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(03\)00036-9](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(03)00036-9)

H

54. **Haboni- M AAl. (2002).** Propriétés pharmacologiques. En GA Petropoulos (Ed.). *Fenugrec: Le genre Trigonella "*, Londres: Taylor et Francis; pp: 162-163).
55. **Haffane, M. (1982).** Contribution à l'étude du comportement de *Pinus halepensis* dans les reboisements de Zoumi Mokrissat. Mémoire 3 cycle, I.A.V. Hassan II, Rabat.
56. **Hammiche, V. (2015).** Traitement de la toux à travers la pharmacopée traditionnelle kabyle *Phytothérapie*. 13, pp. 358 – 372.
57. **Hamza, Y. (2016).** La dyspnée laryngée chez l'enfant. Thèse pour l'obtention de Diplôme doctorat en médecine. Université Mohammed Ben Abdellah. 111 pages.
58. **Herzi, N. (2013).** Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO₂ – supercritique et des techniques conventionnelles. Thèse doctorat : Génie des procédés et de l'environnement. Université de Toulouse, 58p.
59. **Holiste. (2017).** Biogemme is innovating the way pine resin is collected. Holiste Laboratoire et Développement.
60. **Horaud, T. (1982).** *Streptococcaceae*. In *Bactériologie Médicale* par Le Minor L. Veron M. Med .Sc. Flammarion –Paris. Pages : 528-549.
61. **Humair, J.L. (2013).** Les infections des voies respiratoires supérieures (IVRS), Service de médecine de premier recours, HUG. Disponible sur: https://www.hugge.ch/sites/interhug/files/structures/medecine_de.../ivrs_arce.pdf (Consulté le 17.03.2019).

62. **Hunter, M. (2015)**. Les affections de larynx. Disponible sur : <http://infirmier-freedom.blogspot.com/2015/06/les-affections-de-larynx.html> (Consulté le 26.03.2019).

J

63. **Jacues Brosse. (2003)**. Larousse des arbres dictionnaire des arbres et des arbustes, Edition Rustica/ FLER, N° de l'éditeur ; 48396N1 (F12062). Paris, 325p.
64. **Joris, P. J., Mensink, R. P. (2016)**. Role of cis-Monounsaturated Fatty Acids in the Prevention of Coronary Heart Disease. *Current Atherosclerosis Reports*; 18(7):38. doi: 10.1007/s11883-016-0597-
65. **Joye, N. M., Lawrence, R.V. (1967)**. Resin Acid Composition of Pine Oleoresins. *Journal of Chemical and Engineering Data* 12, 279–281.
66. **Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E.A., Stevens P. (2002)**. Relation phylogénétique entre les principaux groupes de trachéophytes à l'exclusion des angiospermes « Spermatophytes non angiospermes ». In : « Botanique système ». Ed. De Boeck. ISBN, Paris.152, pp. 2-7445-0123-9.

K

67. **Kadik, B. (1987)**. Contribution à l'étude du pin d'Alep (*Pinus halepensis Mill*) en Algérie : Ecologie, Dendrométrie, Morphologie. Office des publications universitaires (Alger). 585p.
68. **Kadri., Khettal, B., Aid, Y., Kherfella, 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.
69. **Kanerva, M., Puolakka, A., Takala, T.M., Elert, A.M., Mylläri, V., Jönkkäri, I., Sarlin, E., Seitsonen, J., Ruokolainen, J., Saris, P., Vuorinen, J.(2019)**. Antibacterial polymer fibres by rosin compounding and melt-spinning .*Materials Today Communications* 100527. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2019.05.003>

70. **Karthikeyan, R., Mahalakshmi, N.V. (2007).** Performance and emission characteristics of a turpentine– diesel dual fuel engine .Energy 32, 1202–1209. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2006.07.021>
71. **Khaiti, M. (1983).** Les Broncho-pneumopathies Aiguës Dyspensiantes (BPAD). [éd.] Ed Hydra Alger. Pages 2-15.
72. **Kızılarıslan, C., Sevgi, E. (2013).** Ethnobotanical uses of genus Pinus L. (Pinaceae) in Turkey. Indian J Tradit Knowle.12, p. 209 -220.
73. **Konate, I., & Al, E. (2022).** Profil bactériologique et pronostique des pneumonies bactériennes non tuberculeuses chez les patients VIH au Mali. Revue Malienne d'Infectiologie et de Microbiologie, 17(1), 46-53. <https://doi.org/10.53597/remim.v17i1.2226>
74. **Kulkarni, G.T., Satish, K.M.N., & BSuresh. (2002).** Gommess et les mucilages: applications thérapeutiques et pharmaceutiques. Natural Radiance produit, 10--17.

L

75. **Ladjal, S. (2012).** Activité antimicrobienne des métabolites secondaires des champignons endophytes isolés du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) de la région de M'sila, Université Ferhat Abbas-Sétif. 76pages.
76. **Lakreb, N., Sen, U., Bezzazi, B., & Pereira, H. (2022).** The physicomechanical and thermal properties of Algerian Aleppo pine (*Pinus halepensis*) wood as a component of sandwich panels. iForest – Biogeosciences and Forestry, 15(2), 106-111. <https://doi.org/10.3832/ifor3952-015>
77. **Langenheim, J.H. (2003).** Plant Resins – Chemistry, Evolution, Ecology and Ethnobotany. Edition p. 24-24
78. **Leophonte, P. (1999).** Prise en charge des infections respiratoires basses Communautaires : Définitions, épidémiologie, facteurs de risque et prévention. In, Revue des maladies respiratoires. Supplément. Masson.

