



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم : بиولوجيا النبات

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biodiversité et physiologie végétale

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques *in vitro* et *in vivo* des deux espèces : *Pinus halepensis* Mill. Et *Commiphora myrrha* L.

Présentée et soutenue par :

Saouchi ikram

Zella hadil

Jury d'évaluation :

Président : KARA Karima (MCA – Université Freres Mentouri Constantine)

Encadrant : CHIBANI Salih (MCA – Université Frères Mentouri Constantine)

Examinateur : BOUCHOUKH Imane (MCB – Université Freres Mentouri Constantine)

L'année universitaire :2024/2025

لِمَنْ يَرَى مِنْ لَفْظِي

Remerciement

Au terme de ce travail, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage et la volonté pour mener à bien ce mémoire.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à monsieur CHIBANI Salih, Il nous a guidé dans la conduite de ce travail et nous a aidé à trouver des solutions pour avancer, nous tenons à le remercier également pour sa patience et sa disponibilité tout au long de cette recherche.

Je remercie tout particulièrement Mme KARA Karima, Maître de conférences A au département d'écologie végétale qui a accepté de présider ce jury et dont les remarques constructives ont enrichi cette soutenance.

Je remercie également Mme BOUCHOUKH Imane, maître de conférences B, au département d'écologie végétale pour l'attention portée à mon mémoire ainsi que pour ses observations pertinentes, qui m'ont permis de porter un regard plus critique sur mes résultats.

Enfin, nous sommes reconnaissantes à l'ensemble des membres du jury pour le temps qu'ils ont consacré à la lecture et à l'évaluation de notre travail.

الحمد لله حبا و شكرأ و امتنان على البداء و الخاتم

﴿وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِّي الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ﴾

صدق الله العظيم

اهدي هذا النجاح لنفسي او لا ابتدت بطموح و انتهت بنجاح بكل حب اهدي ثمرة نجاحي و تخرجني و حصاد ما زرعته سنينا طوبية في سبيل العلم

الى الذي زين اسمي بأجمل الألقاب ، من دعمني بلا حدود و اعطاني بلا مقابل الى من علمني أن الدنيا كفاح و سلاحها العلم و المعرفة ، الى من غرس في روحي مكارم الأخلاق داعمي الأول في مسيرتي و قوتي و سندي بعد الله

الى فخري و اعتزازي **والدي العزيز عبد الكامل**

الى من جعل الجنة تحت أقدامها و احتضنني قلبها قبل يدها و سهلت لي الشدائيد بدعائهما لي ، الى اليد الخفية وراء جميع انجازاتي من دعمتي بلا حدود يا من اختصر الله فيها كل معاني الرحمة و الحنان

الى مصباح دربي الذي وهج حياتي **أمِي الغالية سليماء**

الى ضلعي الثابت و خيرة أيامي و قرة عيني أخي و أختي

نهاد و عبد الجليل

الى صديقة الدرب و العمر الى رفيقة الخطوة الأولى و الخطوة ما قبل الأخيرة

لمن كانت عوني بعد الله **ميره**

لكل من كان عونا و سندنا لي في هذا الطريق للأصدقاء الأوفياء ورفقاء السنين لأصحاب الشدائيد والأزمات

وأخيرا من قال أنا لها نالها ان أبت رغمما عنها أتيت بيها ، ما كنت لأفعل لو لا توفيق من الله هاهو اليوم العظيم هنا ،اليوم الذي أجريت سنوات الدراسة الشاقة حالمه فيها حتى توالىت بمنه و كرمه الفرحة التمام ، الحمد لله الذي به خيرا وأملنا و اغرقنا سرورا و فرحا ينسيني مشقتي

فهرين



اهدائي

الحمد لله الذي هيأ البدء و يسر العسر
وطيب المنتهى ، الحمد لله الذي أغرقني سرورا و جعل
طريقي يسيرا

لم يكن هذا الطريق الذي حلمت به ولا تمنيته يوما ، أهدى نجاحي هذا لنفسي بطلة كل .. شيء تبدوه فتكمله ..

إلى والدي العزيز الأستاذ السعيد الذي يشرفني بحمل اسمه و استمدت منه قوتي و .. اعتزازي بنفسي

إلى أطهر مخلوق على وجه المعمورة أمي الحبيبة مربية الأجيال و المرأة الحديدية التي لا تشبه أحدا حفظها الله و أطال عمرها

إلى توأم روحي و رفيقة الماضي و الحاضر ، المهندسة الصغيرة .. شقيقتي زينب

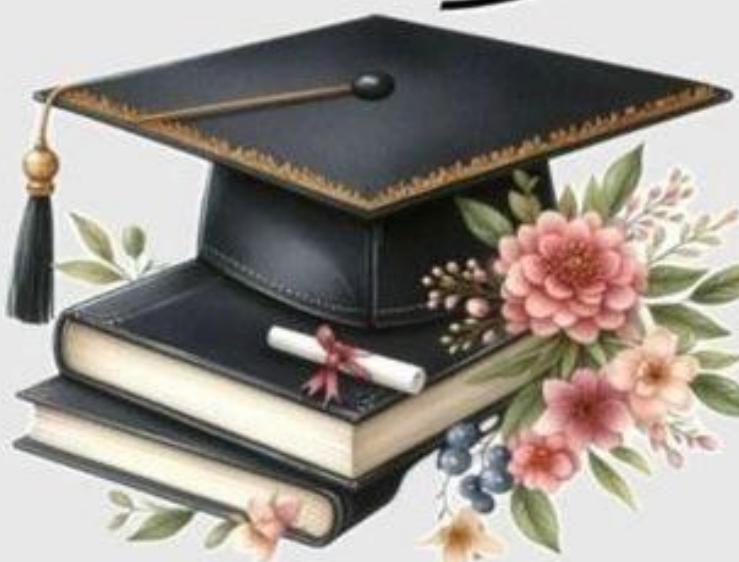
.. إلى بهجة بيتنا و قرة عيني حبيبتي إحسان

.. إلى أخوي يوسف و عبد الباري ضلعي الأيمن الذي لا ينحني

إلى صديقات محطات الدراسة .. خطوة خطوة .. إلى من هونوا مرارة الطريق ..

إلى طلبة غزة الجامعيين الذين رحلوا قبل اكتمال أحلامهم ..
سلاما على أرواحكم الطاهرة ..

بـ كـ رـ اـ م



Résumé

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales sont reconnues comme une source essentielle de traitements thérapeutiques, principalement grâce à l'usage d'extraits végétaux dans le soin de nombreuses pathologies. Les recherches actuelles visent à confirmer scientifiquement ces pratiques traditionnelles, en s'appuyant sur des analyses phytochimiques poussées et une évaluation rigoureuse des activités biologiques des extraits. Dans ce cadre, notre étude s'est intéressée aux résines de deux plantes utilisées en médecine traditionnelle : *Pinus halepensis* L. (famille des Pinaceae) et *Commiphora myrrha* (famille des Burseraceae).

Le criblage phytochimique de ces résines a révélé la présence de divers métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, tanins, stérols, stéroïdes, terpènes et saponosides. L'analyse quantitative des polyphénols totaux a montré que *Commiphora myrrha* présente une concentration plus élevée ($829 \pm 37,47 \mu\text{g EQ/ml}$) comparativement à celle de *Pinus halepensis* ($181 \pm 17,72 \mu\text{g EQ/ml}$). De même, la teneur en flavonoïdes totaux est supérieure dans l'extrait EMRCM ($113,50 \pm 43,14 \mu\text{g EQ/ml}$) par rapport à l'extrait EMRPH ($52,00 \pm 1,41 \mu\text{g EQ/ml}$).

L'étude des propriétés biologiques – notamment les activités antioxydante, anti-inflammatoire et l'inhibition de l' α -amylase – a été menée *in vitro*. Les résultats ont montré que l'extrait de *Commiphora myrrha* possède une activité antioxydante plus marquée que celui de *Pinus halepensis*. En revanche, les activités anti-inflammatoire et inhibitrice de l' α -amylase se sont avérées faibles comparées aux témoins positifs. Enfin, un test d'irritation cutanée a été réalisé *in vivo* sur des rats mâles de souche Wistar. Une légère différence a été observée entre les deux extraits : une rougeur cutanée est apparue sur le dos des animaux après quelques jours.

Mots clés : *Commiphora myrrha* , *Pinus halepensis*, activités biologiques , Résine, screening phytochimique.

ABSTRACT

Since ancient times, medicinal plants have been recognized as an essential source of therapeutic treatments, mainly through the use of plant extracts in the care of numerous pathologies. Current research aims to scientifically confirm these traditional practices, based on in-depth phytochemical analysis and rigorous evaluation of the extracts' biological activities. In this context, our study focused on the resins of two plants used in traditional medicine: *Pinus halepensis* L. (Pinaceae family) and *Commiphora myrrha* (Burseraceae family).

Phytochemical screening of these resins revealed the presence of various secondary metabolites such as flavonoids, tannins, sterols, steroids, terpenes and saponosides. Quantitative analysis of total polyphenols showed that *Commiphora myrrha* had a higher concentration ($829 \pm 37.47 \mu\text{g EQ/ml}$) than *Pinus halepensis* ($181 \pm 17.72 \mu\text{g EQ/ml}$). Similarly, total flavonoid content was higher in the EMRCM extract ($113.50 \pm 43.14 \mu\text{g EQ/ml}$) than in the EMRPH extract ($52.00 \pm 1.41 \mu\text{g EQ/ml}$).

Biological properties - including antioxidant, anti-inflammatory and α -amylase inhibition activities - were investigated in vitro. The results showed that *Commiphora myrrha* extract possessed more antioxidant activity than *Pinus halepensis* extract. On the other hand, anti-inflammatory and α -amylase inhibitory activities were low compared to positive controls. Finally, a skin irritation test was carried out in vivo on male Wistar rats. A slight difference was observed between the two extracts: skin redness appeared on the animals' backs after a few days.

Key words: *Commiphora myrrha*, *Pinus halepensis*, biological activities, Resin, phytochemical screening

ملخص

منذ العصور القديمة، اعترف بالنباتات الطبية كمصدر أساسي للعلاجات العلاجية، وذلك من خلال استخدام المستخلصات النباتية في علاج العديد من الأمراض. تهدف الأبحاث الحالية إلى تأكيد هذه الممارسات التقليدية علمياً، استناداً إلى تحليلات كيميائية نباتية متعمقة وتقدير دقيق لأنشطة البيولوجية للمستخلصات. في هذا السياق، ركزت دراستنا على راتنجات نباتتين مستخدمتين في الطب التقليدي: Commiphora myrrha (الفصيلة الصنوبرية) و Pinus halepensis L. (الفصيلة البورسيرية).

وقد كشف الفحص الكيميائي النباتي لهذه الراتنجات عن وجود العديد من المستقلبات الثانوية مثل الفلافونيدات والغفوص والستيرولات والستيرويدات والتربين والصابونيات. وأظهر التحليل الكمي للبوليفينول الكلي أن تركيز البوليفينول الكلي للبوليفينول في كوميفورا ميرا كان أعلى ($\pm 829 \text{ ميكروغرام مكافئ/مل}$) من تركيزات الصنوبر الحلبي ($17.72 \pm 181 \text{ ميكروغرام مكافئ/مل}$). وبالمثل، كان المحتوى الكلي من الفلافونويد أعلى في مستخلص نبتة EMRCM ($43.14 \pm 113.50 \text{ ميكروغرام مكافئ/مل}$) مقارنة بمستخلص نبتة EMRPH ($1.41 \pm 52.00 \text{ ميكروغرام مكافئ/مل}$).

درست الخواص البيولوجية - لا سيما الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات وتنبيط إنزيم ألفا-أميلاز - في المختبر. أظهرت النتائج أن مستخلص كوميفورا ميرا له نشاط مضاد للأكسدة أكثر وضوحاً من مستخلص الصنوبر الحلبي. من ناحية أخرى، كانت الأنشطة المضادة للالتهابات ومثبطات إنزيم ألفا-أميلاز ضعيفة مقارنة بالضوابط الإيجابية. وأخيراً، تم إجراء اختبار تهيج الجلد في الجسم الحي على ذكور فئران ويistar. لوحظ اختلاف طفيف بين المستخلصين: ظهر احمرار الجلد على ظهر الفئران بعد بضعة أيام.

الكلمات المفتاحية: كوميفورا ميرا ، الصنوبر الحلبي ، الأنشطة البيولوجية ، الراتنج ، فحص المواد الكيميائية النباتية.

Liste des figures

Figure 1: L'arbre du pin d'Alep :	2
Figure 2:Caractérisation botanique de <i>Pinus Heleensis</i>	4
Figure 3:Aire de répartition du <i>Pinus halepensis</i> dans le monde	5
Figure 4:Répartition du pin d'Alep en Algérie	6
Figure 5:: L'arbre <i>Commiphora myrrha</i>	7
Figure 06:Caractérisation mécanique de <i>Commiphora Myrrha</i>	9
Figure 7: Un dessin de la tige, des feuilles, des fleurs et des fruits	9
Figure 8: Répartition mondial de la <i>Commiphora myrrha</i> :	10
Figure 9: image d'un résine sortant du tronc	14
Figure 10:: la recolte de la résine	15
Figure 11:résine commiphora myrrha dans la nature	16
Figure 12:Gomme de commyphora myrrha (site web)	18
Figure 13: La structure de phénol	22
Figure 14: Structure de base des flavonoïdes	23
Figure 15: Différentes structures des tanins	23
Figure 16:la structure des terpènes	24
Figure 17: la structure des stérols	25
Figure 18: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	27
Figure 19: Réaction d'un antioxydant avec le radical ABTS	28
Figure 20: Schéma de Structure cellulaire le procaryote	29
Figure 21: Bactérie <i>d'Escherichia coli</i>	30
Figure 22 :Bactérie <i>Staphylococcus aureus</i>	30
Figure 23:structure tridimensionnelle de l' α -amylase	31
Figure 24: Etapes d'études expérimentales	34
Figure 25: résine <i>Pinus heleensis</i> Mill.	35
Figure 26: résine <i>Commyphora myrrha</i> L.	35
Figure 27: Broyage de la résine	36
Figure 28: La transformation des pierres de la résine <i>Commiphora</i> .M en poudre.	36
Figure 29 : La transformation des pierres de la résine Pin d'Alep en poudre.	36
Figure 30: Evaporateur rotatif	37
Figure 31: Les rats males	46
Figure 32: préparation de les extraits EMRPH et EMRCM	47

Figure 33: Raser les poils des rats	47
Figure 34: La préparation des extraits sur une compresse stérile	48
Figure 35: Les rats après l'application des extraits	48
Figure 36 : Photographies des flavonoïdes des <i>Pinus heleensis</i> Mill et <i>commiphora myrrha</i>	50
Figure 37: Photographies des stérols, stéroïdes et terpènes des <i>Pinus heleensis</i> et <i>commiphora myrrha</i>	50
Figure 38: Photographies des saponosides des <i>Pinus heleensis</i> Mill et <i>commiphora</i>	51
Figure 39: les résultats de l'analyse sur les plaques CCM S1 : chloroforme 100%	52
Figure 40: les résultats de l'analyse sur les plaques CCM S2 : Chloroforme / méthanol (9:1)	52
Figure 41 : Photographies des tanins de <i>Commiphora myrrha</i> et <i>Pinus halepensis</i>	53
Figure 42 : Courbe d'étalonnage de la'acide gallique	54
Figure 43:Courbe d'étalonnage de la Quercétine	55
Figure 44 : résultats du test DPPH sur microplaqué.....	56
Figure 45: Valeurs CI50 du test DPPH	57
Figure 46: résultats du test DPPH sur microplaqué.....	58
Figure 47 : Les valeurs d'IC50 du test ABTS	59
Figure 48: La moyenne de la zone d'inhibition sous l'effet de différentes concentrations (EMRPH et EMRCM et le témoin (+): l' <i>Escherichia Coli</i>).	61
Figure 49 : La moyenne de la zone d'inhibition sous l'effet de différentes concentrations (EMRPH et EMRCM et le témoin (+): <i>Staphylococcus aureus</i>).....	63
Figure 50: : résultats du l'activité inhibitrice de l'alpha-amylase sur microplaqué.....	64
Figure 51 : Valeurs des CI50 du test d'inhibition de l'α-amylase pour les extrait EMRCM et EMRPH.....	65
Figure 52 : résultats du l'activité anti-inflammatoire sur microplaqué.....	66
Figure 53: les valeurs d'IC50 de l'activité anti-inflammatoire des deux extraits EMRCM et EMRPH	67

Liste des tableaux

Tableau 1:Classification botanique de Commiphora Myrrha	7
Tableau 2:La classification taxonomique de la Commiphora Myrrha. Selon	8
Tableau 3: les différents noms du <i>Commiphora myrrha</i>	11
Tableau 4:composants chimiques de résine Commiphora myrrha L	17
Tableau 5: Les concentrations utilisées contre les bactéries.....	42
Tableau 6:Résultats des stérols, stéroïdes et terpènes	50
Tableau 7: Résultats des saponosides.....	51
Tableau8: Résultatsdes tanins	53
Tableau 9:Taux de polyphénols existant dans les extraits EMRPH et EMRCM	54
Tableau 10: Taux des flavonoïdes existant dans les extraits EMRPH et EMRCM	55
Tableau 11:Inhibition du radical DPPH par les extrait EMRPH et EMRCM	56
Tableau 12: Pouvoir d'inhibition de l'ABTS avec les valeurs d'IC50 de test ABTS	58
Tableau 13:Diamètres de la zone d'inhibition en (mm) après 24 h (<i>Escherichia coli</i>).....	60
Tableau 14: Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm) après 24 h. <i>Escherichia Coli</i>	61
Tableau 15: Diamètres de la zone d'inhibition en (mm) après 24 h (<i>Staphylococcus aureus</i>)	62
Tableau 16: Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm) après 24 h. <i>Staphylococcus aureus</i>	63
Tableau 17: inhibition de alpha-amylase par les extrait EMRPH et EMRCM.....	65
Tableau 18: inhibition de alpha-amylase par les extrait EMRPH et EMRCM	66
Tableau 19: Les resultats de 3 jours d'observation de test d'irritation des 2 especes <i>Pinus heleensis</i> et <i>Commiphora myrha</i>	68

Liste des abréviations

- **µg** : Microgramme.
- **mg** : Milligramme.
- **mm** : Millimètre
- **µl** : Microlitre.
- **nm** : nanomètre.
- **T** : Temps.
- **%** : Pourcentage.
- **v/v** : Rapport volume par volume.
- **HCl** : Hydrochlorique acid.
- **IC50**: Concentration inhibitrice à 50%.
- **KOH** : Hydroxyde de potassium.
- **Abs** : Absorbance.
- **µg EAG/mg PS** : microgramme d'équivalent par milligramme.
- **CCM**: Chromatographie sur couche mince.
- **MeOH**: Méthanol.
- **BHA** : Butylhydroxyanisol.
- **FeCl3** : Chlorure ferrique.
- **NaOH**: Hydroxyde de sodium.
- **UV**: Ultra-violet.
- **AlCl3** : Chlorure d'aluminium.
- **NaNO2** : Nitrite de sodium.

- **IP** : Intrapéritonéale.
- **X** : Agrandissement.
- **EMRPH** : Extrait méthanolique de résine *Pinus halpensis Mill.*
- **EMRCM** : Extrait méthanolique de résine *Commiphora myrrha L.*
- **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.
- **ABTS**: 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid).
- **BSA** : Bovine Serum Albumin.

Sommaire

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I : Etude botanique

I. La plante <i>Pinus halepnsis</i>.....	2
I.1 Généralités sur la plante.....	2
I.2 La famille des Piceae.....	3
I.3 Classification botanique de la plante.....	3
I.4 Description botanique de la plante.....	3
I.5 Répartition géographique de la plante dans le monde entier.....	5
II. La plante <i>Commiphora myrrha</i>.....	6
II .1Généralités sur la plante.....	6
II.2 La famille des Burséracées.....	7
II.3 Classification botanique de la plante.....	7
II.4 Description botanique de la plante.....	8
II.5 Répartition géographique de la plante dans le monde entier.....	10

Chapitre II : Les Résines

I. Résine de Pin d'alep (Colophony).....	13
I .1 Généralités sur les résine.....	s.13
I .2 Les composants chimiques de la résine	13
I .3 Les caractéristiques de résine	13
I .4 Utilisations médicinales	14
I .5 Récolte des résines.....	15
II. Résine de Commiphora myrrha (Myrrh gum)	16
II.1 Généralités des résine	16
II.2 Les composants chimiques de la résine.....	16
II .3 Caractéristiques des résines	17
II.4 Utilisations médicinales.....	18
II .5 Récolte des résines	19

Chapitre III : les métabolites secondaires

III. Les métabolites secondaires.....	20
III.1 Définition générale.....	20
III.2 Classification des métabolites.....	20
III.2.1 Les composées phénoliques.....	20
III.2.1.1 Les flavonoïdes.....	21
III.2.1.2Les tanins	22
III..3 Les terpènes.....	23
III.4 Les stérols.....	23

III.5. Les saponosides	24
------------------------------	----

Chapitre IV: les activités biologiques

I .Activité Antioxydante.....	25
I.1.Les radicaux libres oxygénés.....	25
I.2.Evaluation de l'activité anti radicalaire par test du DPPH.....	26
I.3. Evaluation de l'activité anti radicalaire par test de l'ABTS	27
II.Activité antibactérienne.....	27
II.1.Les bactéries.....	27
II.2.Caractéristiques des souches bactériennes utilisées	28
III.Activité enzymatique	30
III.1.Alpha amylase.....	30
III.2.Structure d'alpha amylase.....	30
III.3.Inhibitrice de l' α amylase.....	31
IV.Activité anti-inflammatoire.....	31
IV.1.L'inflammation.....	31
IV.2.Anti-inflammatoire.....	32
IV.2.1.Anti-inflammatoire stéroïdiens.....	32
IV.2.2.Anti-inflammatoire non stéroïdiens (AIS).....	32
V.Activité de toxicité	32
V.1.Test d'irritation cutanée (test de Draize cutanée).....	33

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Etude phytochimique.....33

I.1. Matériel végétal.....	34
I.1.1 La récolte de la matière végétale.....	35
I.1.2 Broyage des parties sèches.....	35
I.2. Extraction des métabolites secondaires.....	36
I.2.1. Macération.....	36
I.2.2. Tests phytochimiques.....	37
I.2.2.1. Détection des polyphénols.....	37
I.2.2.1.1 Détection des flavonoïdes.....	37
I.2.2.1.2 Détection des tanins	37
I.2.2.2 Détection des Stérols, Stéroïdes et Triterpènes	37
I.2.2.3 Détection des saponosides.....	37
I.2.2.4. Analyse sur les plaques CCM.....	38
I.2.2.5. Dosage de composés phénoliques totaux.....	38
I.2.2.6. Dosage des flavonoïdes	38

II. Evaluation des activités biologiques

I.Activité antioxydante	40
I.1.Capacité de piégeage du radicale libre DPPH	40
I.2.Teste de l'activité ABTS	40
II. Activité antibactérienne.	41

III.Activité inhibitrice de l’ α amylase	43
IV.Activité Anti-inflammatoire in-vitro.....	43
V.Activité de toxicité.....	44
V.1.Test d’irritation cutanée (test de Draize cutanée)	44

Chapitre II : Résultats et discussion

A.Etude Phytochimique

II.1 Screening phytochimique des métabolites secondaires.....	48
II.1.1 Criblage des composés phénoliques.....	48
II.1.2 Criblage des stérols, stéroïdes et terpènes.....	49
II.1.3 Criblage des saponosides.....	50
II.1.4 Analyse sur les plaques CCM.....	51
I.1.5 Dosage des composés phénoliques.....	53
I.1.6 Dosage des composés flavonoïdes.....	54

B.Activités biologiques **56**

II.1.Activité antioxydante.....	56
II.2.Activité antibactérienne	60
II.3.Activité enzymatique.....	64
II.4.Activité Anti inflammatoire.....	66
II.5.Activité de toxicité	68

- Conclusion..... 71
- Références bibliographique..... 73

Introduction

Générale

Après avoir longtemps combattu la médecine traditionnelle, médecins et organismes de santé portent davantage un intérêt aux valeurs et à l'efficacité des traitements par les plantes. De nombreuses études scientifiques ont été entreprises afin d'étudier l'aspect botanique et thérapeutique de ces dernières et d'intégrer leurs propriétés médicinales dans un système de santé moderne en exploitant leurs principes actifs (**Mpondo et al, 2015**)

Les plantes ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pendant plusieurs millénaires. La possibilité d'identification des particularités et vertus de chaque plante par sa forme et sa couleur, ont guidé les premiers hommes dans le choix des nouvelles préparations (**Newall et al., 1996**)

Permis les plantes médicinales il y a le *Pinus halepensis* Mill. et le *Commiphora myrha* L. Ce travail de recherche s'intéresse à l'étude phytochimique et à l'évaluation des activités biologiques de ces 2 espèces, notre objectif principal est de mieux comprendre les constituants chimiques responsables de leurs effets thérapeutiques potentiels.

Ce travail se compose de deux parties, la partie bibliographique est divisé en quartes chapitres : le premier est consacré aux études botaniques, le deuxième aux résines, le troisième aux métabolites secondaires et le quatrième aux activités biologiques. La deuxième partie de deux chapitres : Le premier chapitre porte sur le matériel et méthodes, Le deuxième chapitre est consacré à l'analyse des résultats et discussion.

Partie I

Étude bibliographique

Chapitre I

Étude botanique

I. La plante *Pinus halepensis* Mill. :

I. 1 Généralités sur la plante :

Pinus halepensis Mill ou le pin d'Alep est une espèce d'arbres à feuilles persistantes de la famille Pinaceae. C'est le plus important de tous les conifères Son nombre d'espèces (plus de 90) ont toutes une phyllotaxie unique.

Le terme "Pin" désigne de manière générale les arbres appartenant au genre *Pinus*.

Cette espèce d'arbres est importante dans les forêts méditerranéennes surtout l'Afrique du nord, Elle joue un rôle vital dans le maintien de l'équilibre écologique et de la biodiversité (**Mauri et al, 2016**) . Les peuplements de pin d'Alep (***Pinus halepensis* Mill**) recouvrent aujourd'hui quelque 2 500 000 ha dans le pourtour méditerranéen, généralement à faible altitude (moins de 500 m) et sur les côtes (**Elaib et al., 2017**)

Cette espèce se présente sous la forme d'un arbre pérenne à feuillage persistant, pouvant atteindre une hauteur de 20 mètres (**Nahal, 1962**)

Différentes parties de *Pinus halepensis* peuvent être utilisées pour traiter les plaies, les inflammations, les problèmes urinaires, les ulcères d'estomac, les ulcères intestinaux, les infections de la prostate, l'infertilité, les hémorroïdes, etc. Il est également utilisé comme antiseptique et stimulant surrénalien, mais produit le plus souvent une sécrétion résineuse et est associé à des problèmes respiratoires (inflammation bronchique, pneumonie, infections respiratoires) (**El Omari et al, 2021**)



Figure 01 : L'arbre de pin d'Alep (Ferrer, 2014)

I.2 La familles des *Pinaceae*

Cette famille dans le monde entier, compte environ 10 genres et 230 espèces. En Europe tempérée, les genres **Mélèze**, **Épicéa** et **Sapin** ne sont représentés chacun que par une seule espèce, divisée pour certains en plusieurs sous-espèces. Dans les jardins et les parcs, on rencontre également de nombreuses espèces exotiques originaires du monde entier.

Un trait typique des Pinacées est la présence d'huiles essentielles, qui confèrent à certaines espèces leur odeur aromatique. Celles-ci fournissent des substances utiles pour la cosmétique et la médecine, et ne sont pas dédaignées non plus dans la cuisine à base de plantes sauvages. Grâce à la présence de canaux résinifères dans le tronc et les aiguilles, le bois est riche en résine. Depuis la nuit des temps, les Pinacées ont été exploitées pour leur bois et leurs huiles essentielles de multiples façons, et elles jouent encore aujourd'hui un rôle important dans la vie des hommes (**Rita Luder, 2019**)

I.3 Classification botanique de la plante :

La première classification du pin d'Alep est celle de Miller établie en 1769, reprise par (**Ozneda, 2006**)

Catégorie	Classification
Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphyte
Sous embranchement	Gymnosperme
Classe	Coniférale, Pinoidine, Pinale
Famille	<i>Pinaceae</i>
Genre	Pinus
Espèce	<i>Pinus halepensis</i> Mill

I.4 Description botanique de la plante

Il s'agit généralement d'arbres de taille intermédiaire, atteignant parfois plus de 30 mètres, présentant des cônes isolés, qui apparaissent rarement par deux ou en verticilles, avec un péduncule incliné vers la base de la branche .C'est un arbre (conifère) à feuillage persistant (aiguilles) d'une hauteur de 20 à 30 mètres pouvant vivre 500 ans. Son tronc est souvent

penché par l'action du vent, sa ramure est claire, ses branches étalées et son houppier en dôme irrégulier. (**Debazac et al., 1965**).

Chez *Pinus halepensis* Mill., les rameaux constituent des structures végétatives essentielles qui assurent à la fois la croissance de l'arbre et le port des aiguilles, des cônes et des bourgeons. Ils sont généralement fins, flexibles, de couleur vert pâle à brunâtre, et présentent une disposition spiralée. Ces rameaux portent des aiguilles regroupées par paires (fasciculées), caractéristiques du genre *Pinus*. Leur surface est souvent recouverte de poches résinifères, responsables de la sécrétion d'une résine aromatique riche en composés terpéniques. (**Djouahri et al, 2010**)

-**Tronc:** souvent grêle, flexueux, à écorce lisse et grise devenant crevassée et brun rougeâtre en vieillissant. Les branches étalées disparaissent peu à peu à partir de la base.

- **Houppier:** irrégulier, étalé.

- **Bourgeons:** cylindriques, non résineux.

- **Feuilles:** aiguilles vert clair, lisses, fines, molles, de 6 à 10 cm de long, groupées par 2

- **Reproduction:** arbre monoïque. Les organes mâles, à la base des pousses de l'année, sont groupés en cônes ovoïdes, d'abord clairs puis roussâtres. Les cônes femelles sont petits, violacés, situés au sommet des pousses de l'année. Une fois fécondés, cônes de 8 à 12 cm de long, de couleur ocre, solitaires ou en verticilles, portés par un pédoncule épais, réfléchi (**Annie et al, 2022**) .

-**Les graines** présentent une couleur brune sur un côté et un aspect gris parsemé de noir de l'autre, accompagnées d'une aile claire qui mesure quatre fois la longueur de la graine.

(**Huchon, 1956**)

Les pins d'Alep produisent également une graine comestible appelée « Zgougou », qui entre dans la fabrication du beurre largement utilisé en Tunisie (**Dahman, 1986**) .

A : les Feuilles de Pin d'alep **B :** Le Tronc **C :** Les graines

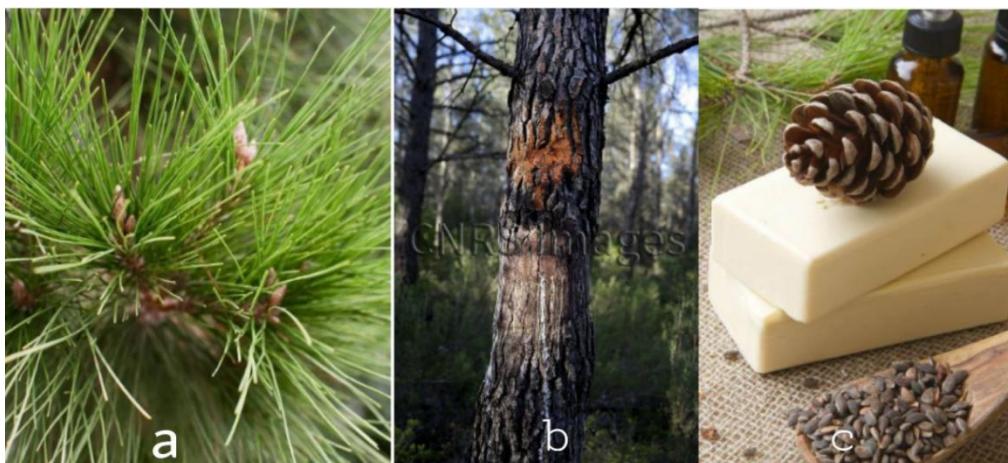


Figure 02 : Caractérisation botanique de *Pinus halepensis* (Site web)

I.5 Répartition géographique de la plante dans le méditerranéen

Le pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) est l'un des arbres les plus répandus dans la partie ouest du bassin méditerranéen, couvrant environ 3,5 millions d'hectares (Vennetier et al, 2011) .

En Afrique du Nord, le pin d'Alep est largement répandu dans les massifs montagneux, couvrant une superficie de 1 260 000 hectares (Boudy, 1950) .



Figure 03 : Aire de répartition du *Pinus halepensis* dans le méditerranéen (Caudullo et al, 2017)

Le pin d'Alep est largement répandu dans les forêts d'Algérie, couvrant 35% de la surface forestière (**Letreuch, 1991**) . Cette plante se trouve dans toutes les variantes bioclimatiques, mais elle est principalement présente dans les zones semi-arides. (**Boudy, 1952**)

Le pin d'Alep est principalement présent en Oranie (Sidi-Bel-Abbès, Saida, Tlemcen, Ouarsenis (figure 2)), sur le Tell algérois (Médéa, Bidans) et sur l'Atlas saharien (Amont de Ouled Nails) (**Alaoui et al, 2011**)

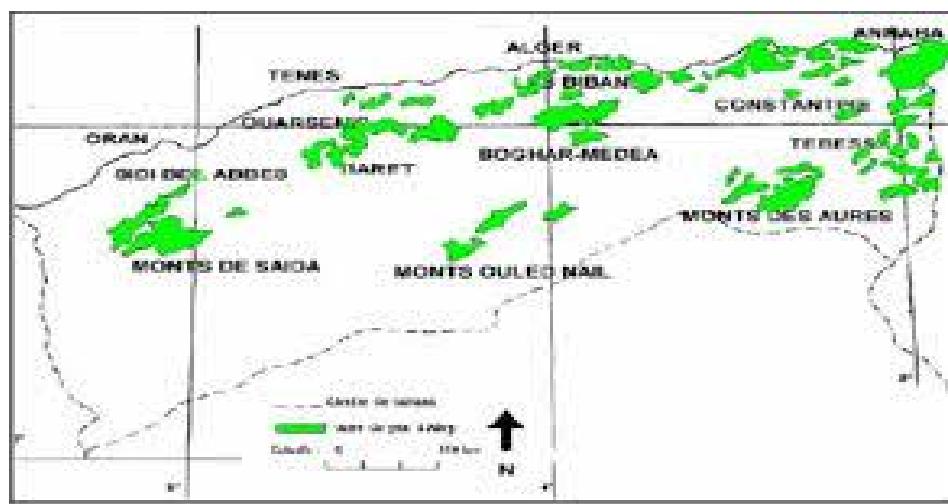


Figure 04 : Répartition du pin d'Alep en Algérie (**Bentouati, 2006**)

II. La plante *Commiphora myrrha* L. :

II.1. Généralités sur la plante :

Commiphora myrrha L. c'est un arbre dioïque de la famille des Burséracées. est un arbuste à feuilles caduques ou un petit arbre épineux, atteignant environ 5 mètres de haut. Son tronc, bien que généralement petit, est ce qui le distingue (**Vern, 2014**)

Ces arbres poussent à des altitudes allant de 200 à 1 500 mètres au-dessus du niveau de la mer et se trouvent principalement dans la partie nord-est de l'Afrique, ainsi que dans la péninsule arabique. (**Massei, 2022**)

Le genre *Commiphora* fait partie de la famille des Burseraceae, qui comprend environ 700 espèces réparties en 18 genres (**Barnett, 2004**). C'est un arbre solitaire au tronc torsadé et aux branches fines couvertes d'épines en forme de flèches, et il ne devient vert que pendant la

saison des pluies. Cela reflète son habitat, car il ne pousse que dans les régions désertiques du nord-est de l'Afrique, en particulier en Somalie. (**Ellena, 2020**)

L'arbre de *Commiphora myrrha* se distingue par sa gomme résineuse, obtenue en tapotant ses troncs. (**Ellena, 2020**) et produit un type de résine aromatique connue sous le nom de myrrhe (MUR Higazy) (**Poonia et al, 2014**). Depuis l'Antiquité, la myrrhe est utilisée pour traiter les plaies et à d'autres fins médicinales. (**Shen et al, 2012**)



Figure 05: L'arbre de *Commiphora myrrha* L. (**Togni et al, 2014**)

II.2. La familles des Burséracées :

Commiphora appartient à la famille des Burseraceae, et voici une nouvelle représentation de cela. 150 missions de plantes le calmar le plus redoutable des zones tropicales. Cette famille comprend approximativement 20 genres et plus de 600 espèces, qui se trouvent principalement dans les zones tropicales du globe, avec une diversité notable en Amérique, ainsi qu'au nord et au sud de l'Afrique et en Malaisie. Sur le plan économique, certaines buxacées revêtent une importance particulière grâce aux résines (copal) et aux huiles essentielles qu'elles génèrent. Ces dernières sont employées pour les rituels religieux, la cosmétique et la médecine traditionnelle. (**La Cerda-Lemus, 2011**)

II.3. Classification de la plante

Tableau 1:Classification botanique de *Commiphora myrrha* L. a (Le Jeune, 2011)

Catégorie	Classification
Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Sapindales
Famille	Burseraceae
Genre	Commiphora
Espèce	<i>Commiphora myrrha</i>

Tableau 2: Classification taxonomique de *Commiphora myrrha* L. (Candolle, 1883) :

Catégorie	Classification
Règne	Plantae
Embranchement	Streptophyta
Classe	Equisetopsida
Sous-classe	Magnoliidae
Ordre	Sapindales
Famille	Burseraceae
Genre	Commiphora
Espèce	<i>Commiphora myrrha</i>

II.4. Description botanique de la plante

Les arbres à myrrhe, qui peuvent atteindre une hauteur de 3 à 10 mètres environ, se distinguent par leurs branches aux grand nombre d'épines.