79. **Leung, YI. (2014).** Staphylococcus aureus encyclopédie de toxicologie (troisième édition).
80. **Lorio, P.L. (1986).** Growth-differentiation balance: A basis for understanding southern pine beetle-tree interactions. *Forest Ecology and Management* 14, 259–273. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(86\)90172-6](https://doi.org/10.1016/0378-1127(86)90172-6)

M

81. **Mansour, S. (2015).** Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : ArtemisiaabsinthiumL, Artemisia herba alba AssoetHypericumscarboides Etude in vivo Thèse De Doctorat, Université des Sciences et de la Technologie D'Oran Mohamed Boudiaf.
82. **Maree, M., Thi Nguyen, L. T., Ohniwa, R. L., Higashide, M., Msadek, T., & Morikawa, K. (2022).** Natural transformation allows transfer of SCCmec-mediated methicillin resistance in Staphylococcus aureus biofilms. *Nature Communications*,13(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29877-2>
83. **Maroc Mohamed Ghanmi., Badr Satrani., Abdelaziz Chaouch ., Abderrahman Aafi., Abdelhak El Abid ., Moulay Rchid Ismaili & Abdellah Farah . (2013).** « Composition chimique et activité antimicrobienne de l'essence de térébenthine du pin maritime (*Pinus pinaster*) et du pin d'Alep (*Pinus halepensis*) » 26 Apr 2013
84. **Masten, S., Haneke, K.E., Box, P.O. (2002).** Turpentine (Turpentine Oil, Wood Turpentine, Sulfate Turpentine, Sulfite Turpentine) [8006-64-2] Review of Toxicological Literature 88.
85. **Mauffrey, V. (2012).** Rhinopharyngite aigue en médecine générale : pourquoi encore tant de prescriptions médicamenteuses?. Thèse Pour obtenir le grade de docteur en médecine. Université de Lorraine ,120 pages.

86. **Maurisse, A. (2009).** Angine et prescription d'antibiotiques : Impact de l'utilisation systématique du score de mac Isaac ; Thèse de doctorat : université; Denis Disedot (paris 7) faculté de médecine en France ; P 9-22
87. **Mc Lafferty, E., Johnstone, C., Hendry, C., Farley, A. (2013).** Respiratory system part 1: pulmonary ventilation. *Nurs Stand.* 27(22):40-7
88. **Modugno, F., Ribechini, E., & Colombini, M.P. (2006).** Aromatic resin characterization by gas chromatography-mass spectrometry: Raw and archaeological materials. *Journal of Chromatography.* 85 : 164-173.
89. **Moinard, J., Manier, G. (2000).** Physiologie de la toux. *Rev Mal Respir;* 17(1):23–28.
90. **Monnot, J. (2014).** Prise en charge de la douleur de l'otite de l'enfant de moins de 3 ans en médecine générale. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine. Paris: Université Paris Diderot - Paris7, 115 pages.
91. **Motte-Florac, E. (2000).** Les utilisations médicinales de la résine de Pin dans le centre du Mexique : la disparition d'un savoir, *Acta Botanica Gallica : Botany Letters.* 147(3) :303-304.
92. **Mueller-Harvey, I. (2001).** Analysis of Hydrolysable tannins .*Animal Feed Science and Technology.*91: 3-21.
93. **Mueller, L. & Boehm, V. (2011).** Antioxidant Activity of β -Carotene Compounds in Different *in Vitro* Assays. *Molecules,* 16, 1055-1069.

N

94. **Nahal, I. (1962).** Le pin d'Alep. Étude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. *Annales de l'école Nationale des Eaux et Forêts.* **19** (4), pp.533-627.

95. **Nahal, I. (1986).** Taxonomie et aire géographique des pins du groupe *halepensis*. In : options méditerranéennes, Série Etude Ciheam 86/1. Le pin d'Alep et le pin brutia dans la sylviculture méditerranéenne ,1-9 p.
96. **Narayanan, M., Loganathan, S., Valapa, R.B., Thomas, S., Varghese, T.O. (2017).** UV protective poly (lactic acid)/rosin films for sustainable packaging. International Journal of Biological Macromolecules 99, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.152>
97. **Neis, F.A., de Costa, F., de Araújo, A.T., Fett, J.P., Fett-Neto, A.G. (2019).** Multiple industrial uses of non-wood pine products. Industrial Crops and Products 130, 248–258. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.088>
98. **Nijveldt, R.J., van Nood, E., van Hoorn, DEC., Boelens, PG., van, Norren K., van Leeuwen, PAM .(2001).** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. A.J.C.N **74**: 418-425.

O

99. **OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2003).** Principes méthodologiques généraux pour la Recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle ,31-35 p.

P

100. **Pallardy, S.G. (2008).** Chapter 8 - Lipids, Terpenes, and Related Substances, in: Pallardy, S.G. (Ed.), Physiology of Woody Plants (Third Edition). Academic Press, San Diego, pp. 217–232. <https://doi.org/10.1016/B978-012088765-1.50009-9>
101. **Parde, J. (1957).** La productivité des forêts de pin d'Alep en France. Ann., E.N.E.F et S.R.E., 15 (2): 367-414.
102. **Pessey, J.J. (2008).** Angines et pharyngites de l'enfant et de l'adulte.
103. **Phillips et Croteau. (1999).** Resin-based defenses in conifers.T.P.S. 4, 184–190.

104. **Pilly, E. (1994)**. Maladies infectieuses. Ed Med. Sce. Flammarion-Paris.page: 61-64.

Q

105. **Quézel, P. (2000)**. Taxonomy and biogeography of Mediterranean pines (*Pinus halepensis* and *Pinus brutia*). In: Ecology, Biogeography and Management of *Pinus halepensis* and *P. Brutia* Forest Ecosystems in the Mediterranean Basin. Eds., Néeman G., Trabauds L., Backhuys Publishers, Leiden,pp. 1-12.

R

106. **Ramdani-Bouguessa, N & Rahal, K. (2005)**. Diagnostic Bactériologique des Infections Broncho-pulmonaires. Techniques microbiologiques. Institut Pasteur d'Algérie.

107. **Ravelonirina, H.F. (2022)**. Reduction de la teneur en bitume dans l'enrobe par ajout de resine de pin. Mémoire de Master 2: Science et Ingénierie des Matériaux. Université d'Antananarivo, 4p.

108. **Rezzi, S., Bighelli, A., Castola, V., Casanova, J. (2005)**. Composition and chemical variability of the oleoresin of *Pinus nigra* ssp. *laricio* from Corsica. *Industrial Crops and Products* 21, 71–79 . <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2003.12.008>

109. **Rodrigues, K.C.S., Fett-Neto, A.G. (2009)**. Oleoresin yield of *Pinus elliottii* in a subtropical climate: Seasonal variation and effect of auxin and salicylic acid-based stimulant paste. *Industrial Crops and Products* 30, 316–320. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.06.004>

110. **Rodríguez-García, A., López, R., Martín, J.A., Pinillos, F., Gil, L. (2014)**. Resin yield in *Pinus pinaster* is related to tree dendrometry, stand density and tapping-induced systemic changes in xylem anatomy. *Forest Ecology and Management* 313, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.10.038>

111. **Rubini, M., Clopeau, A., Sandak, J., Dumarcay, S., Sandak, A., Gerardin, P., & Charrier, B. (2022)**. Characterization and classification of *Pinus* oleoresin samples according to *Pinus* species, tapping method, and geographical origin based on chemical composition and

chemometrics.Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 42, 102340.
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102340>

112. **Ruste, J. (2017)**. Microscopie électronique à balayage – Principe et équipement. Techniques d'analyse. <https://doi.org/10.51257/a-v3-p865>

S

113. **Sagdic, O., Kuscu, A., Özcan, M., Özcelik, S. (2002)**. Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of Escherichia coli O157:H7. Food Microbiology. 19: 473-480

114. **Sanogo, B. (2010)**. Etude des infections respiratoires aiguës en milieu communautaire chez les enfants de moins de 5 ans dans les régions de Kayes, 72 Sikasso, Segou et Mopti. Thèse pour l'obtention de diplôme doctorat en Médecine. Bamako : l'Université de Bamako, 46 pages.

115. **Saravanan, S., Arunachalam, K. & Parimelazhagan, T. (2014)**. Antioxidant, analgesic, anti-inflammatory and antipyretic effects of polyphenols from Passiflora subpeltata leaves a promising species of passiflora. Industrial.Crops.Product.54: 272-280.

116. **Schwingshackl, L., Hoffmann, G. (2014)**. Monounsaturated fatty acids, olive oil and health status: a systematic review and meta-analysis of cohort studies .Lipids in Health and Disease; 13:154. doi: 10.1186/1476-511x-13-154.

117. **Scrivani, Peter. (2022)**. The Respiratory System .Veterinary Head and Neck Imaging. JohnWiley & Sons. Ed, Wiley.800p.

118. **Seigue, A. (1985)**. Le foret circumméditerranéen et ses problèmes. *Ed Maisonneuve et Larose*, paris, 502p.

119. **Seladji, D. (2014)**. Compositions chimiques, propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles des racines de trois pinaceae d'Algérie, université abou bekr belkaïd de Tlemcen .page 33.

120. **Servant, L., le Bourdon, G., & Buffeteau, T. (2011).** Comprendre la spectroscopie infrarouge : principes et mise en œuvre. *Photoniques*, 53, 68-73. <https://doi.org/10.1051/photon/20115368>
121. **Siems, W., Sommerburg, O., Schild, L., Augustin, W., Langhans, C.-D. et Wiswedel, I. (2002).** Beta-carotene cleavage products induce oxidative stress in vitro by impairing mitochondrial respiration *The FASEB Journal*, 16, 1289-1291.
122. **Singleton, P & Sainbury, F. (1987).** Bactériologie. Ed Masson –Paris. Pages : 147-205.
123. **Smeltzer, S., Bare B. (1992).** «Soins infirmiers en médecine et chirurgie». 3ème édition française, pp. 64.
124. **Souleres, G. (1969).** Le pin d'alep en Tunisie. *Ann. Ins. Hist. Nat. afr., Nord, Alger*, 59(4) :23-36.