- **Les feuilles** persistantes, ovales, trifoliées et imparipennées, de taille réduite et rarement en grande quantité (**Massei, 2022**) , portent deux ou trois folioles à leur extrémité. (**Paquereau, 2006**)
- **Les fleurs** sont aussi de petite taille et présentent une couleur allant du blanc au vert , ces fleurs dioïques présentent diverses formes. On peut les observer isolément, regroupées en panicules, en cymes ou en racèmes (**Massei, 2022**) . La floraison survient à la fin de l'été et se caractérise par la couleur blanche ou blanchâtre jaunâtre de ces fleurs blanches ou jaunes ou blanchâtres affichant formes. (**Paquereau, 2006**)
- **Les fruits** en forme d'œuf ont une longueur approximative de 12 à 16mm et possèdent peu de graines. (**Massei, 2022**) , sont pointus et ressemblent à une petite olive. (**Paquereau, 2006**)
- **Son tronc**, de dimension réduite, robuste et lustré, est revêtu d'une écorce dont la teinte peut osciller entre l'argenté, le blanc, le rougeâtre et même le gris-bleu

(A) Fleur de commiphora **(B)** Épines de l'arbre commiphora **(C)** fruits de myrrha

(D) l'arbre commiphora myrrha



(A)

(B)

(C)

(D)

Figure 06: Caractérisation botanique de *Commiphora myrrha* L.(site web)



Figure 7: dessin des Tiges, feuilles, des fleurs et des fruits de *Commiphora myrrha* (Colen et al, 1847)

II.5 Répartition géographique de la plante dans le monde entier

L'arbre à myrrhe se trouve du sud de l'Arabie au nord-est de l'Afrique (principalement en Somalie) et au nord-est du Kenya, au Soudan, dans le sud de l'Arabie, en Érythrée, au Kenya, en Éthiopie et en Somalie et est l'espèce qui produit la vraie myrrhe. (Hanuš et al. (2005).

La myrrhe, qui s'épanouit dans les milieux arides, se développe sur les pentes rocheuses et dans les vallées désertiques, habituellement en compagnie d'acacias dispersés. On retrouve l'espèce Commiphora en Amérique, notamment dans la région sud-est du Brésil. (Alzahrani et al., 2024)

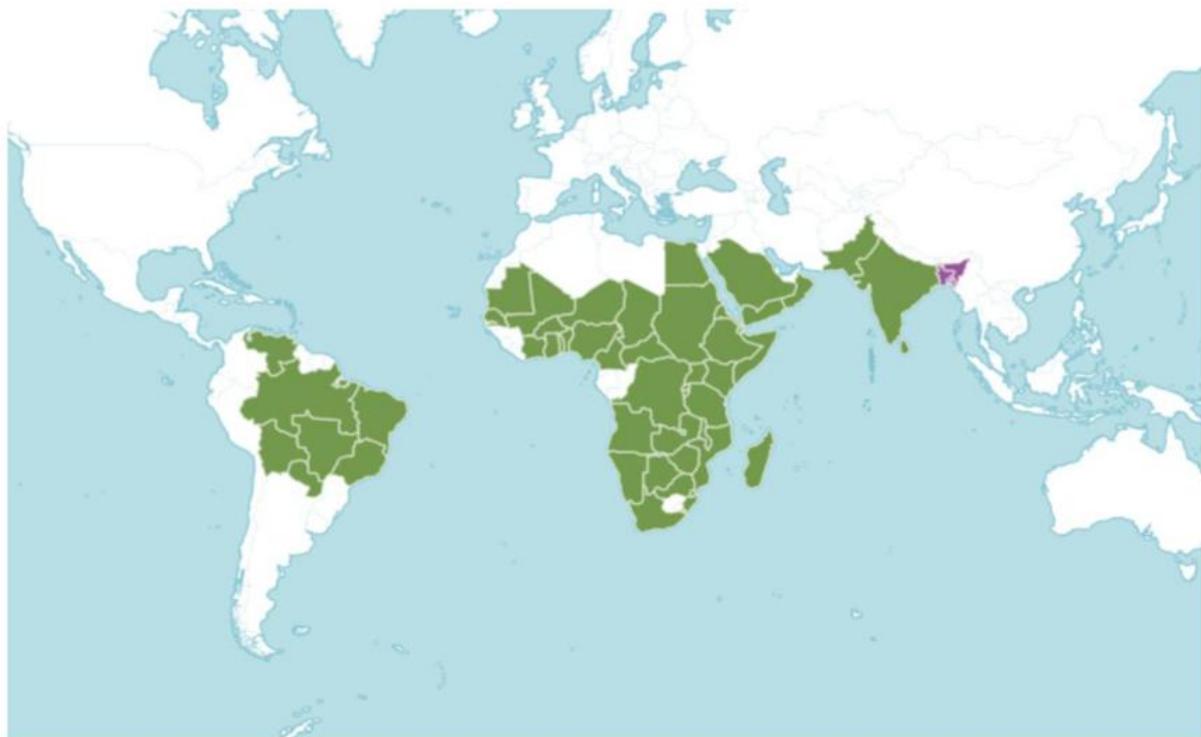


Figure 8: le vert indique la répartition indigène de l'espèce *Commiphora Myrrha* et le violet indique la répartition indigène introduite de l'espèce *Commiphora Myrrha* (Yang et al. 2024).

Les noms synonymes de *Commiphora myrrha* :

- ✓ *Commiphora molmol* Engl. (**Alsherif, 2019**)
- ✓ *Commiphora myrrha* (T. Ness) Engl. (**Paquereau, 2006**)
- ✓ *Commiphora abyssinica* (Berg) Engl. (**Paquereau, 2006**)
- ✓ *Blasamodendron Myrrha* (Ness) Esenb. (**Paquereau, 2006**)
- ✓ *Commiphora gileadensis* L. (**Paquereau, 2006**)
- ✓ *Commiphora opobalsamum* (L.). (**Paquereau, 2006**)

Les noms vernaculaires *Commiphora myrrha L.*

Tableau 3: les différents noms du *Commiphora myrrha* (Schulz et al, 2001)

La langue	Le nom
Hindi	bola bol hirabol
Anglais	myrrh
Arabe	المر / Myrr
Persan	Bol
Somalie	Malmal

Chapitre II

Les Résines

I. La résine de *Pinus halepensis* Mill (Colophony) :

I.1 Généralités de la résine :

Le pin d'Alep produit environ 3 kg de résine (appelée gemme) par arbre et par an .La résine est le principal produit de cette espèce. La gemme pure contient entre 20 et 24 % d'essence de térébenthine et entre 75 et 80 % de cellophane. Elle est également utilisée à des fins médicinales (**Kadik, 1987**)

Cette résine est initialement produite par les arbres en réponse à une attaque d'herbivores ou de micro-organismes, agissant ainsi comme un système de défense. (**Ghanmi et al., 2007**)

La résine se déverse initialement en tant que liquide avant de se transformer en une substance solide friable translucide jaunâtre qui n'est pas soluble dans l'eau, mais qui l'est dans l'alcool. Elle est fusible, mais non volatile. (**Modugno et al, 2006**)

Les résines peuvent constituer approximativement 30% du poids à sec d'une feuille mature et sont beaucoup plus abondantes dans les plantes des zones sèches que dans celles des autres climats. Le bois provenant d'arbres résineux est généralement plus durable que celui issu d'arbres sans résine. (**Dell et al, 1979**)

I.2. Les composants chimiques de la résine :

- **Huile essentielle (0.2-0.5%)** : Carbure monoterpéniq^{ue} α -pinène (10-50%).camphène 12%, β - pinène (10-25%), β -myrcène,terpinolène,acétate de bormyle , β -phellandrène, β – caryophillène

- **Flavonoïdes (0.5à0.7%)** : Dihydroflavonol : C-6,0-7-diméthylaromadendrine, chalcone et Dihydroinosylvine

- **Terpénoïdes** : Monoterpènes : α -pinène, β -pinène et limonène, 3 carène, myrcène et terpinolène. Acide diterpéniq^{ue} : acide abiétique et déhydroabiétique

- **Tanins** : Tanins condensés(Catéchiques) (**Fleigmann & Schorder, 1992**)

I.3. les caractéristiques des résines :

- **Aspect** : Résine visqueuse à l'état frais, devient solide et cassante après durcissement à l'air.

- **Couleur :** Jaune clair à ambrée lorsqu'elle est fraîche ; peut foncer légèrement avec l'oxydation.
- **Odeur :** Odeur balsamique, boisée, très aromatique et typique des conifères (due aux terpènes).
- **Solubilité :** Insoluble dans l'eau mais soluble dans les solvants organiques tels que l'éthanol, l'éther, l'acétone et le chloroforme.
- **Point de fusion :** Environ 70–80 °C pour la colophane issue de la résine sèche
- **Composition générale :** Mélange complexe de résines dures (colophane) et d'huiles essentielles volatiles (térebenthine).
- **Propriétés adhésives :** Collante à chaud, utilisée historiquement comme colle naturelle.
- **Comportement à l'air libre :** Elle sèche lentement en formant une pellicule dure par évaporation des fractions volatiles. (**Boudjemaa et al, 2016**)



Figure 09: image d'une résine sortant du tronc

I.4. Utilisations médicinales :

On connaît bien la résine de l'arbre *Pinus halepensis* pour ses vertus en médecine traditionnelle algérienne, où elle est utilisée comme un antiseptique puissant doté d'une action dynamisante. Pour une utilisation externe, elle est combinée soit à de l'huile d'olive, soit à du

miel, puis appliquée sur le torse et le dos ou les zones touchées afin de prévenir et traiter les infections respiratoires, pulmonaires, la grippe, la sinusite, les rhumatismes et les maladies fongiques infectieuses. Pour une utilisation interne, les méthodes traditionnelles d'administration de la résine de pin sont sous forme de poudre mélangée à du miel ou en liquide diluée dans l'huile d'olive, à prendre une fois par jour pour lutter contre les affections respiratoires. (**Boulâacheb, 2010**)

Traditionnellement préparée sous forme de baume en utilisant la (graisse/beurre) ou de façon « moderne » (élaborée à partir de baume) en Norvège, la résine de *Picea abies* a démontré des propriétés antifongiques. (**Rautio et al., 2012**)

I.5. Récolte de la résine :

On peut obtenir de la résine brute directement à partir du bois vivant en utilisant le processus connu sous le nom de gemmage. La saison de gemmage doit nécessairement suivre le cycle biologique de l'arbre, c'est -à-dire du printemps jusqu'à la fin de l'été (**Francés, 2020**). La cueillette, qui se déroule principalement au printemps, est effectuée à la main avec un couteau. Les récoltes sont ensuite placées dans des sachets en plastique, en papier ou dans des contenants de différents matériaux (métal, porcelaine, verre, plastique). La résine pure, sans aucune trace de bois provenant du tronc ou des branches, peut être conservée pour un usage interne, alors que la résine extraite avec des fragments de bois est prévue pour une utilisation externe. Elle se garde aisément et longtemps. (**Boulâacheb, 2010**)



Figure 10: La recolte de la résine (**Sapanos et al, 2010**)

II. La résine de *Commiphora myrrha* L. (Gum myrrh)

II.1. Généralités de la résine

Les résines aromatiques et transsudâtes issues de l'écorce du tronc de l'espèce *Commiphora* (appartenant à la famille des Burséracées) se distinguent par une poudre allant du jaune au brun rougeâtre, présentant un goût agréablement amer. (**Hanus et al, 2005**)

Myrrha C'est une matière résineuse de forme ronde ou irrégulière. Sa couleur varie du jaune au rouge et elle est souvent recouverte d'une fine couche plus claire. (**Hosseinkhan et al, 2017**) Dans la composition des parfums, l'huile essentielle de myrrhe constitue un élément précieux grâce à son odeur balsamique distincte. (**Hanus et al, 2005**).

La résine, employée en médecine, s'écoule à partir des fissures naturelles ou des incisions pratiquées dans l'écorce.



Figure 11 : la résine de *commiphora myrrha* dans la nature (**Alyafei, 2020**)

II.2. Les composants chimiques de la myrrhe

La myrrhe, ou l'exsudat résineux de *Commiphora myrrha* L., est constituée de gomme qui se dissout dans l'eau, de résine qui se dissout dans l'alcool et d'huile volatile (**Hanus et al, 2005**). La gomme myrrhique est composée de polysaccharides et de protéines, alors que l'huile essentielle renferme des stéroïdes, des stérols et des terpènes.

On peut caractériser la myrrhe comme une résine oléo-gomme élaborée par diverses espèces de *Commiphora*. Il se compose de 3 à 4 % d'impuretés, de 7 à 17 % d'huiles volatiles, de 25 à

Chapitre II

40 % de résines solubles dans l'alcool et de 57 à 61 % de gomme soluble dans l'eau. (**Massoud et al, 2001**)

Elle contient des huiles essentielles, de la gomme (30 à 60%, hydrosoluble), du myrrhol (3 à 8%, qui se dissout dans l'éther) et de la résine appelée myrrhine (25 à 40%, soluble dans l'alcool). (**Hanus et al, 2005**)

Ces huiles sont essentiellement constituées de terpènes et de terpénoïdes. En outre, la myrrhe contient des principes actifs d'un intérêt pharmaceutique, comme les lactones sesquiterpéniques, qui sont utilisées dans le soin de certaines maladies. (**Batiha et al, 2023**)

Le polysaccharide brut de myrrhe serait constitué de 18% de protéines (**Anderson et al, 1965**).

Tableau 4: Les composants chimiques de la résine de *Commiphora myrrha* L. (**Soni et al, 2013**)

Resin (25-40%)	Soluble dans l'éther : acides commiphoriques α , β et γ , ainsi que les esters d'un autre acide résineux et de deux résines phénoliques.
	Partie qui ne se dissout pas dans l'éther : acides α et β herabomyrrholiques.
Gum (57-61%)	Lors de l'hydrolyse, en association avec l'enzyme oxydase, l'arabinose est produite.
2% à 10% d'huile essentielle	furanosesquiterpènes, et les monoterpènes α -, β - and γ -bisabolène
2-8% volatile	Aldéhyde de cumin, eugénol, métacrésol, pinène, limonène, diterpènes ainsi que deux sesquiterpènes.
3-4% impurities	

II.4 Les caractéristiques de la résine

- Une résine oléo-gomme (**Batiha et al, 2023**)
- Couleur : Extérieurement de couleur brun rouge, intérieurement de couleur brun.
- Aspect : Fragile, il se fissure à cause d'une rupture granuleuse.
- Un goût et un parfum : aromatiques et plaisants, parfois âcres et amers.
- Elle est susceptible de prendre feu, mais brûle lentement. (**Soni et al, 2013**)
- Il contient de la résine de solubles dans l'alcool (**Massei, 2022**)
- Il contient de gomme qui se dissout dans l'eau (**Batiha et al, 2023**)

- Les exsudats de résine-gomme issus des lésions de la tige débutent par une couleur jaune clair, avant de durcir et se transformer en brun-noir. (**Soni et al, 2013**)



Figure 12 : Gomme de *commiphora myrrha* (site web)

II.5. Utilisations médicinales

Le condensé végétal résineux est perçu comme une ressource végétale essentielle dans la médecine traditionnelle (**Batiha et al, 2023**) . La myrrhe a été vue pour la première fois dans le « Traité de médecine » de la dynastie Tang. Son nom officiel est « myrrhe » et elle a été largement utilisée dans la médecine traditionnelle chinoise au cours des générations suivantes. La Matière Médicale précise : « Il est principalement utilisé pour traiter les blessures causées par les chutes, les stase sanguine au niveau du cœur et de l'abdomen, les douleurs tendineuses et osseuses, ainsi que les douleurs insupportables causées par les blessures au couteau. Il peut être pris avec du vin. » (**Yang et al, 2024**)

Les composés bioactifs, comme le Cu zérène furanodiène et le furanoeudesma-1,3-diène, sont responsables de l'odeur produite par la myrrhe et de ses effets analgésiques (**Dolara P et al, 1996**) . Depuis l'Antiquité, la myrrhe est prisée pour ses vertus curatives et a été couramment employée pour soigner les blessures, soulager les douleurs, traiter les inflammations articulaires, combattre les infections parasitaires, gérer l'obésité et s'occuper des troubles gastro-intestinaux dans l'Égypte ancienne (**Abdul-Ghani et al, 2009**).

Depuis des époques très anciennes, Commiphora myrrha est employée pour soigner les blessures et dans diverses applications médicales (**Shen et al, 2012**).

On utilise les huiles essentielles de myrrhe comme éléments décoratifs, encens et agents bioactifs (**Batiha et al, 2023**).

II.6. Récolte des résines

La récolte de la résine de *Commiphora myrrha*, appelée communément « myrrhe », se fait selon une méthode traditionnelle bien établie dans les régions arides de la péninsule arabique et de la Corne de l’Afrique. Elle consiste à inciser manuellement l’écorce du tronc ou des branches principales à l’aide d’un outil tranchant, généralement un couteau incurvé. Ces incisions stimulent la sécrétion naturelle d’un exsudat oléo-gommeux, qui s’écoule lentement sous forme de gouttelettes visqueuses. Après quelques jours de séchage à l’air libre, ces larmes de résine se solidifient en masses irrégulières jaunâtres à brunâtres. Elles sont ensuite collectées manuellement, triées selon leur couleur, texture et pureté, puis stockées à l’abri de l’humidité et de la lumière pour préserver leurs propriétés physico-chimiques (**Al Ashry et al. 2003**)

Chapitre III

Métabolisme secondaire

III. Le métabolisme secondaire :

III.1 Définition générale

L'ensemble des réactions biochimiques d'un organisme vivant est connu sous le nom de métabolisme. Les intermédiaires et les produits du métabolisme sont appelés "métabolites", et sont divisés en métabolites primaires et secondaires.