T

125. **Talbi, S. (2019).** Contribution à l'étude du dépérissement du pin d'Alep *Pinus halpensis* Mill. (Symptôme, cause et traitement) cas de la forêt de Draa El-Aoud à Mecheria (Wilaya de Naâma). Mémoire de Master 2 : Ecologie. Université de Tlemcen, 8-9p.
126. **Tiecoura, Bocoum. (2011).** Etude de l'infection *Haemophilus influenzae* type b en 2008 après l'introduction du vaccin anti *Haemophilus influenzae* type b chez les Enfants 0-15 ans hospitalisés dans le service pédiatrie du Chu Gabriel Toure. Thèse pour obtenir le Grade de Docteur en Médecine (Diplôme D'état). Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie, 104 pages.
127. **Tortora, F.C. (2012).** Introduction à la microbiologie. 2eme édition Renouveau Pédagogique Inc (Erpi). 831p. ISBN: 978-2-7613-4139-4.
128. **Traore, M. (2010).** Etude des Sinusites Maxillaires Au Centre Hospitalier Universitaire d'Odonto – Stomatologie (CHUOS) de Bamako. Thèse pour L'obtention du grade de Docteur en Médecine. Bamako : Université de Bamako, 101 pages.

129. **Tumen, I., Reunanen, M. (2010).** A Comparative Study on Turpentine Oils of Oleoresins of *Pinus sylvestris* L. from Three Districts of Denizli. *Records of Natural Products* 4.

U

130. **Ulukanli, Z., Karabörklü, S., Bozok, F., Ates, B., Erdogan, S., Cenet, M., Karaaslan, M.G. (2014).** Chemical composition, antimicrobial, insecticidal, phytotoxic and antioxidant activities of Mediterranean *Pinus brutia* and *Pinus pinea* resin essential oils. *Chin J Nat Med* 12, 901–910. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(14\)60133-3](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(14)60133-3)

131. **UNICEF. (2002).** Guide des Infections Respiratoires Aiguës. Comité National de Lutte contre les Infections Respiratoires Aiguës de l'Enfant. Directive Technique. Alger. Pages: 17-65.

V

132. **Vallinayagam, R., Vedharaj, S., Naser, N., Roberts, W.L., Dibble, R.W., Sarathy, S.M. (2017).** Terpeneol as a novel octane booster for extending the knock limit of gasoline. *Fuel* 187, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.09.034>

133. **Valour, F., Chebib, N., Gillet, Y., Reix, P., Laurent, F., Chidiac, C., & Ferry, T. (2013).** Infections broncho-pulmonaires à *Staphylococcus aureus*. *Revue de Pneumologie Clinique*, 69(6), 368-382. <https://doi.org/10.1016/j.pneumo.2013.08.004>

134. **Vaysse, C., Simon, N., Tressou, J., Pasteau, S., Buaud, B., Guesnet, P., Couedelo, L., & Billeaud, C. (2019).** Niveau de consommation en acides gras polyinsaturés de la femme allaitante en France : étude de consommation INCA 2 et évolution du contenu en acides gras essentiels du lait maternel de 1997 à 2014. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 54(1), 35-43. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2018.11.004>

135. **Venet, J. (1986).** Identification des outils et méthodes utilisées à Dynafor concernant la Dendrochronologie.

136. **Verma, V.P.S., Pant, S.P. (1978).** Performance of slash pine (*Pinus elliottii* Engelm.) vis-à-vis chirpine (*Pinus roxburghii* Sargent) in respect of oleoresin yield at Dehra Dun. *Indian forester*.

W

137. **Walrand, S., Fisch, F., & Bourre, J. M. (2010).** Tous les acides gras saturés ont-ils le même effet métabolique ? *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 24(2), 63-75. <https://doi.org/10.1016/j.nupar.2010.02.003>

138. **Wang, S.Y., Zheng, W. (2001).** Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in Strawberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49:4977–4982.

139. **Widdicombe JG. (1995).** Neurophysiology of the cough reflex .*Eur Respir J*; 8(7):1193–1202.

Y

140. **Yapo, T., Adehoss, E., Astier, H et al. (2012).** E-Pilly TROP2012 – Maladies Infectieuses tropicales. Paris : Editions alinéa plus, pages : 204-241.

141. **Youenn, A. (2014).** Développement d'une application oropharyngée de Lactobacilles pour lutter contre les infections respiratoires à *Pseudomonas Aeruginosa*. Thèse pour obtenir le titre de docteur en Biologie-Santé. Université de Bretagne Occidentale, 188 pages.

Z

142. **Zanzoul, M. (2011).** Le profil de sensibilité des principales bactéries isolées des prélèvements pulmonaires essentiellement les prélèvements distaux protégés à L'exception des mycobactéries. Thèse pour l'obtention du doctorat en Pharmacie. Rabat : Université Mohammed V, 99 pages.

Autres références

Banques de données : (Google scholar, PubMed, Elsevier, nature, HAL,)

Dictionnaire SAIDAL. (2005).