Les végétaux se singularisent par leur capacité à synthétiser divers composés, dont le rôle à l'intérieur de la plante reste, à ce stade, vague. Ces substances sont appelées métabolites secondaires. Au-delà de leur absence chez certaines espèces végétales, ces substances prennent des formes biologiques qui suggèrent qu'elles ne font pas partie des éléments essentiels fondamentaux du système végétal, un groupe usuel aussi réservé aux structures de stockage chez les organismes, destiné à être utilisé lors des périodes de croissance active. Ces "métabolites secondaires" ont également peu de responsabilités directes sur les fonctions vitales fondamentales de l'organisme végétal - la croissance, le développement, ou la reproduction. Il s'y alloue plusieurs, du moins dans l'environnement lié à la métamorphose de sélection naturelle, dont la plante peut être amenée à en avoir besoin, dans la mesure de la défense ou la résistance. (**Merghem, 2009**)

III.2 Classification des métabolites

- Les composés du métabolisme secondaire sont classés en trois grandes catégories :
- Les composés aromatiques ou **polyphénoliques**, qui incluent :les acides phénoliques, les flavonoïdes, les anthocyanidines, les tannins ainsi que les quinones
- **Les terpènes** et leurs dérivés
- **Les alcaloïdes**

III.2.1 Les composées phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires présents dans les tissus végétaux tels que les fleurs, les graines, les racines et les parties comestibles. Les composés phénoliques contribuent au système de protection de la plante et à son adaptation à l'environnement. Ils jouent également un rôle dans la détermination des caractéristiques sensorielles des fruits, des fleurs et des légumes. Les composés phénoliques sont des composés efficaces et actifs, car ils possèdent de nombreuses propriétés, notamment antioxydantes, anti-inflammatoires, antitumorales et antimicrobiennes. La structure chimique

des composés phénoliques est constituée d'un seul cycle aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyles. Selon le nombre et la disposition des atomes de carbone, les composés phénoliques sont classés en acides phénoliques, flavonoïdes, tanins, lignines et stilbènes phénoliques (**karim, & George, 2024**)

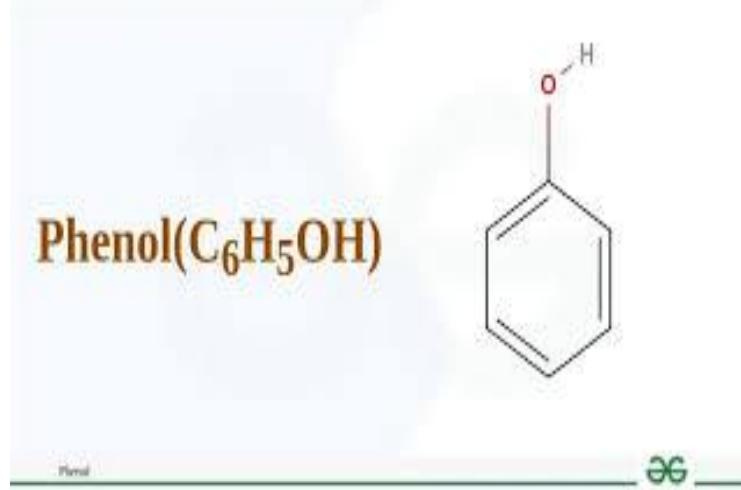


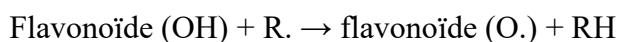
Figure13 : La structure de phénol

III.2.1,1 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances présentes dans les plantes. Ils sont à l'origine des teintes brunes, rouges et bleues des fleurs et des fruits. (**vidal, 2016**)

Les composés présents dans la structure du diphenyle propane C6-C3 C6 sont les suivants. En général, les trois carbones qui joignent les deux noyaux benzéniques (A et B) forment un hétérocycle oxygéné C. Les changements dans l'hétérocycle C seraient responsables des différentes classes structurales des flavonoïdes. (**Talbi, 2015**)

Selon (**Ghedira, 2005**) La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles (**OH[·]**), anions superoxydes (**O₂^{·-}**) et radicaux peroxylipidiques, selon la réaction suivante :



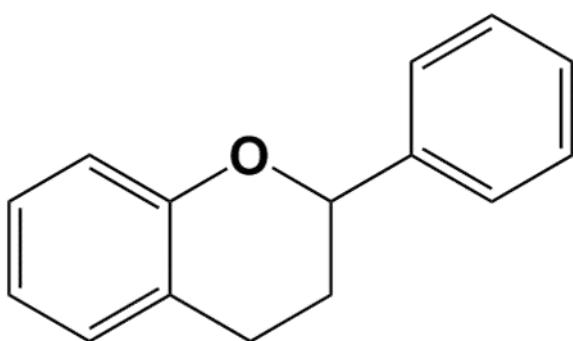


Figure 14: Structure de base des flavonoïdes

III.2.1.2. Les tannins

Selon (*Tong, et al., 2022*) L'un des composés phénoliques les plus communs dans les plantes est les tanins. Les propriétés bénéfiques de ces substances complexes sont influencées par leur composition chimique, leur concentration et d'autres éléments. On distingue deux catégories de tanins :

- Les tanins hydrolysés
- Les tanins condensés.

Ces tanins fournissent des protons aux radicaux libres lipidiques causés par la peroxydation. Les radicaux tanniques sont donc plus stables et la réaction en chaîne de l'auto-oxydation des lipides est rompue. (**Bruneton, 2009**)

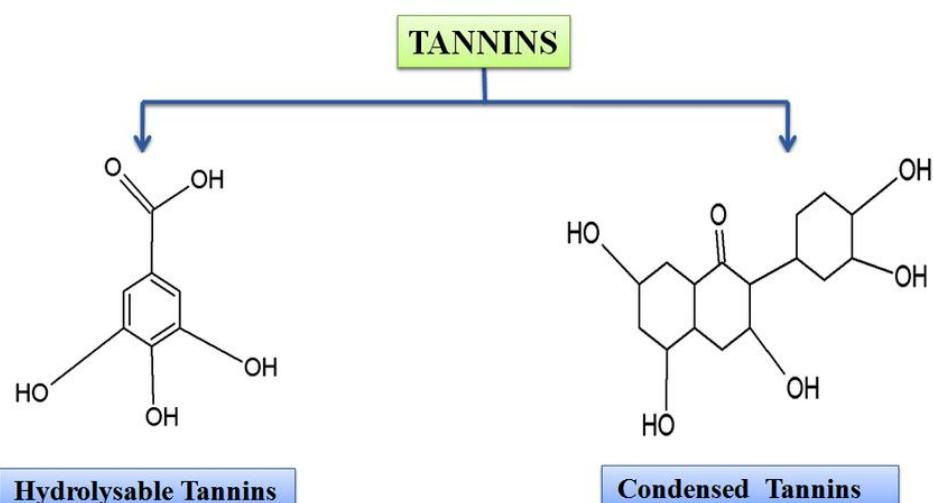


Figure 15: Différentes structures des tanins

III.3.Les terpènes

Les terpènes représentent un groupe d'hydrocarbures, qu'ils soient cycliques ou en chaînes. On les trouve abondamment dans le monde végétal. Leur caractéristique structurelle majeure réside dans la présence, au sein de leur structure, d'un agencement d'un certain nombre d'unités de cinq carbones ramifiées, issues du 2-méthylbutadiène, connues sous le nom d'unités isopréniques. (**Parisi & Moxse, 1965**)

Selon (**Zwenger & Basu, 2008**) Les terpènes peuvent être regroupés en classes selon le nombre d'unités isoprène (n) dans la molécule :

- hémiterpènes (C₅H₈)
- monoterpènes (C₁₀H₁₆)
- sesquiterpènes (C₁₅H₂₄)
- diterpènes (C₂₀H₃₂)
- triterpènes (C₃₀H₄₈)
- tétraterpènes (C₄₀H₆₄)
- polyterpènes (C₅H₈)ⁿ

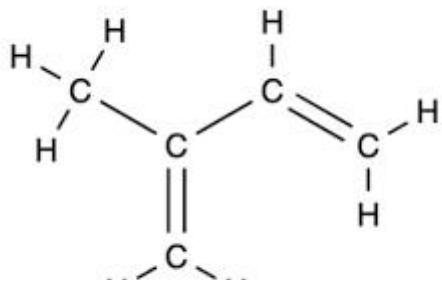


Figure 16:la structure des terpènes

III.4. Les stérols

Les stérols sont des lipides neutres ayant une structure rigide et se présentent comme des molécules amphiphiles. Ils sont constitués de quatre cycles hydrocarbonés désignés par les lettres A, B, C et D, qui forment une structure plane et rigide, de nature apolaire. Une fonction alcool située sur le carbone n°3 en position β confère un aspect polaire à la molécule.

L'ensemble de la molécule est amphiphile, avec une tête hydrophile au niveau de la fonction alcool et un squelette hydrophobe constitué par les cycles. (**Noiriel, 2004**)

Selon Les alcools à noyaux cyclopentopérhydrophénanthréniques se rencontrent parmi les végétaux, généralement sous forme d'esters, appelés stérides, ou combinés à des sucres sous forme d'hétérosides.

- Les stérols libres incluent des composés comme l'ergostérol, présent dans l'ergot de seigle et la levure de bière.
- Les hétérosides se retrouvent notamment dans certaines plantes comme les digitales et les scilles, reconnues pour leur puissante activité cardiotonique.
- Enfin, les stéroïdes sont également représentés dans des végétaux tels que le *Dioscorea* et l'*agave*. (**Merghem, et al., 2002**)

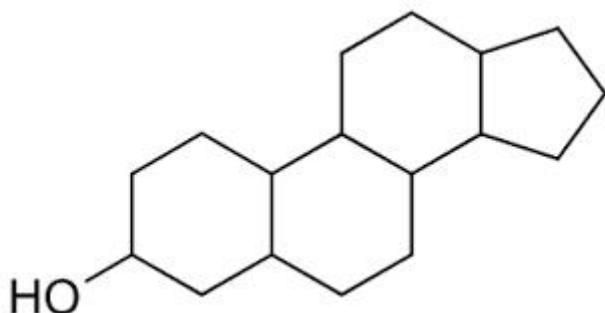


Figure 17: la structure des stérols

III.5. Les saponosides

Les saponosides sont des hétérosides provenant des stérols ou des triterpènes. Bien qu'on les retrouve dans tous les organes de la plante, ils sont particulièrement concentrés dans les racines, où ils se situent au sein des vacuoles. Leur structure se compose d'une partie glucidique (os) et d'une génine, également appelée acide polyglacique.

Chapitre IV

Les activités

biologiques

I. Activité antioxydante

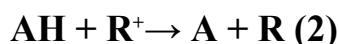
Les antioxydants peuvent neutraliser les radicaux par deux mécanismes différents, mais les réactions qui se produisent seront différentes. On peut désactiver les radicaux soit en leur fournissant de l'hydrogène (transfert d'atome d'hydrogène, HAT), soit en procédant à un transfert d'électrons (transfert d'électrons simple, SET). Les processus HAT et SET peuvent se dérouler simultanément, le processus dominant étant établi selon la structure et les caractéristiques de l'antioxydant, sa capacité de dissolution, son coefficient de partition ainsi que le solvant utilisé dans le système. (**Ioannou et al, 2015**)

Effectivement, bon nombre d'antioxydants, qu'ils soient synthétiques ou naturels, contiennent des groupes hydroxyphénoliques dans leur composition. Les propriétés antioxydantes de ces composés naturels sont en partie dues à leur aptitude à capturer les radicaux libres, y compris les radicaux hydroxyles (OH^\bullet) et superoxydes. (**Popovici et al, 2009**)



AO : molécule antioxydante

FR $^\bullet$: radicaux libres



AH : molécule antioxydante

R $^\bullet$: radicaux libres

I.1.Les radicaux libres oxygénés

Par définition, ces radicaux sont des espèces chimiques dotées d'un électron solitaire sur leur couche externe, ce qui leur confère une grande réactivité. On les a longtemps jugés préjudiciables, attribuant à leur présence la possibilité de causer des dommages à l'ADN, aux protéines et aux lipides. Toutefois, la production d'anions superoxyde ($\text{O}_2\bullet^-$) par les cellules phagocytaires dans le combat contre les agents pathogènes, l'importance biologique du monoxyde d'azote (NO), ainsi que la découverte des enzymes productrices qui lui sont liées mettent également en évidence le rôle physiologique du stress oxydatif. Depuis de nombreuses années, la production régulée d'ERO se révèle être un outil indispensable pour la régulation et la signalisation cellulaires, contribuant ainsi à l'équilibre homéostatique radicalaire de la cellule. Une perturbation de cet état d'équilibre.

Depuis de nombreuses années, la production régulée d'ERO se révèle être un outil indispensable pour la régulation et la signalisation cellulaires, contribuant ainsi à l'équilibre

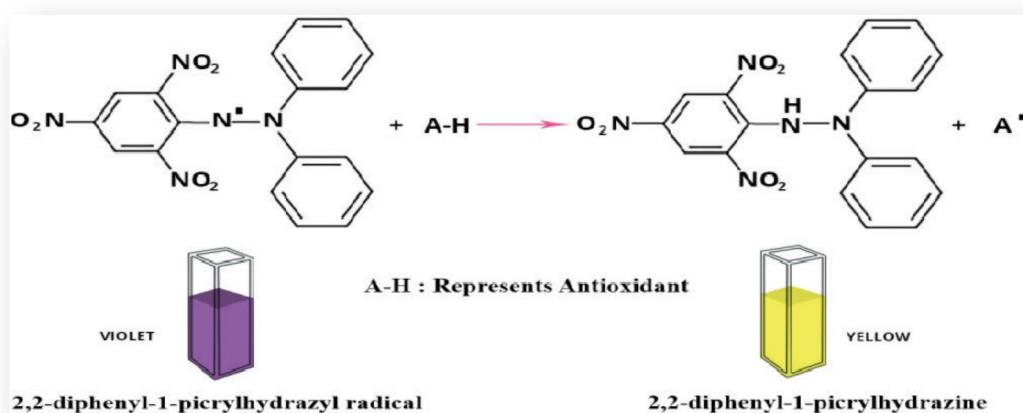
homéostatique radicalaire de la cellule. De nos jours, toute perturbation de cette stabilité est considérée comme un facteur contribuant à l'apparition de diverses maladies, et l'élucidation des mécanismes d'action des ERO s'impose comme un défi clinique. (**Migdal et al, 2011**)

Ces espèces visent diverses biomolécules (ADN, ARN, lipides et protéines) ainsi que des processus (oxydation des acides nucléiques, peroxydation lipidique) au sein de la cellule. Le cerveau, qui consomme une quantité importante d'oxygène pour assurer son bon fonctionnement, peut être perçu comme le producteur de radicaux libres/espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) associées à la neurodégénérescence englobent le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'anion superoxyde (O_2^-) et le radical hydroxyle fortement réactif (HO_{12}). (**Singh et al, 2019**)

I.2. Evaluation de l'activité anti radicalaire par test du DPPH

Le DPPH figure parmi les méthodes les plus anciennes et courantes pour évaluer l'activité antioxydant d'un composé. Cette technique évalue le pouvoir réducteur des antioxydants face au $DPPH^+$. Dans une solution méthanolique, l'effet antioxydant est en corrélation avec la réduction du $DPPH^-$. Étant donné que la solution de DPPH est violette, on peut surveiller l'absorbance du mélange par spectrophotométrie à 517 nm. (**Ioannou et al, 2015**)

Figure 18: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH



I.3. Evaluation de l'activité anti radicalaire par test de l'ABTS

La méthode de dosage ABTS est une technique spectrophotométrique utilisée pour évaluer la capacité d'un antioxydant à capturer un cation radicalaire ABTS^{•+}. Ce dosage s'applique sur la décoloration de l'ABTS^{•+} lors de son oxydation par des agents antioxydants, ce qui reflète la quantité de radicaux ABTS capturés sur une durée déterminée (habituellement 6 minutes).

Cette méthode présente l'avantage majeur de sa facilité d'application et de sa compatibilité avec les phases aqueuses et lipidiques. Elle est donc fréquemment utilisée pour évaluer le potentiel antioxydant des échantillons alimentaires. Par ailleurs, le radical ABTS présente une stabilité sur un large éventail de pH et peut servir à analyser l'influence du pH sur les mécanismes antioxydants. (Ioannou et al, 2015)

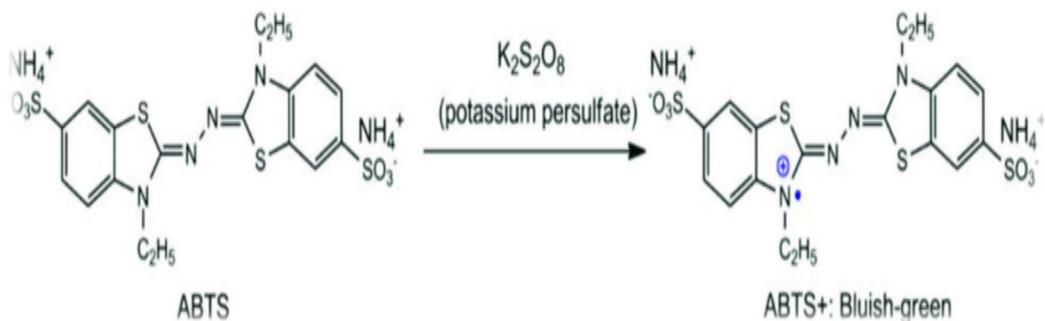


Figure 19 : Réaction d'un antioxydant avec le radical ABTS

II. Activité antibactérienne

Différents micro-organismes sont à l'origine des infections bactériennes, qui représentent une des principales causes de maladies mortelles et d'épidémies généralisées. L'apparition de la multirésistance bactérienne est due à l'usage excessif de nombreux antibiotiques qui ont été développés pour les combattre.