Annexe

1) Matériel utilisé

| Produits chimiques |
|--|
| Eau distillée |
| Acide chlorhydrique (HCl) |
| Acétate de sodium (CH ₃ COONa) |
| Copeau de Mg |
| 2,2-diphényl-picrylhydrazyl (DPPH) |
| Acétone |
| Ethanol |
| Méthanol |
| Trichlorure d'aluminium (ALCL ₃) à 2% |
| Alcool 2 butanol |
| hydroxyde de sodium (NaOH) |
| Chloroforme |
| Ammoniaque |
| H ₂ SO ₄ |
| Hydroxydique de potassium KOH (10%) |
| Sulfate de Sodium Anhydre (NA ₂ SO ₄ H ₂ O) |
| Phénolphtaléine (C ₂₀ H ₁₄ O ₄) |
| Chlorure ferrique (FeCl ₃) |

| Matériels et Appareillage |
|----------------------------------|
| Plaque chauffante |
| Erlenmeyer |
| Tubes à essais |
| Papier filtre |
| Fioles |
| Bain marie |

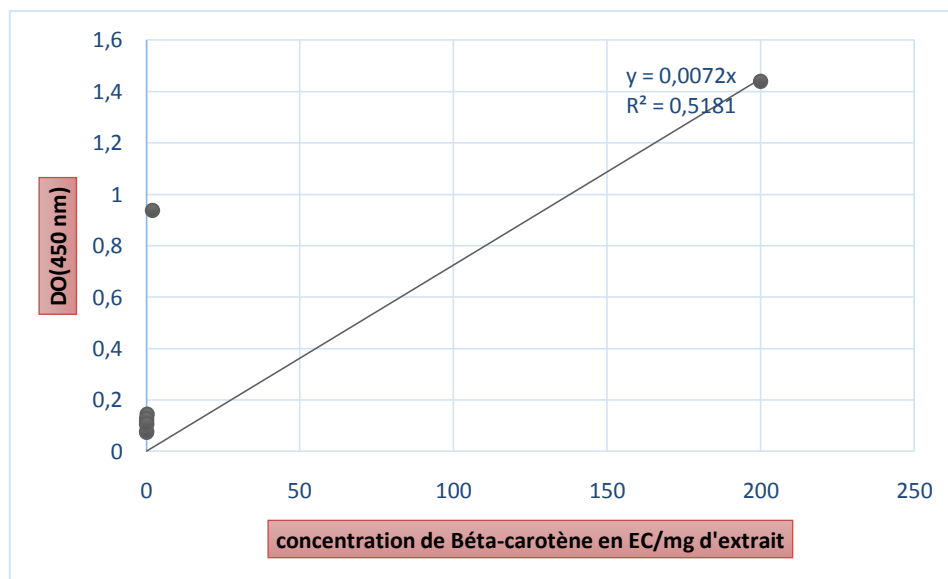
| |
|------------------------------------|
| Fioles jaugées |
| pH mètre |
| Etuve |
| Dessiccateur |
| Balance |
| Four a moufle |
| Creusets en porcelaine |
| Appareil soxhlet |
| Rotavapeur |
| Balance électronique |
| Spatules |
| Capsules en aluminium |
| Béchers |
| Appareil IR |
| Chromatogramme |
| Microscope électronique a balayage |
| Micropipette |
| Barreau magnétique |
| La hôte |
| Ampoule à décompter |
| Entonnoir |
| Mortier |
| Passoire |
| Pipette Pasteur |
| Four pasteur |
| Boites pétri |
| Embouts |
| Ecouvillons |
| Burette |
| Tubes à essais |
| Pince |
| Flacons en verre |
| Eprouvette graduée |

| |
|---|
| Souches bactériennes |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (Mu50) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) |

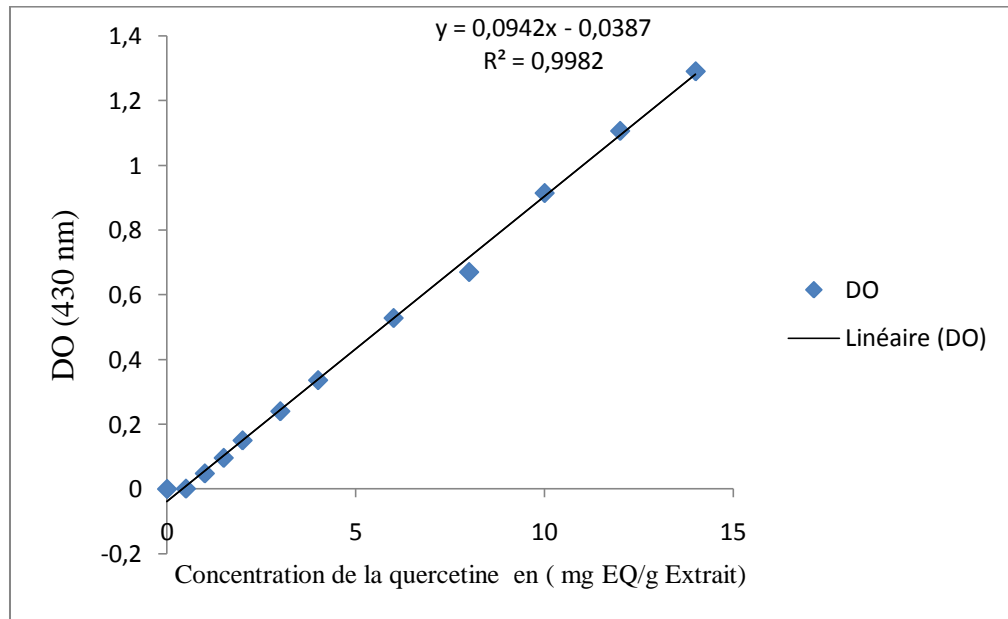
2) Représentation des concentrations de la gamme d'étalonnage

| | | | | | | | | | |
|-----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Dilutions | 10^{-1} | 10^{-2} | 10^{-3} | 10^{-4} | 10^{-5} | 10^{-6} | 10^{-7} | 10^{-8} | 10^{-9} |
| Concentrations | 200 | 2 | 0,2 | 0,02 | 0,002 | 0,0002 | 0,00002 | 0,000002 | 0,0000002 |

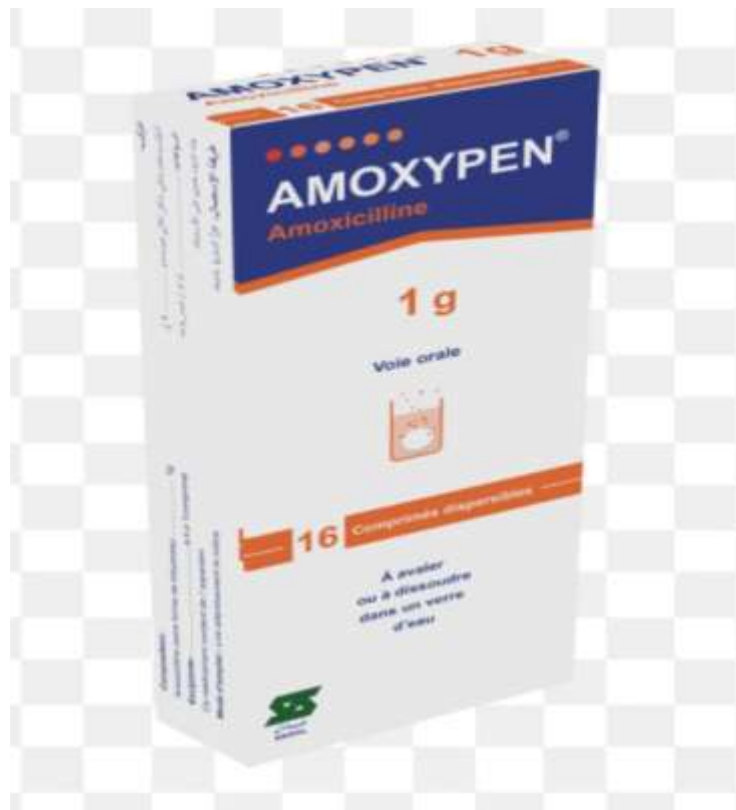
3) Courbe d'étalonnage des caroténoïdes



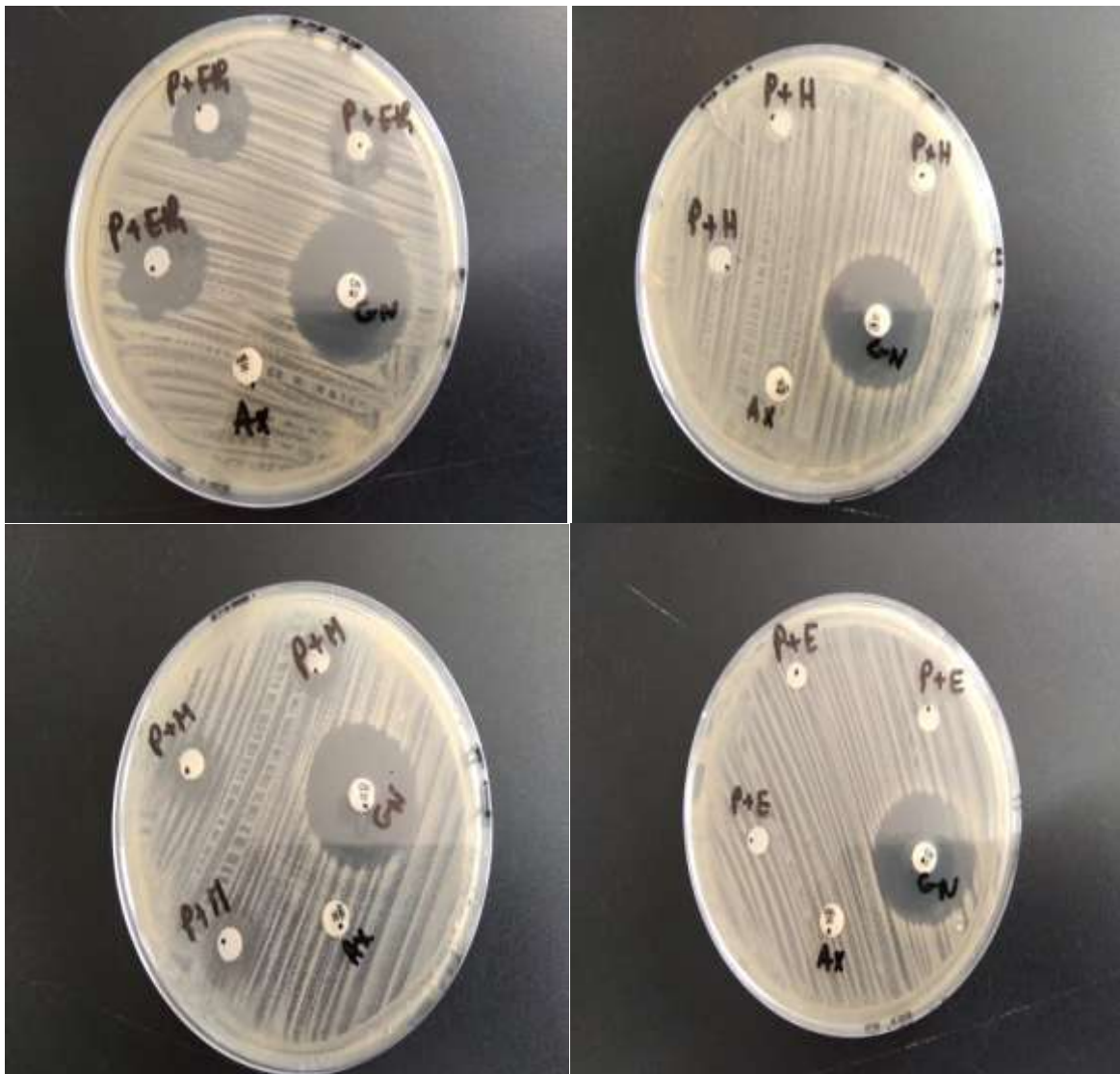
4) La courbe d'étalonnage des flavonoïdes.