Un antibiotique est un agent antibactérien élaboré par des micro-organismes (champignons et bactéries) ou par synthèse chimique, ayant la capacité de freiner la prolifération ou d'éliminer les micro-organismes. (Ben, 2019)

II.1. Les bactéries

Les bactéries, classées parmi les procaryotes, sont des micro-organismes unicellulaires qui ne possèdent pas de membrane nucléaire. C'est ce trait qui les différencie des autres organismes

unicellulaires classés parmi les eucaryotes, tels que les champignons, les algues et les protozoaires. De plus, on fait la distinction entre les véritables bactéries (Bacteria) et les bactéries primordiales (Archaea). Les appendices (flagelles et pili) ainsi que la capsule ne sont présents que chez certaines d'entre elles. Généralement, les bactéries ont un diamètre inférieur à 1 µm et peuvent être observées au microscope optique, soit à l'état frais ou après coloration. Elles peuvent avoir une forme sphérique (coccis), en bâtonnet (bacilles), courbée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Cependant, leur structure détaillée n'est visible qu'à l'aide d'un microscope électronique. Elle régule les interactions de la cellule avec son environnement et renferme le mécanisme de transport des électrons, essentiel dans la génération d'énergie. (**Nauciel et al, 2005**)

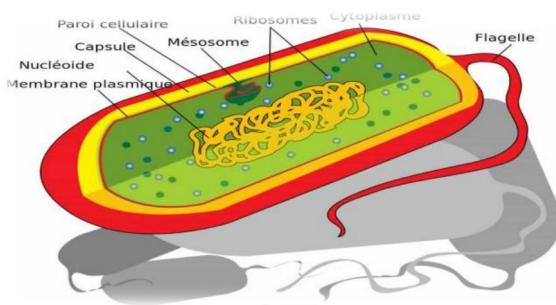


Figure 20: Schéma de Structure cellulaire le procaryote

- **Les bactéries Gram positives :** Dans le cas des bactéries à Gram positif, le composant majeur de la paroi cellulaire est le peptidoglycane. Il peut être couvert par divers composants. Ils sont covalent associés au peptidoglycane. Les bactéries qui ont une paroi résistante à l'alcool restent teintées par le violet de gentiane.
- **Les bactéries Gram négatif :** La paroi des bactéries Gram-négatif est plus complexe et la couche de peptidoglycane qui la compose est relativement mince. Une structure appelée membrane externe se situe à l'extérieur du peptidoglycane. Les bactéries qui ont une paroi accessible à l'éthanol perdent leur teinte violette due à la gentiane et se colorent en rouge grâce à la fuchsine. (**Nauciel et al, 2005**)

II.2.Caractéristiques des souches bactériennes utilisées :

➤ *Escherichia coli*

E. coli est un bacille Gram négatif qui fait partie de la flore intestinale normale, mais qui peut aussi causer des maladies tant intestinales qu'extra-intestinales chez l'être humain. Des centaines de variantes d'E. coli ont été repérées, entraînant une gamme de maladies allant de la gastro-entérite bénigne et spontanément guérissable à l'insuffisance rénale et au choc septique. Sa virulence lui offre la capacité de contourner les défenses immunitaires de l'hôte et d'acquérir une résistance aux antibiotiques usuels. Cette revue fera la distinction entre les infections à E. coli causant des maladies intestinales et hors-intestinales. (**Mueller et al, 2023**)



Figure 21: La bactérie d'*Escherichia coli*

➤ *Staphylococcus aureus*

La bactérie S.aureus est un agent pathogène bactérien à l'origine de plus d'un million de décès., C'est une bactérie Gram positive, catalase positive, immobile, sporulée et qui peut vivre dans des conditions anaérobies. Le Staphylococcus aureus est un microbe qui se situe principalement sur la peau et dans le nez. Les décès par an et constitue la principale cause d'infections mortelles du sang et de la peau et des tissus mous (**Lainhart et al, 2018**)



Figure 22 : La bactérie de *Staphylococcus aureus*

III. Activité enzymatique

III.1. Alpha amylase

L'alpha-amylase, provenant du pancréas et présente dans le tube digestif, décompose les glucides en glucose, ce qui a un impact significatif sur le niveau de sucre dans le sang. (**Whitcomb et al, 2007**)

L'importance de l' α -amylase d'origine végétale dans le métabolisme des glucides est primordiale. Car elles interviennent dans le processus de transformation de l'amidon en sucres réducteurs. On trouve des α -amylases en grande quantité dans tous les règnes (bactérien, fongique, animal et végétal), et l'activité amyloytique n'est pas du tout affectée par leur provenance. Elle a été isolée par extraction à partir de tissus animaux et végétaux ou par fermentation impliquant des cellules microbiennes. (**Nouadri, 2011**)

III.2. Structure d'alpha amylase

L' α -amylase possède une configuration tridimensionnelle qui lui permet de se lier au substrat et d'assurer la cassure des liaisons glycosidiques grâce à l'intervention de groupes catalytiques hautement spécifiques. (**Mouas, 2016**)

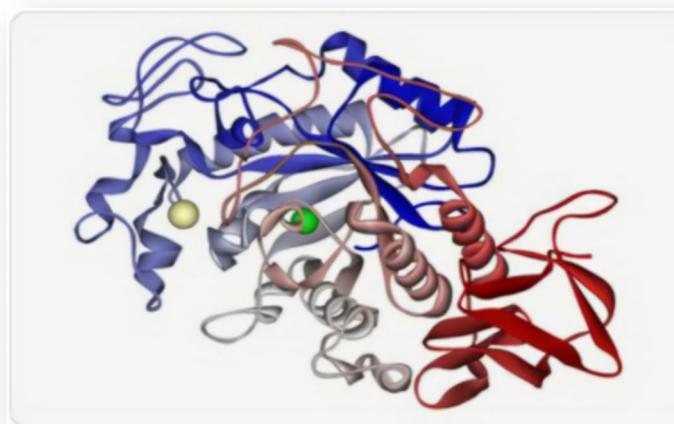


Figure 23: Structure tridimensionnelle de l'α-amylase

L'α-amylase est une glycoprotéine, composée de trois domaines globulaires (A, B et C) (Mouas, 2016). En termes de structure, les α-amylases sont classées comme glycoprotéines comprenant 478 acides aminés distribués en deux domaines globulaires dénommés A (1-380 résidus) et B (381-478 résidus). Une chaîne polypeptidique composée majoritairement de résidus hydrophobes unit ces domaines. La portion glucidique est principalement composée de mannose, les résidus qui composent le site de liaison du substrat ainsi que ceux qui constituent le site catalytique se situent dans le domaine A. Cette observation indique que l'α-amylase est constituée de 8 feuillets β plissés et de 8 hélices α. (Whitcomb et al , 2007)

III.3. Inhibitrice de l'α amylase

De plus en plus d'études ont examiné l'éventuelle efficacité des inhibiteurs d'α-amylase pour le traitement du diabète ces dernières années. (Buisson et al, 1987) Il y a des traitements qui peuvent freiner l'action de l'α-amylase, ce qui retarde la digestion des glucides et contribue donc à diminuer l'hyperglycémie après les repas. (He, 1998)

L'α-amylase est essentielle pour la décomposition des glucides complexes lors de la digestion. C'est la raison pour laquelle l'inhibition de l'enzyme peut ralentir la digestion des oligosaccharides et des disaccharides, ce qui retarde l'absorption du glucose et réduit le niveau de glucose dans le plasma, conduisant finalement à l'élimination de l'hyperglycémie postprandiale. (Lebovitz, 1997) L'Acarbose, le voglibose et le miglitol sont couramment administrés, soit individuellement, soit en association avec des sécrétagogues de l'insuline, aux patients atteints de diabète de type II. (Shobana et al)

Le domaine du règne végétal est immense, avec plus de 1200 espèces de plantes documentées pour leur utilisation empirique à travers le monde en raison de leur présumé effet hypoglycémiant. Ainsi, les inhibiteurs naturels de l' α -amylase provenant de sources végétales présentent une stratégie prometteuse pour la régulation de l'hyperglycémie. (**Tundis et al, 2010**)

IV. Activité antiinflammatoire

IV.1.L'inflammation

L'inflammation est un mécanisme biologique de protection et de régénération des tissus déclenché par des lésions physiques, des substances chimiques toxiques ou des agents microbiens (**Gy et al, 2008**). Toutefois, cette réaction se traduit par des symptômes plus ou moins inconfortables tels que : rougeur, chaleur, douleur et enflure. Sa mise en œuvre découle d'une action coordonnée entre cellules effectrices et substances solubles, qui sont secrétées et ont pour rôle de guider les cellules vers le lieu de l'agression. (**Muster, 2005**)

La finalité d'un processus inflammatoire est triple :

- Détruire l'agent agresseur
- Détruire les tissus lésés
- Réparer les dégâts

IV.2.Anti-inflammatoire

Les médicaments anti-inflammatoires sont symptomatiques, ils ne traitent pas la source de l'inflammation.Ils relèvent de différentes catégories chimiques et possèdent souvent également des propriétés antipyrétiques et antalgiques. (**Muster, 2005**)

IV.2.1.Anti-inflammatoire stéroïdiens

Les AINS agissent comme des inhibiteurs temporaires de l'activité des COX1 et/ou 2. Ils possèdent diverses propriétés pharmacologiques, incluant une intervention anti-inflammatoire grâce à la suppression de la COX2, ainsi qu'une action antidouleur, antipyrétique et anti-aggrégation plaquettaire pour certains d'entre eux.

IV.2.2.Anti-inflammatoire non stéroïdiens (AIS)

Sont des composés dérivés du cortisol, une hormone produite par les glandes surrénales à partir du cholestérol (**Louis, 2010**). L'action de ces médicaments est plutôt complexe. On peut percevoir leurs effets presque dans tous les organes.

Ils ont une gamme d'activités variées, pouvant diminuer la production de facteurs inflammatoires et immunitaires, influencer l'activité hormonale, principalement en rapport avec les régulations métaboliques, ou exercer un effet inhibiteur sur l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien. (**Muster, 2005**)

V.Activité de toxicité

V.1.Test d'irritation cutanée (test de Draize cutanée)

La peau, l'organe humain le plus étendu, joue un rôle crucial dans la préservation de l'homéostasie interne face aux attaques des éléments extérieurs. Dès que l'agression provenant de facteurs environnementaux physiques, chimiques et/ou biologiques dépasse le seuil de tolérance et la capacité de régénération de la peau, des maladies peuvent se manifester.

Par conséquent, un traumatisme mécanique peut causer des ulcères, les radiations UV peuvent provoquer des brûlures, les agents biologiques peuvent entraîner des infections et les substances chimiques peuvent conduire à des dermatites et/ou à de la corrosion.

Une substance corrosive entraîne une nécrose cutanée laissant une cicatrice, alors qu'une substance irritante ne provoque qu'une réponse inflammatoire temporaire. Dans les deux scénarios, on peut noter la présence d'un érythème causé par une congestion des vaisseaux sanguins et d'un oedème défini par un accumulation variable de liquide dans les espaces intercellulaires de l'épiderme, du derme et/ou des tissus sous-jacents. (**Zissu.D, 2008**)

Partie II

Étude

expérimentale

Chapitre I

Matériel et

méthodes

Matériel et méthodes

I . Etude phytochimique

Une étude photochimique d'une espèce végétale nécessite de prendre le soin d'une plante de plus la récolte jusqu'à l'extraction a fine de préserver l'intégrité de composé bioactive .

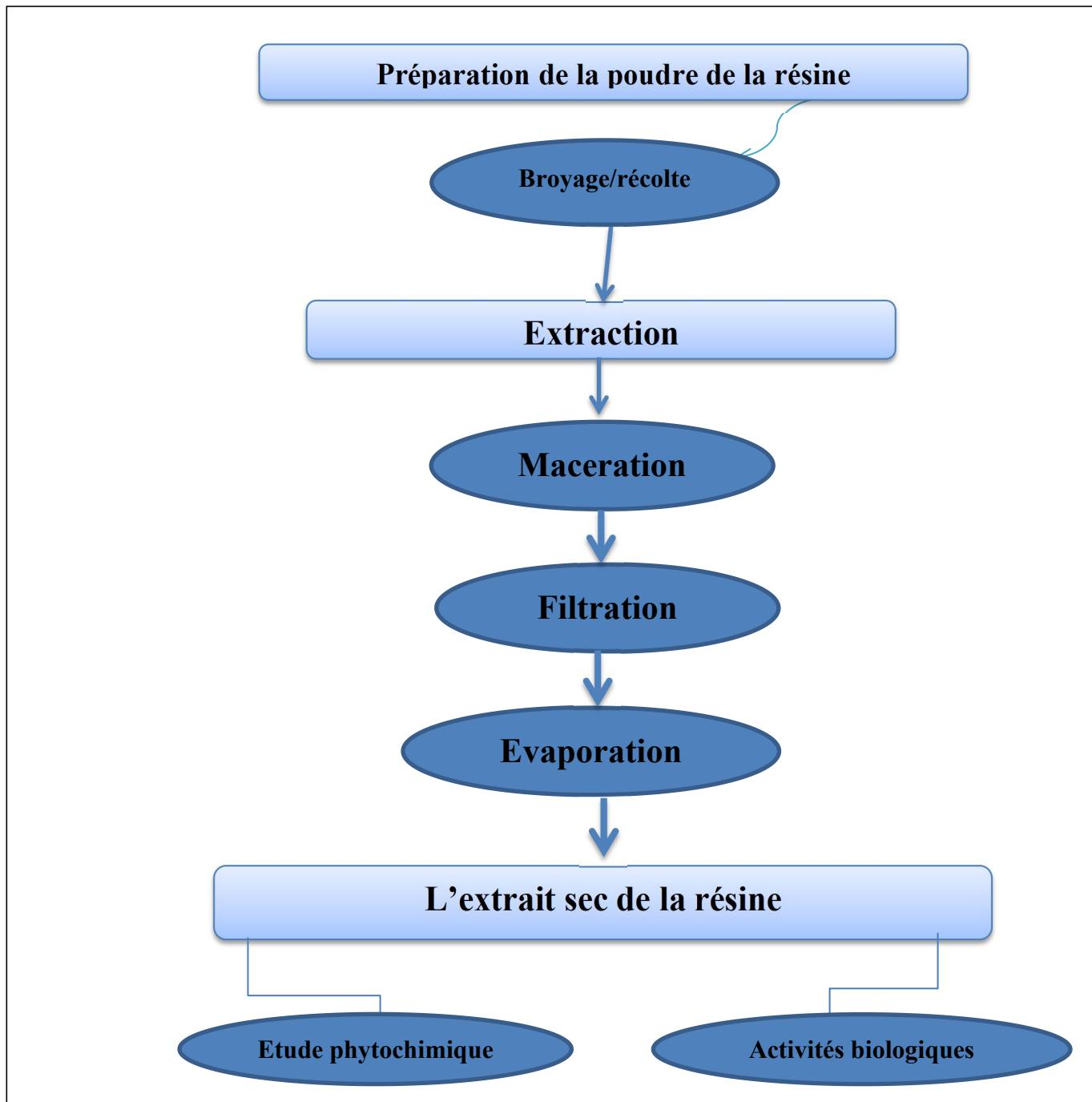


Figure 24 : Étapes d'étude expérimentale

I.1. Matériel végétal

Nous travaux de recherche ont été réalisée au Laboratoire de physiologie Végétale (Département de Biologie végétale), et la Laboratoire de Biochimie Appliquée (LBA) Chaabat Ersas UFMC1, Université Constantine 1 Frères, ainsi qu'au Laboratoire de Biochimie du centre de recherche de Biotechnologie (CRBT)

Le choix de l'étude sur les résines des deux espèces :

- *Pinus halepensis* Mill. (*Pinaceae*)
- *Commiphora myrrha* L. (*Burseraceae*)



Figure 25: résine *Pinus halepensis* Mill.



Figure 26: résine *Commiphora myrrha* L.

I.1.1 La récolte de la matière végétale

La matière végétale est obtenue à partir d'un vendeur de plantes médicinales de la région de oued athmania –Mila et Constantine.

I.1.2. Broyage :

La résine C.Myrrha et P.halepensis est d'abord lavée et séchée, broyez-le avec un mortier manuellement, puis utilisez un broyeur électrique Passer la résine au tamis jusqu'à obtention d'une poudre très fine et conservées jusqu' à leur utilisation.



Figure 27: Broyage de la résine

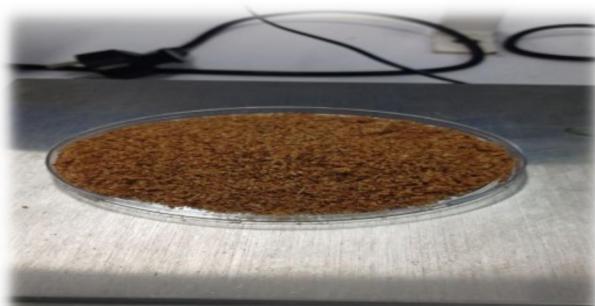


Figure 28: poudre de la résine *Commiphora myrrha* L.

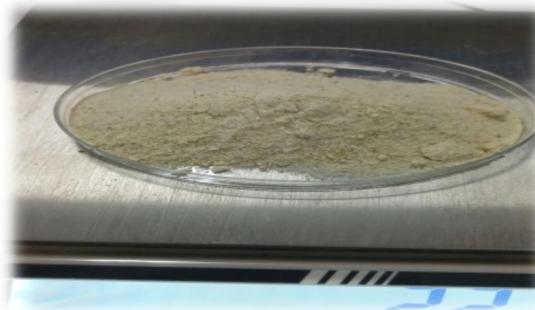


Figure 29 : poudre de la résine *Pinus halepensis* Mill.

I.2. Extraction des métabolites secondaires

Objectif

Cette phase implique l'extraction d'un grand nombre de molécules chimiques à partir des parties résineuses du *Pinus halensis* et de la *Commiphora myrrha*, au moyen de solvants organiques qui facilitent et amplifient le processus d'extraction.

I.2.1. Macération

Protocole

100 g de poudre de résine ont été macérés dans le méthanol 70 %, pendant 72 h. L'opération a été répétée 3 fois, ensuite l'extrait mèthanolique est filtré. Le filtrat est concentré sous vide à l'aide d'un appareil rotatif. L'extrait obtenu est conservé dans une température ambiante jusqu'à son utilisation.



Figure 30: Evaporateur rotatif

I.2.2. Tests phytochimiques

Nos études ont porté sur la recherche des principaux groupes chimiques (flavonoïdes, tanins, quinones, anthraquinones, stérols, stéroïdes, tri terpènes, coumarines, saponines, composés phénolique, composés flavonoïdes,...)

I.2.2.1. Détection des polyphénols

I.2.2.1.1 Détection des flavonoïdes

Le criblage des flavonoïdes se réalise à partir d'extraits hydrométhanoliques, de chaque extrait on prépare 2 tubes : Le premier tube servant de témoin, l'autre tube serve pour le test de Wilstater :

A-Test de Wilstater : HCl concentré (3 à 4 gouttes) + trois ou quatre tournures de Mg. La présence des flavones est confirmée par l'apparition d'une couleur virage au rouge pourpre (flavonols), rouge violacées (flavonones et flavonols).

I.2.2.1.2 Détection des tanins

Les tanins sont détectés dans 1ml d'extrait méthanolique placé dans trois tubes à essai, le 3ème tube servant de témoin :

- ✓ Tube n° 1 : Addition de quatre à cinq gouttes de gélatine l'apparition d'une précipitation par signifie la présence de Tanins.
- ✓ Tube n°2 : Addition de quatre à cinq gouttes de FeCl₃ en solution hydrométhanoliques.la couleur bleu-noir indiquant la présence de tanins d'acide gallique et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques.

I.2.2.2 Détection des Stérols, Stéroïdes et Triterpènes

Dépigmenter 100 mg d'extrait méthanolique par addition de 10ml de cyclohexane et agitation pendant 5 minutes et dissoudre le résidu dépigmenté dans 12 ml de chloroforme.

Sécher la solution obtenue sur Na₂SO₄ anhydre, puis filtrer. Répartir le filtrat dans quatre tubes à essai, le 4éme tube servira le témoin.

- ✓ Tube n° 1 (test de Salkowski): Incliner le tube à 45, ajouter 4 à 5 gouttes de H₂SO₄. Le changement de coloration est noté immédiatement. Agiter le mélange légèrement et

- ✓ noter le changement graduel de coloration : une coloration rouge indique la présence de stérols insaturés.