5) Médicament (Amoxyphen)



6) Résultats de l'activité antimicrobienne



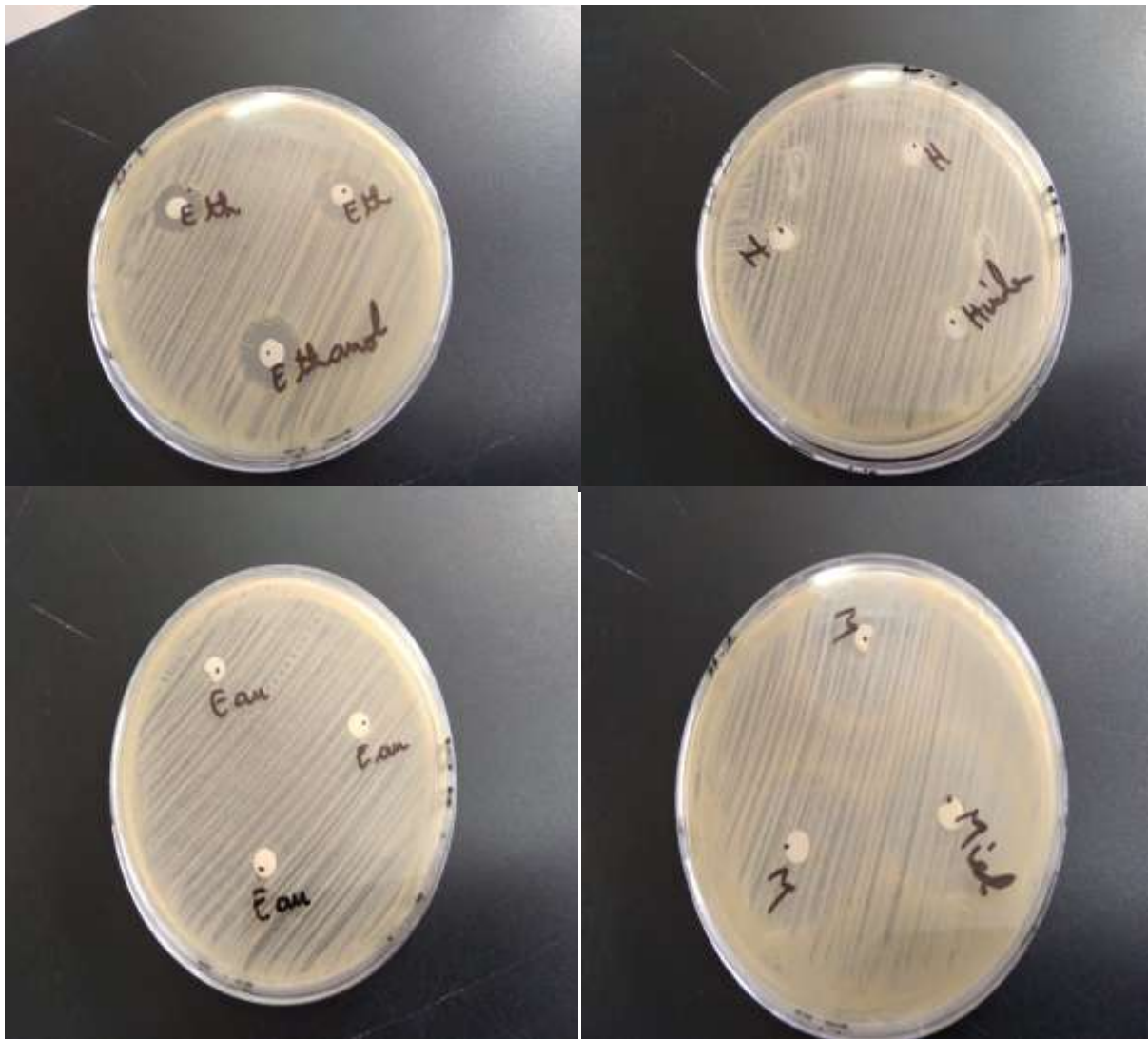
Résultats de l'antibiogramme des formulations vis-à-vis *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

P + M: poudre de résine de pin d'Alep + Miel de jujubier.