I.2.2.3 Détection des saponosides

Afin d'identifier rapidement les organes avec des saponosides, il suffit de souligner leur pouvoir inanimé en agitant simplement cette poudre en présence d'eau distillée (pendant 15 secondes) et en observant les bulles très fines qui se forment après une durée d'au moins 10 minutes.

1 g de poudre végétal est introduit dans des tubes avec 10 ml d'eau distillée puis on chauffe le mélange au bain marie à 85°C Pendant 20 min, après on agite vigoureusement chaque tube, en position horizontale pendant 15 secondes environ portoir, après 10 min au repos on compare les hauteurs des mousses. (19)

- Pas de mousse = Test négatif.
- Mousse de moins de 1cm =Test positif faible.
- Mousse de 1 à 2cm =Test positive.
- Mousse de plus de 2cm = Test très positif.

I.2.2.4 Analyse sur les plaques CCM

Dans la plaque préparé a CCM on dépose sur la ligne de dépôt nos échantillons (extraits chloroformées) du résine des plantes étudiées et on met les plaque CCM. nous avant utilisée de système solvants, S1: chloroforme 100 % et S2 : Chloroforme / méthanol (9 :1) révélé avec l'acide et dans la cuve pendant la migration des échantillons. La visualisation du chromatogramme, après migration, se fait à 254 nm et 365 nm.

I.2.2.5 Dosage de composés phénoliques totaux

Principe

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (69) selon une méthode de dosage sur microplaquette décrite par (**Müller et al, 2010**)

Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀), est réduit, lors de l'oxydation des phénols. La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

La concentration en polyphénols totaux est estimée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0,2 mg/ml).

Protocole

Un volume de 20 μ l d'extrait de plante a été ajouté à 100 μ l de FCR dilué (1 :10) et 75 μ l de carbonate de sodium (7,5%). Dans une microplaqué 96 puits, mettre le mélange à l'obscurité pendant deux heures puis la lecture est faite à 765 nm.

Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

I.2.2.6. Dosage des flavonoïdes**Principe**

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre trichlorure d'aluminium (AlCl₃) et les flavonoïdes selon la méthode de (**Topçu et al, 2007**) et utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaqué 96 puits.

Protocole

Un volume de 50 μ l de l'extraite diluée est ajouté à 20 μ l NaNO₂ suivi par 20 μ l AlCl₃ et 100 μ l NaOH, après 40 min l'absorbance est lue à une longueur d'onde de 415 nm. Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50 μ l extrait + 150 μ l méthanol).

La Quercétine a été utilisée comme une courbe d'étalonnage des flavonoïdes à une concentration de 0,2 mg/ml.

Evaluation des activités Biologiques

I. Activité antioxydants

I.1. Capacité de piégeage du radicale libre DPPH

-Principe de la réaction :

L'activité anti-radical libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH (9), le α -Tocophérol, BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants. (**Blois.M.S, 1958**)

-Instrument utilisés

Un lecteur de microplaquette à 96 puits de volume 200 μl pour chaque puits

-Réactifs utilisés

1-Ethanol

2-DPPH

3- α -Tocophérol

4-BHA

5-BHT

6-Quercétine ou Catéchine

7Entrait de plante (EMRPH et EMRCM)

-Mode opératoire

Préparation de la DPPH

Dissoudre 4mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517nm) dans le spectrophotomètre.

Procédure

160 μl (DPPH) + 40 μl (extrait) + lecture 517

I.2 Teste de l'activité ABTS

-Principe de la réaction :

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de (**Re et al, 1999**)

-Instrument utilisée :

Lecteur de microplaques.

-Réactifs utilisée

1-ABTS

2-H₂O

-Procédure :

160 µl de la solution d'ABTS+ est mélangée avec 40 µl d'extrait à différentes concentrations. Après 10 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance du mélange est mesurée à 734 nm.

Pour le blanc un volume de 40µl de méthanol et 160 µl d'ABTS+ a été mis dans les derniers puits de la plaque. Après 10 min à température ambiante ; la microplaques est lue à 734nm.

$$\% \text{d'inhibition} = [(Ac - Ae) / Ac] \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle / Ae : absorbance de l'extrait

II. Evaluation d'activité Antibactérienne**II.1. Souche testées**

L'extrait méthanolique a été appliqué dans ce test sur deux souches bactériennes photogènes (*Escherichia coli* et *staphylococcus aureus*) par la méthode des disques basé sur la technique de diffusion des extraits en milieu gélosé. Les milieux de Mueller Hinton ont étéensemencés par la méthode de strie à l'aide de pipettes Pasteur.

Protocole**•réparation de l'extrait :**

Tableau 5: Les concentrations utilisées contre les bactéries.

Concentration	Préparation
C1 (0,1%)	1mg d'extrait méthanolique de chaque plante dilue dans 1 ml de DMSO
C2 (0,2%)	2mg d'extrait méthanolique de chaque plante dilue dans 1 ml de DMSO
C3 (0,5%)	5mg d'extrait méthanolique de chaque plante dilue dans 1 ml de DMSO

•**Préparation de pré-culture bactérienne :**

50 mg/ml Cette étude nécessite des conditions aseptiques autours de bec bunsen et avec des boites de Pétri et des instruments stériles. Le milieu sélectif fondue a été mis après refroidissement dans des boites de Pétri stériles et laisser gélifiée. A l'aide d'une pipette pasteur stérile, on a prélevé un à deux colonies et ensemencer à la surface du milieu de culture puis incubé dans l'étuve à 37°C pendant 24h.

•**Revivification des souches bactériennes :**

Ensemencer et revivifier chaque souche bactérienne dans des boites de Pétri contenant le milieu sélectif puis laisser incuber pendant 24h à l'étuve à 37°C.

Préparation de la suspension bactérienne inoculum:

Consiste à prélever 2 à 3 colonies à l'aide d'une anse stérile, et les mettre en suspension dans un tube contenant 10 ml de l'eau physiologique. Après agitation, une bonne homogénéisation est assurée à l'aide d'un vortex.

•**Ensemencement :**

Cette étape nécessite l'ensemencement des souches bactériennes de 24h dans des boites de Pétri contenant le milieu Muller Hinton. Pour cela, la suspension microbienne à densité 0,2 à 0,3 a été ensemencé par la méthode de strié à l'aide d'un couton tige (écouvillons de prélèvement) où pipettes Pasteur.

•**Préparation des disques :**

A l'aide d'une pince stérile, 4 disques de 9 mm de diamètre préalablement stérilisés, sont imbibés par 50 µl d'extrait de chaque plante à différentes concentrations ont été par la suite aseptiquement déposés sur la surface de milieu de culture.

•Incubation :

Les cultures bactériennes exposées à l'extrait de plantes sont mises au frais à 4°C pendant deux heures pour assurer une bonne imprégnation des extraits dans la gélose. Ensuite, elles sont incubées à l'obscurité pendant 18 à 24 h dans l'étuve à 37°.

•Lecteur des résultats :

A l'aide d'une règle, des mesures de diamètres des zones d'inhibition autour des disques chargés d'extrait ont été réalisées.

Les résultats sont exprimés selon trois niveaux d'activité (59) :

Souches résistantes (Diamètre < 7mm).

Souches sensibles (8mm < Diamètre < 15).

Souches très sensibles (15mm < Diamètre < 19).

III. Activité inhibitrice de l' α amylase

Principe de la réaction:

α -Amylase inhibitory activity was performed using iodine/potassium iodide (IKI) method (**G.zengin et al , 2014**) with some modifications.

Instrument utilisé :

Un lecteur de microplaques à 96 trous de volume 250 µl pour chaque trou.

Réactifs :

1- Enzyme α -amylase 1U.

2- Amidon 0.1% (mettre la solution dans le microondes à plusieurs cycles de 15 sec)

3- HCl 1M : Ajouter doucement à 45.83 ml d'eau, un volume de 4.17 ml d'HCl pur.

4- Solution IKI : -Dissoudre 3 gr de KI dans 100 ml d'eau ;

- Ajouter 127 mg d'iodine (5mM), agiter jusqu'à dissolution complète.
- 6- Tampon phosphate (PH 6.9) avec 6mM NaCl (35.1 mg NaCl pour 100 ml de tampon)

Procédure :

25 µl extrait + 50 µl (solution α amylase 1U) : incubation pendant 10 min à 37 °C + 50 µl d'amidon 0.1% : incubation pendant 10 min à 37 °C+ 25µl HCl (1M) + 100µl IKI + lecture à 630 nm.

Calcul de pourcentage d'inhibition :

$$\% \text{INH} = 1 - [(A_{\text{c}} - A_{\text{e}}) - (A_{\text{s}} - A_{\text{b}})] / (A_{\text{c}} - A_{\text{e}})$$

$A_{\text{c}} = \text{Absorbance } [\text{Amidon} + \text{IKI} + \text{HCl} + \text{Vol de solvant d'extrait} + \text{Vol tampon Enzyme}]$

$A_{\text{e}} = \text{Absorbance } [\text{Enzyme} + \text{Amidon} + \text{IKI} + \text{HCl} + \text{Vol de solvant d'extrait}]$

$A_{\text{s}} = \text{Absorbance } [\text{Enzyme} + \text{Extrait} + \text{Amidon} + \text{IKI} + \text{HCl}]$

$A_{\text{b}} = \text{Absorbance } [\text{Extrait} + \text{IKI} + 125\mu\text{l de tampon}]$

IV. Activité Anti-inflammatoire in-vitro**Principe de la réaction :**

L'activité Anti-inflammatoire in-vitro est déterminée par la méthode de (**Kandikattu K et al, 2013**) avec de légères modifications.

Le principe consiste à l'inhibition de dénaturation du BSA provoquée par la chaleur (72°C) par les extraits.

Instrument utilisé :

Spectrophotomètre à cuve HELIOS EPSILON (Thermo scientifique)

Réactifs utilisés :

1-Tampon Tris-Hcl 0.05M pH 6,6

2-BSA (bovine serum albumin)

3-Diclofénac de sodium (Standard)

Procédure :

-Préparation du Tris-HCl 0.05 M PH : 6,6

1,2144g est dissous dans 200 ml de l'eau bi distillée. Le PH est par la suite ajusté à 6,6 avec l'HCl.

-Préparation des extraits :

Différente concentration de l'extrait de plante sont préparée à partir d'une solution mère de 10 000 ppm.

-Préparation du standard :

Différente concentration de Diclofénac sodique (forme injectable) sont préparée dans l'eau distillée à partir d'une solution mère de 500 ppm.

-Préparation des blancs :

a- Pour chaque concentration d'extrait de plante un blanc extrait est préparé dans lequel 01ml d'extrait est ajouté à 1 ml de Tris-Hcl (Ce blanc a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait des résultats obtenus).

b- un blanc BSA contenant 1 ml de la solution de BSA ajouté à 1 ml du solvant utilisé pour les extraits (le résultat obtenu correspond à la dénaturation totale du BSA en absence de substance inhibitrice)

-Préparation de la solution BSA 0,2%:

0,2 g de BSA est dissoute dans 100 ml de tampon Tris-Hcl

Mode opératoire :

1 ml de chaque concentration d'extrait ou du standard + 1 ml de solution de BSA 0.2% préparé dans le Tris HCl PH : 6,6 incubation à 37 C° pendant 15 min. puis dans un bain marie à 72°C pendant 5 min.

Après refroidissement la turbidité est mesurée à 660 nm dans un spectrophotomètre à cuve.

V. Activité de toxicité

V.1.Test d'irritation cutanée (test de Draize cutanée)

Principe

Ce test a été initialement élaboré en 1944 par John H. Draize, un toxicologue de la FDA (Food and Drug Administration). Cela implique l'application d'une quantité du produit chimique à examiner sur la peau d'un animal de laboratoire. Les zones de la peau qui n'ont pas été touchées servent d'indicateur lors de l'examen et de l'analyse des résultats. Le temps consacré à l'étude doit être suffisamment long pour permettre l'évaluation de la réversibilité des effets constatés. (**OCDE, 2015**)

Ce test implique l'administration d'une seule dose de produit sur la peau d'un rat, suivi de l'observation de toute réaction potentielle. Un score sera ensuite attribué en conséquence.

Objective

Ce test vise à détecter les substances ayant un effet irritant qui se traduit, suite à leur mise en contact avec la peau, par des réactions spécifiques telles qu'une rougeur, une urticaire ou une nécrose.

Matériel végétal

Les extraits compris dans le test d'irritation cutanée sont : EMRPH, EMRCM

Matériel animal

Nous avons utilisé des rats adultes males de souches Wistar dont le poids 300g à 350g.



Figure 31: Les rats males

Protocole expérimentale

- Un extrait est préparé par dissolution 1 g d'extract sec de résine dans 10 ml d'eau physiologique

- Un extrait est préparé par dissolution 1 g d'extrait sec de résine dans 10 ml DMSO



Figure 32: préparation de les extraits EMRPH et EMRCM

Les rats sont divisés en :

- Rats 01 : traitées avec de EMRPH
- Rats 02 : traitées avec de EMRCM
- Rats 03 (Témoin) : traitées avec de DMSO
- Rats 04 (Témoin) : traitées avec de l'eau physiologie

Les rats prévus pour le test seront tendus au niveau des deux flancs, sur une surface d'environ 4×4 cm. Il est rasé avec une lame de rasoir stérile, 24h avant l'application du extract. Seuls les rats dont la peau est parfaitement saine et glabre seront sélectionnés pour la suite de l'essai, 24h avant l'application de l'extract. Seuls les rats dont la peau est parfaitement saine et glabre seront sélectionnés pour la suite de l'essai



Figure 33: Raser les poils les rats

On prélèvera une quantité de 0.5 ml pour les extraits qu'on déposera ensuite sur une compresse stérile de $2.5 \times 2.5\text{cm}$, avant de l'appliquer de manière uniforme. La compresse doit être maintenue en contact souple avec la peau en utilisant un pansement, par du sparadrap perforé tout en faisant en sorte que l'animal n'ait pas accès à la compresse



Figure 34: Les rats après l'application des extraits



Figure35 :la préparation des extraits sur une compresse stérile

Observation et interprétation des résultats

Les pansements seront retirés 4 heures plus tard. La première observation se fera 24 heures après l'application du produit à tester, suivie par deux autres lectures qui se feront à un intervalle de 24 heures (à 48 et 72 heures).

Les rats seront par la suite examinés à la recherche de signes d'érythème ou d'œdème attribuant une cotation en accord avec chaque observation

Chapitre II

Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

A. Etude phytochimique

II.1 Screening phytochimique des métabolites secondaires

Les tests phytochimiques permettent d'identifier les divers composés chimiques présents dans les résines des deux plantes, en utilisant des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions reposent sur des phénomènes tels que la précipitation ou le changement de coloration induit par des réactifs spécifiques.

I.1.1. Criblage des composés phénoliques

➤ Flavonoïdes

La mise en évidence des flavonoïdes dans les extraits hydrométhanoliques a révélé que la résine de *Commiphora myrrha* L. est riche de ces métabolites secondaires, tandis que le *Pinus halepensis* Mill. est moins riche en flavonoides.



Figure 36 : Photographies des flavonoïdes d'EMRPH et EMRCM

➤ Les Tanins

Selon les réactifs employés pour détecter les tanins, il semble que la résine *Commiphora myrrha* est Riche aux tanins d'acide gallique à cause de l'apparition de la

couleur bleu-noir, au contraire de la résine de *Pinus halepensis*

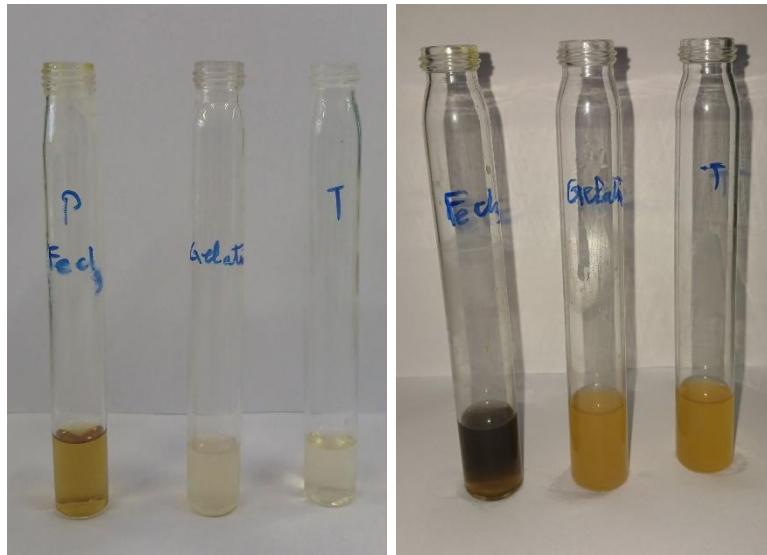


Figure 37 : Photographies des tanins de *Commiphora myrrha* et *Pinus halepensis*

Tableau 6 : Les résultats des tanins

Les espèces	Les tanins
<i>Commiphora myrrha</i>	+
<i>Pinus halepensis</i>	-

Test positif : (+)

Test négatif : (-)

II.1.2 Criblage des stérols, stéroïdes et terpènes

Les tests de criblage ont permis de révéler la présence de stérols et terpènes dans les deux résines des 2 espèces *Commiphora myrrha* et *Pinus halepensis* sont très riches , mais pour les stéroïdes lactoniques sont trouvés uniquement dans *commiphora myrrha*. Les travaux de recherche menés par (**Batiha et al., 2022**) ont mentionnés la présence de terpènes et stéroïdes dans *Commiphora myrrha*.

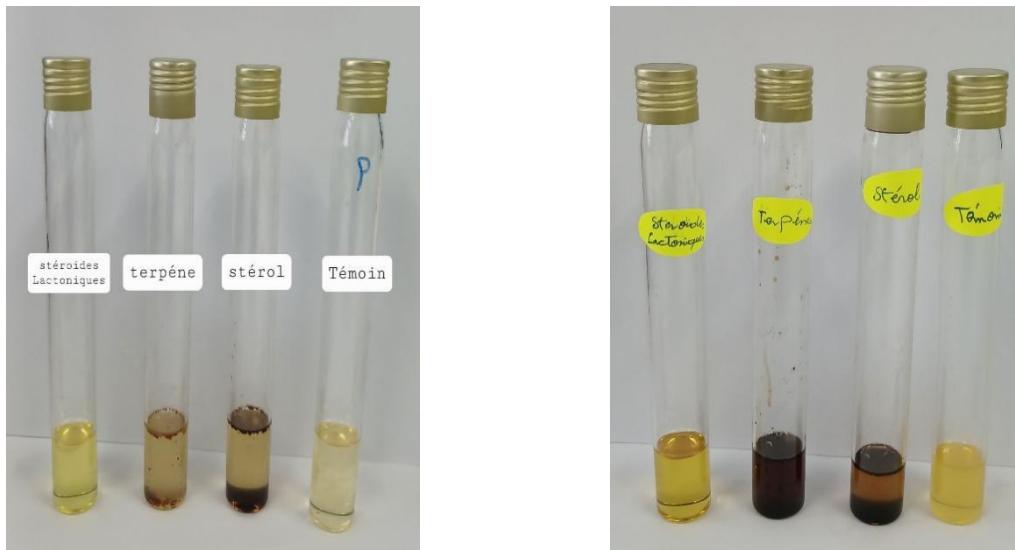


Figure 38 : Photographies des stérols, stéroïdes et terpènes des *Pinus halepensis* et *commiphora myrrha*

Tableau 7:Résultats des stérols, stéroïdes et terpènes.

	Terpène	Stérol	Stéroïde lactonique
<i>Pinus halepensis</i>	+	+	-
<i>commiphora myrrha</i>	+	+	+

(-) : Test négative

(+) : Test positive

II.1.3 Criblage des saponosides

Le calcul de l'indice de mousse des extraits méthanoliques des résines de Commiphora myrrha et Pinus halepensis, nous avons constaté l'absence de saponosides dans les deux espèces a élucidé la présence des saponosides en quantité considérable chez Commiphora.

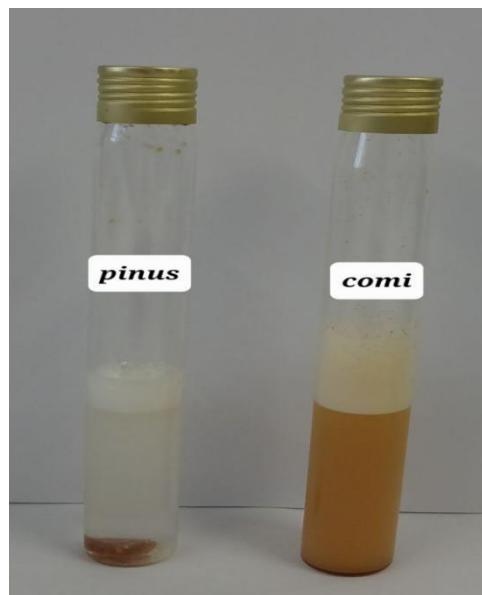


Figure 39 : Photographies des saponosides des *Pinus halepensis* Mill et *commiphora*

Éspéce	<i>Pinus halepensis</i>	<i>Commiphora myrrha</i>
Les saponosides	+	+++

Tableau 8: Résultats des saponosides

- Mousse de 1 à 2cm =Test positive (+)
- Mousse de plus de 2cm = Test très positif. (+++)

II.1.4 Analyse sur les plaques CCM

L’analyse des extraits des résines sur chromatographie sur couche mince (CCM), en utilisant les systèmes solvants, S1: chloroforme 100 % et S2 : Chloroforme/méthanol (9 :1) comme phases mobiles. Les chromatogrammes obtenus sont visualisés sous UV (254 et 366) et révélé avec l’acide . Ont montré la présence des terpènes, flavonoïdes, phénols, Stérols et stéroïdes dans les deux espèces. En plus des métabolites secondaires trouvées, la résine de *Commiphora myrrha* est riche en tanins.

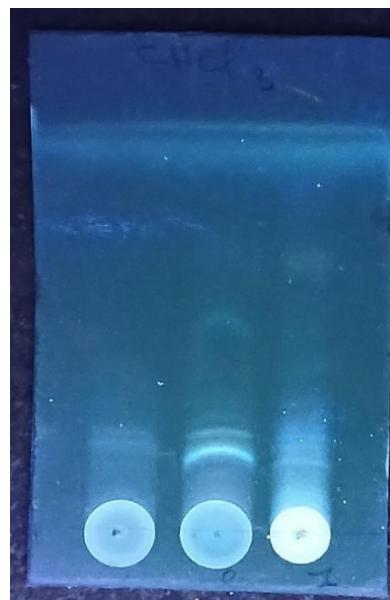


Figure 40 : chromatogrammes des résines des EMCM et EMPH avec le système S1 : Chloroforme 100 %

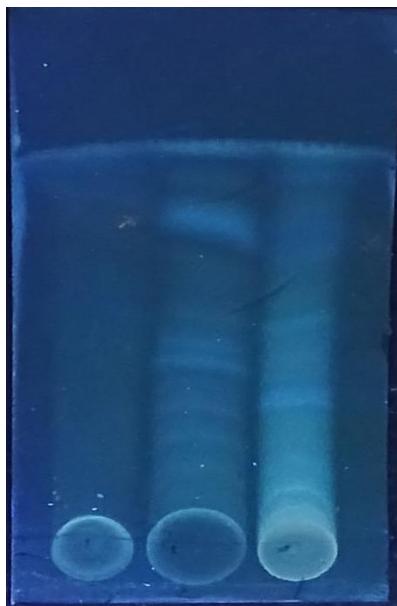


Figure 41 : chromatogrammes des résines des EMCM et EMPH avec le système S2: (CH₃Cl:MeOH 9:1)

II.1.5 Le Dosage des polyphénols

Les teneurs totaux des polyphénols mesurées à l'aide de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique utilisé comme standard, dont la fonction : $y = 0,0034x + 0,1044$.

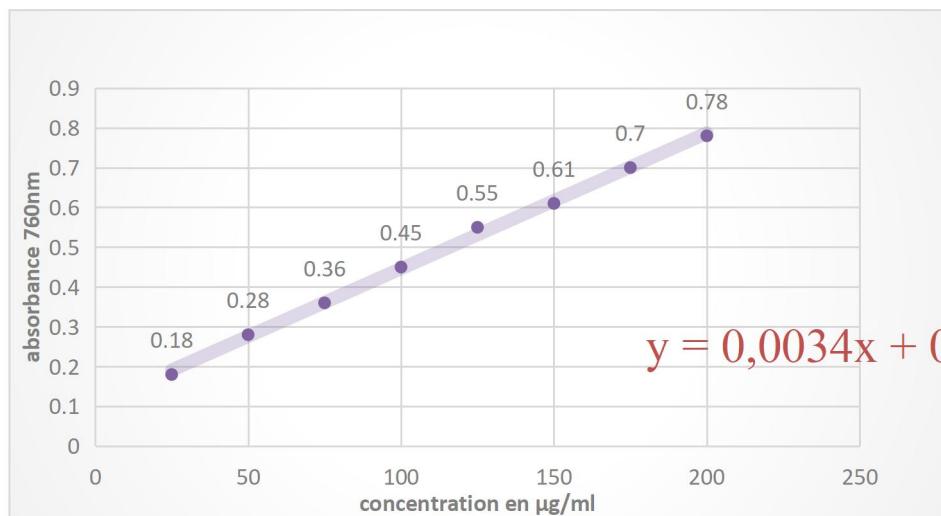


Figure 42 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Tableau 9: Taux de polyphénols existant dans les extraits EMRPH et EMRCM

Les extraits	Total phénolique content (µg QE/ml)
EMRCM	213,71±37.47
EMRPH	22,53±17.72

Les résultats de la détermination des teneurs totaux des polyphénols, ont montré que l'extrait EMRCM présente une concentration élevée en composés phénoliques, estimée à 213,71 µg/mg GAE/mL, tandis que cette concentration est relativement faible dans l'extrait EMRPH, avec 22,53 µg/mg GAE/mL).

D'autre part **Meziti et al. (2019)** ont révélés que les cônes de *P. halepensis*, sont riches en composées phénoliques ($251,40 \pm 7,07$ µg EAG/mg d'extrait sec). De même **Bouzenna et al.(2021)** ont trouvé que l'extrait aqueux des aiguilles de *P. halepensis*, possède la plus grande teneur en PP totaux ($735,41 \pm 0,09$ µg EAG/ mg d'extrait sec).

II.1.6 dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la formation d'un complexe entre AlCl_3 et les flavonoïdes, ayant une absorbance maximale à 430 nm.

La quercétine a été utilisé comme un standard, la courbe d'étalonnage ayant l'équation : $(Y=0,0071X)$ avec $R^2= 0,9985$

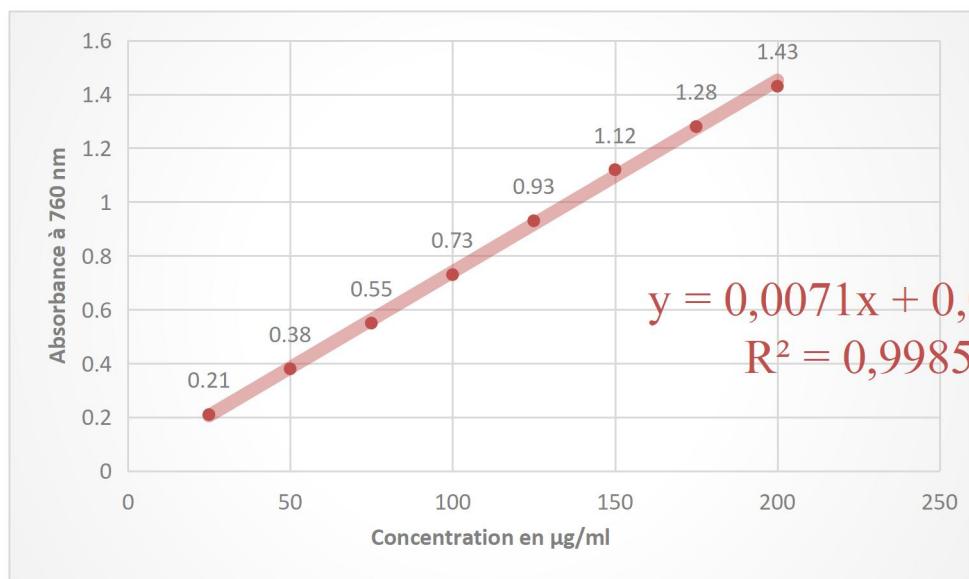


Figure 43 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

Tableau 10: Taux des flavonoïdes existant dans les extraits EMRPH et EMRCM

Les extraits	Flavonoïdes content ($\mu\text{g QE/ml}$)
EMRCM	$155,35 \pm 43,14$
EMRPH	$69,37 \pm 1,41$

Les extraits analysés présentent des teneurs différentes en flavonoïdes : la résine de Commiphora(EMRCM = $155,35 \pm 43,14 \mu\text{g EQ/ml}$) est plus riche que la résine de Pinus (EMRPH = $69,37 \pm 1,41 \mu\text{g EQ/ml}$). ces chiffres suggère différence dans la composition phytochimique est plus concentrée en terme de flavonoïdes dans l'extrait EMRCM.

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

Activités biologiques

B.Activité biologique

II.1 Activité antioxydante

Les processus d'oxydation sont variés, et l'activité antioxydante peut se manifester sous différentes formes, attribuées à divers mécanismes. Ces mécanismes comprennent le piégeage des radicaux libres, la chélation des ions métalliques de transition, la prévention de l'initiation des réactions génératrices d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), et la décomposition des peroxydes. (Ozen, 2009)

- **Capacité de piégeage du radical libre DPPH**

Les résultats obtenus sont présentés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH et comparés à un antioxydant de référence.

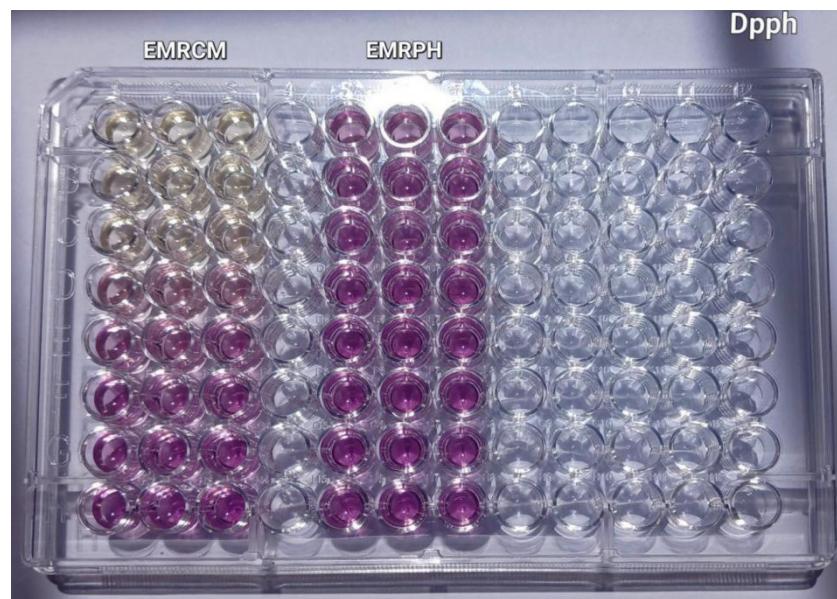


Figure 44 : résultats du test DPPH sur microplaqué

Tableau 11:Inhibition du radicaux libres DPPH par les extraits EMRPH et EMRCM

	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400µg	800µg	IC ₅₀ (µg/ml)
EMRCM	NA	NA	30,69±0,54	48,02±2,57	79,83±2,98	85,15±0,81	83,97±0,95	108,13±5,73
EMRPH	NA	NA	NA	NA	NA	9,72±	22,59±0,85	>800

	0.78125 μg	1.5625 μg	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	IC ₅₀ (μg/ml)
Trolox	6.42±0.91	13.33±2.14	30.19±0.67	61.48±2.98	87.16±0.28	88.46±0.11	87.72±0.47	5.12±0.21
Ascorbic acid	0.31±1.02	12.90±0.28	29.69±0.39	76.67±0.37	84.94±0.84	87.78±0.49	86.36±0.21	4.39±0.01

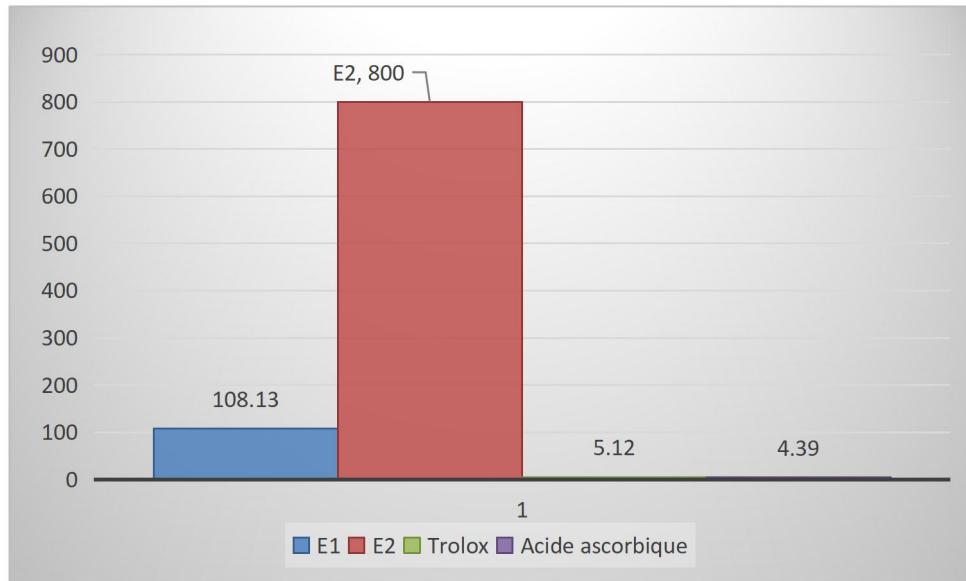


Figure 45 : les valeurs de l'IC₅₀ de test DPPH

Selon les résultats obtenus par la méthode DPPH, l'extrait méthanolique de la résine de *Commiphora myrrha* posséde une activité antioxydante notable avec un IC₅₀ de 108.13 ± 5.73 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) , ce qui moins puissant que les standards .

Pinus halepensis a une activité antioxydante significativement plus faible, avec un IC₅₀ supérieur à 800 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ce qui indique une efficacité limitée en tant qu'antioxydant

Trolox et Acide Ascorbique sont des antioxydants très puissants, avec des IC₅₀ respectivement de 5.12 ± 0.21 $\mu\text{g}/\text{ml}$ et 4.39 ± 0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$, l'Acide Ascorbique étant légèrement plus efficace que le Trolox

- **Test de l'activité ABTS**

Le tableau et la figure 46 ci-dessous présentent la détermination des différentes concentrations inhibitrices de l'extrait, en comparaison avec les standards de Trolox et d'acide ascorbique.

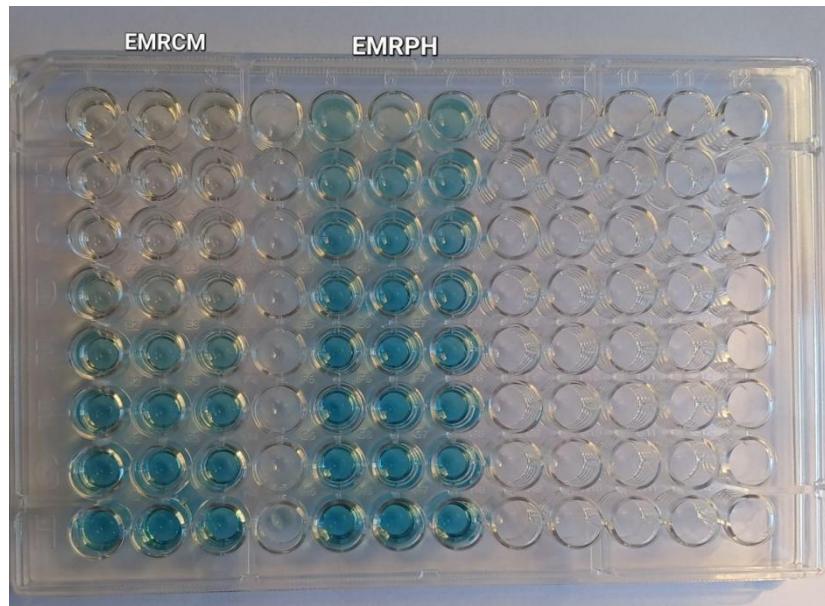


Figure46 : Résultats du test DPPH sur microplaqué

Tableau 12: Pouvoir d'inhibition de l'ABTS avec les valeurs d'IC50 de test ABTS

•	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400µg	800µg	IC ₅₀ (µ/ml)
EMRCM	13,56±2,08	23,26±2,92	38,46±0,52	61,75±3,75	84,97±3,48	90,84±0,82	91,62±0,45	151,92±9,78
EMRPH	2,90±0,85	3,92±1,60	6,14±0,73	11,58±0,68	17,51±1,71	30,68±8,47	18,35±2,59	>800
	0.78125 µg	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	IC ₅₀ (µ/ml)
Trolox	14.74±0.37	26.15±0.65	51.70±1.51	89.72±0.67	92.89±0.19	92.89±0.19	91.84±1.19	3.21±0.06
Ascorbic acid	13.43±0.82	28.76±0.67	52.94±0.94	93.21±0.11	93.08±0.19	92.40±0.88	92.96±0.11	3.04±0.05

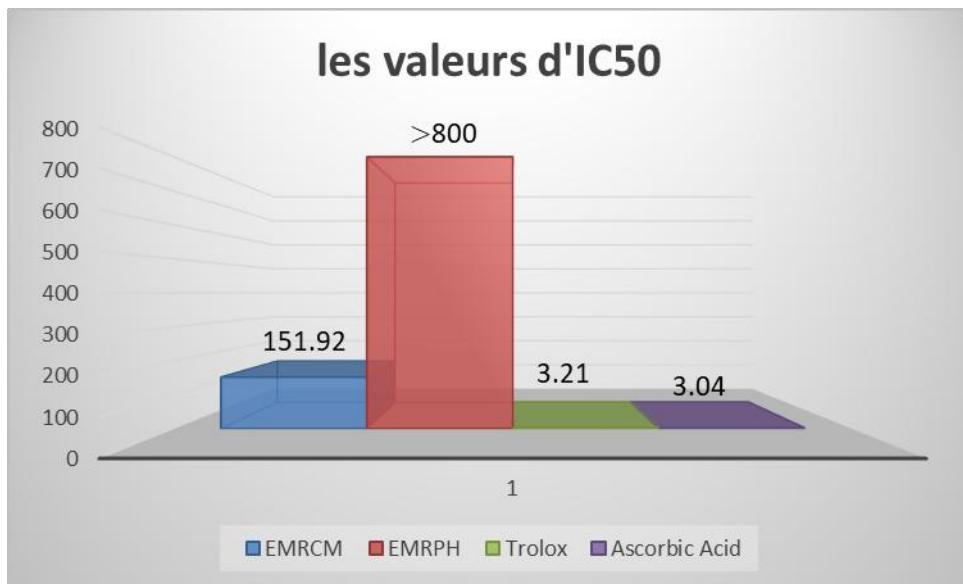


Figure 47 : Les valeurs d'IC50 du test ABTS.