P + H: poudre de résine de pin d'Alep + Huile d'olive.

P + Eth: poudre de résine de pin d'Alep + Ethanol.

P + E: poudre de résine de pin d'Alep + Eau distillée.



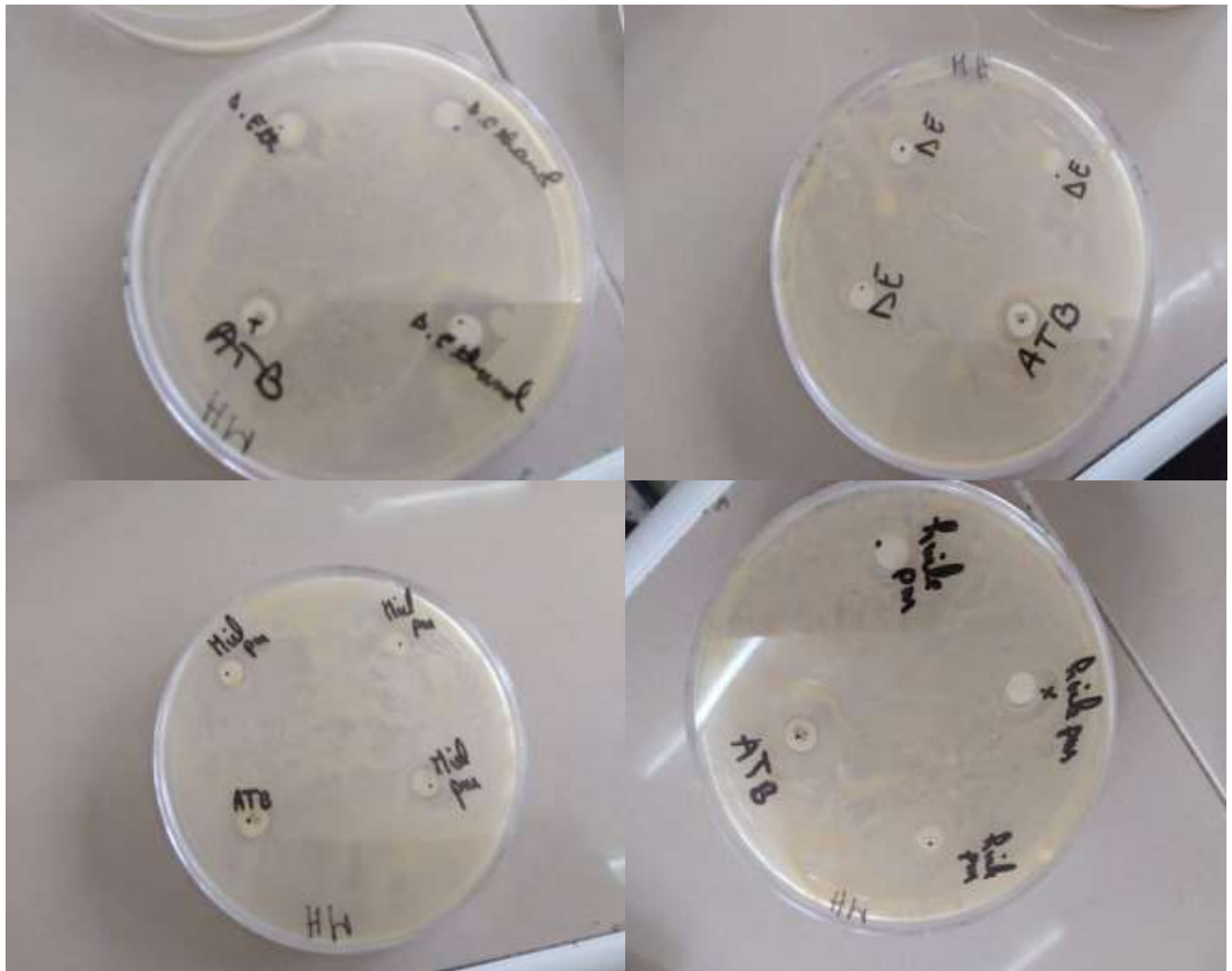
Résultats de l'antibiogramme des échantillons purs vis-à-vis *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

M: Miel (pur).

H: Huile d'olive (pur).

Eth: Ethanol (pur).

Eau: Eau distillée (pur).



Résultats de l'antibiogramme des échantillons purs vis-à-vis *Staphylococcus aureus* Mu50

M: Miel (pur).

H: Huile d'olive (pur).

Eth: Ethanol (pur).

Eau: Eau distillée (pur).

ATB: Antibiotique (Amoxypen)



Résultats de l'antibiogramme des formulations vis-à-vis *Staphylococcus aureus* Mu50.

(1: Zone de l'extrait éthanolique ; 2: extrait aqueux ; 3: zone de miel à base de résine ; 4: l'huile à base de la résine ; 5: zone du médicament Amoxyphen).