Commiphora myrha possède une activité antioxydante modérée, avec un IC50 de $151,92 \pm 9,78 \mu\text{g/ml}$, ce qui est moins puissant que les standards.

Pinus halepensis a une activité antioxydante plus faible, avec un IC50 de $>800 \mu\text{g/ml}$, ce qui indique une efficacité limitée en tant qu'antioxydant.

Trolox et Acide Ascorbique sont des antioxydants très puissants, avec des IC50 respectivement de $3.21 \pm 0.06 \mu\text{g/ml}$ et $3.04 \pm 0.05 \mu\text{g/ml}$, l'Acide Ascorbique étant légèrement plus efficace que le Trolox.

Commiphora myrha montre une activité antioxydante assez modérée, avec une augmentation de son pouvoir réducteur en fonction de la concentration, mais son efficacité est inférieure à celle des antioxydants standards.

Par contre l'extrait méthanolique de *Pinus halepensis* n'a montré aucune activité antioxydante. L'étude menée par (Alanso et al., 2000) a indiqué que la résine de *P. halepensis* a exhibé une activité réductrice importante. Avec un pouvoir de 0,63 UI, qui est supérieur à celui obtenu avec la vitamine E. Le BHA a montré le plus fort pouvoir réducteur. Ces variations pourraient être attribuées aux facteurs structuraux des différents antioxydants.

L'étude de (Fraternale et al., 2011) dit que les composés de la classe des diterpènes, des sesquiterpénoïdes, des stérols et des triterpènes présents en grande quantité dans les extraits de *Commiphora myrrha* peuvent servir de donneurs d'électrons réagissent avec les radicaux libres en les convertissant en un produit plus stable, mettant ainsi fin aux réactions radicalaires en chaîne.

II.2 Activité antibactérienne

Tableau 13: Photographie des zones d'inhibition en (mm) après 24 h d'incubation chez *Escherichia coli*.

Traitements	Résultats
Les Témoins (–) et (+)	
EMRPH	
EMRCM	

Tableau 14: Diamètres moyens des zones d'inhibition en (mm) après 24 h sur *Escherichia Coli*

<i>Escherichia Coli</i>			
Référence AUG3			
Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm)			20
Sensibilité			+++
EMRPH			
Concentration	C1	C2	C3
Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm)	13	9	14
Sensibilité	++	+	++
EMRCM			
Concentration	C1	C2	C3
Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm)	12	10	14
Sensibilité	++	+	++

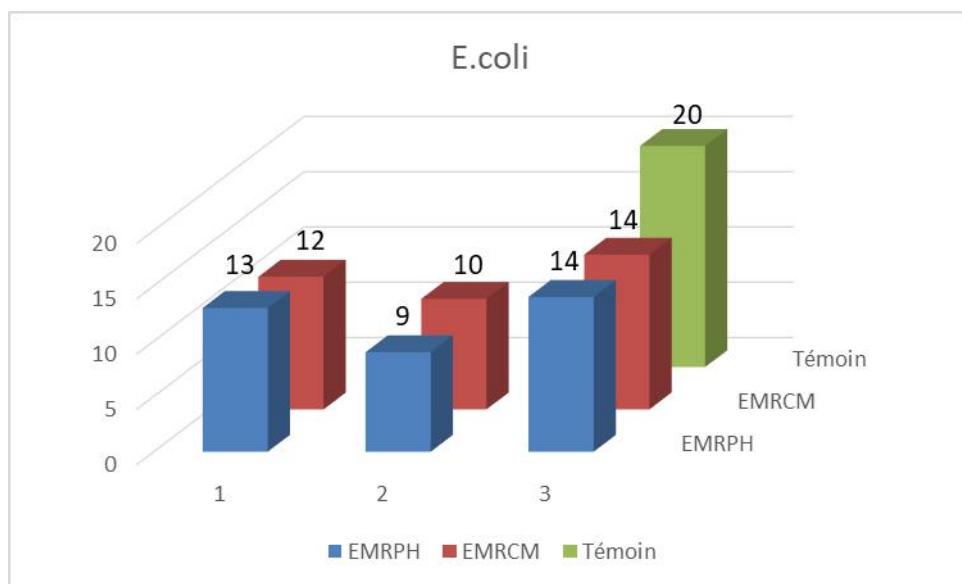


Figure 48: Histogramme montrant l'effet inhibiteur des résines sur *Escherichia Coli*.

Tableau15: Photographie des zones d'inhibition en (mm) après 24 h d'incubation chez *Staphylococcus aureus*.

Traitements	Résultats
Les Témoins (−) et (+)	
EMRPH	
EMRCM	

Tableau16:Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm) après 24 h. *Staphylococcus aureus*

<i>Staphylococcus aureus</i>
Référence AUG3

Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm)	20		
Sensibilité	+++		
EMRPH			
Concentration	C1	C2	C3
Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm)	14	12	19
Sensibilité	++	++	+++
EMRCM			
Concentration	C1	C2	C3
Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm)	5	6	19
Sensibilité	-	+	+++

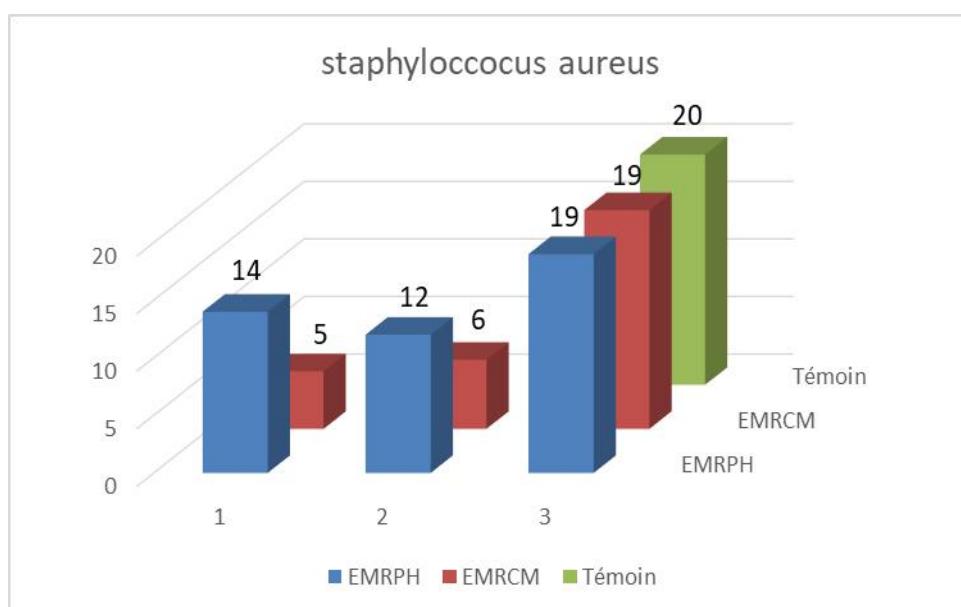


Figure 49 : Histogramme montrant l'effet inhibiteur des résines et le témoin (+) sur *Staphylococcus aureus*

La discussion

Pour *E. coli*, les diamètres d'inhibition observés avec la résine de Pin d'Alep étaient respectivement de 13 mm à 1 mg/ml (C1), 9 mm à 2 mg/ml (C2), et 14 mm à 3 mg/ml (C3).

De façon comparable, la résine de *Commiphora* a induit des diamètres d'inhibition de 12 mm, 10 mm et 14 mm pour ces mêmes concentrations. Ces données illustrent un effet dose-dépendant des résines : une augmentation de la concentration entraîne généralement une activité antibactérienne plus prononcée.

Concernant *Staphylococcus aureus*, les diamètres d'inhibition obtenus avec la résine de Pin d'Alep étaient de 14 mm à 1 mg/ml (C1), 12 mm à 2 mg/ml (C2) et 19 mm à 3 mg/ml (C3). De façon analogue, la résine de *Commiphora* a montré des diamètres d'inhibition de 5 mm, 6 mm et 19 mm aux mêmes concentrations. Ces résultats mettent en évidence un effet dose-dépendant des résines : une concentration plus élevée est généralement associée à une activité antibactérienne accrue.

Les extraits résineux de Pin d'Alep et de *Commiphora* ont présenté une activité antibactérienne variable selon les souches testées. Une inhibition modérée a été observée contre *Escherichia coli* (jusqu'à 14 mm), probablement en lien avec la structure particulière des bactéries Gram négatif, qui possèdent une membrane externe limitant la pénétration des agents antimicrobiens. En revanche, contre *Staphylococcus aureus*, les deux extraits ont atteint des zones d'inhibition allant jusqu'à 19 mm à des concentrations élevées, suggérant une meilleure efficacité vis-à-vis des bactéries Gram positif.

Les résultats montrent que les zones d'inhibition générées par les extraits testés sont comparables à celles du témoin positif (20 mm), aussi bien pour *E. coli* que pour *S. aureus*, ce qui témoigne d'une activité antibactérienne significative. Cette efficacité pourrait être liée à la présence de composés bioactifs, notamment les terpènes, connus pour leurs propriétés antimicrobiennes contre ces deux types de bactéries (**Guimarães et al., 2019**).

II.3 Activité Enzymatique :

- **Inhibition de l'alpha-amylase**

L'activité inhibitrice de l'enzyme alpha-amylase par les deux extraits a été analysée en déterminant les concentrations inhibitrices médianes (CI50), comparées au standard acarbose. Cette analyse est basée sur la capacité des substances testées à bloquer l'action de l'enzyme. Les résultats obtenus sont présentés ci-après.

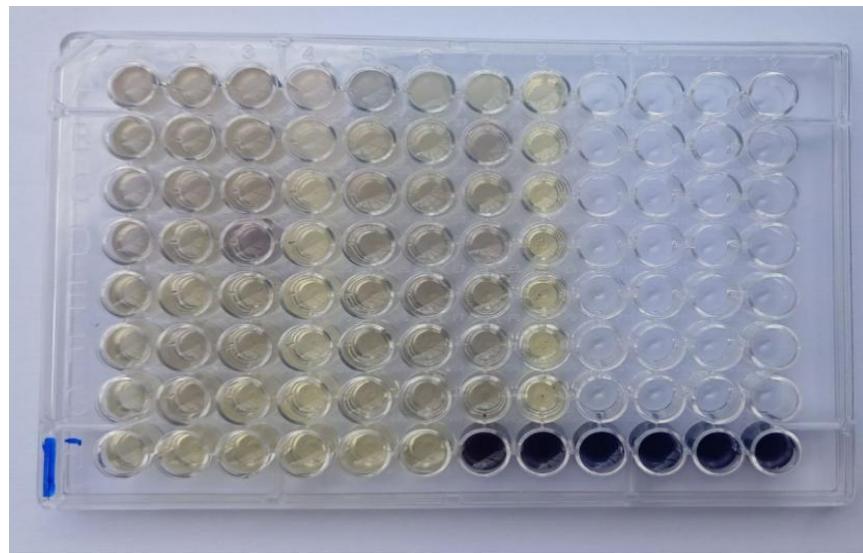


Figure 50 : résultats du l'activité inhibitrice de l'alpha-amylase sur microplaqué.

Tableau 17: inhibition de alpha-amylase par les extraits EMRPH et EMRCM

Extraits	% d'inhibition							
	6,25 µg	12,5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	IC ₅₀ (µg/ml)
EMRPH	NA	NA	NA	NA	NA	NA	6,20±2,77	>400
EMRCM	4,92±1,31	9,32±1,10	6,60±3,48	8,23±1,09	16,52±0,94	18,32±3,83	46,63±6,05	>400
	62,5 µg	125 µg	250 µg	500 µg	1000 µg	2000 µg	4000 µg	IC ₅₀ (µg/ml)
Acarbose	7,76±0,17	8,08±0,30	9,46±0,11	10,70±0,96	31,81±2,89	37,21±3,54	53,05±1,59	3650,93±10,70

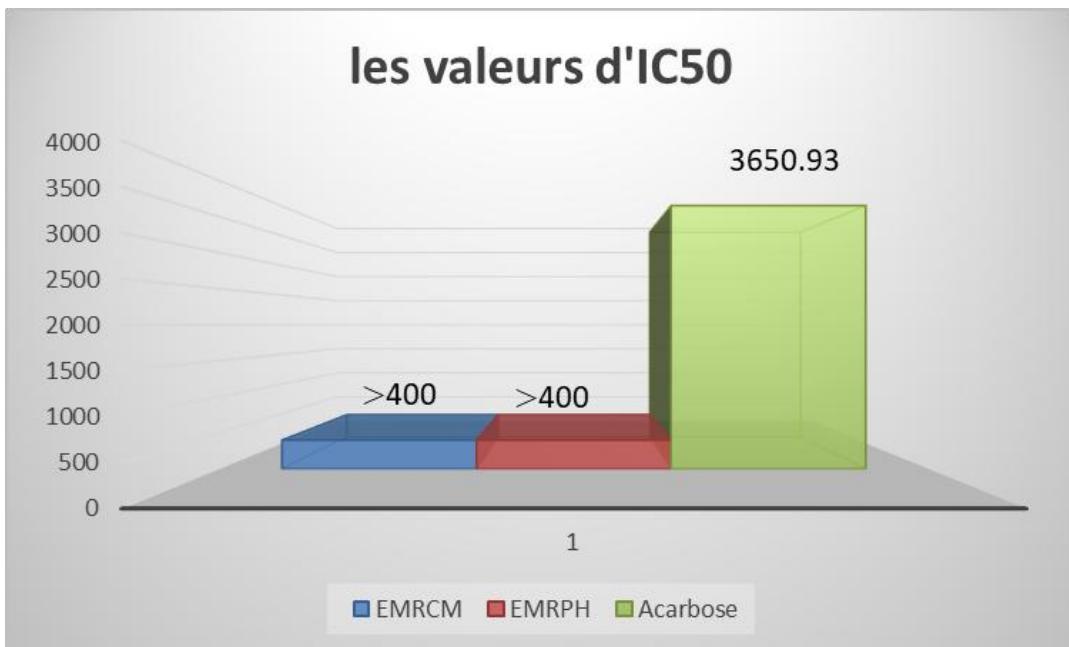


Figure 51 : Valeurs des CI50 du test d'inhibition de l'α-amylase pour les extraits EMRCM et EMRPH

La discussion

Les résultats obtenus montrent que les deux extraits végétaux EMRPH (*Pinus halepensis*) et EMRCM (*Commiphora myrrha*) présentent une faible activité inhibitrice de l'α-amylase. En effet, leurs valeurs d'IC₅₀ dépassent 400 µg/ml, indiquant qu'ils sont peu efficaces même à des concentrations élevées. Cette inhibition modeste contraste fortement avec celle de l'acarbose, utilisée comme témoin positif, qui affiche une IC₅₀ beaucoup plus faible (3650,93 µg/ml), sa puissance inhibitrice.

II.4 Activité anti-inflammatoire in vitro :

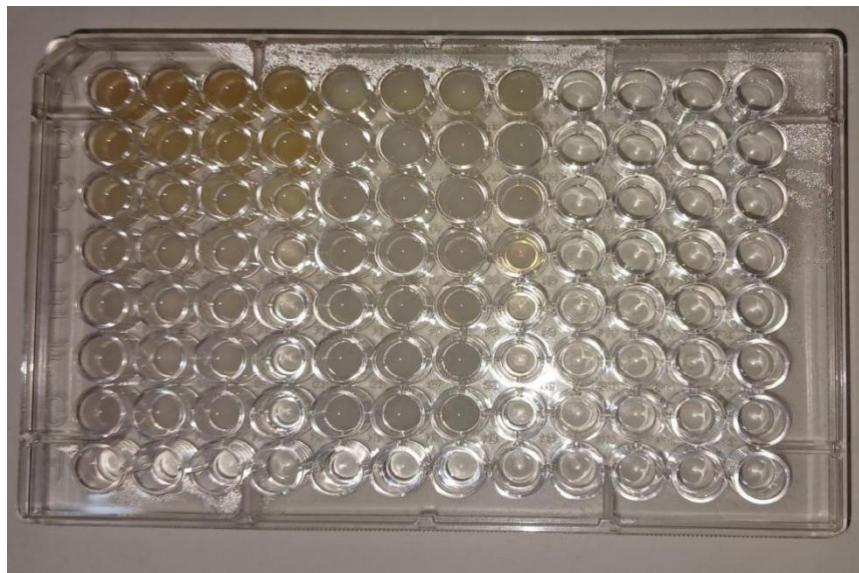


Figure 52 : résultats du l'activité anti-inflammatoire sur microplaqué.

Tableau 18: inhibition de BSA par les extraits EMRPH et EMRCM

	125	250	500	1000	2000	4000	8000	IC₅₀ (µg/ml)
EMRPH	NA	NA	NA	35,42±6,58	75,93±4,81	Sat	Sat	>8000
EMRCM	NA	NA	NA	NA	45,09±5,45	80,35±3,09	68,65±2,72	>8000
	9.76µg	19.5µg	39.06 µg	78.1 µg	156.2 µg	312.5 µg	625 µg	IC₅₀ (µg/ml)
Dichlofenac	26,97±0,07	45,65±2,27	71,90±2,60	93,52±0,15	92,89±0,80	94,03±0,07	93,90±0,15	24,01±0,41

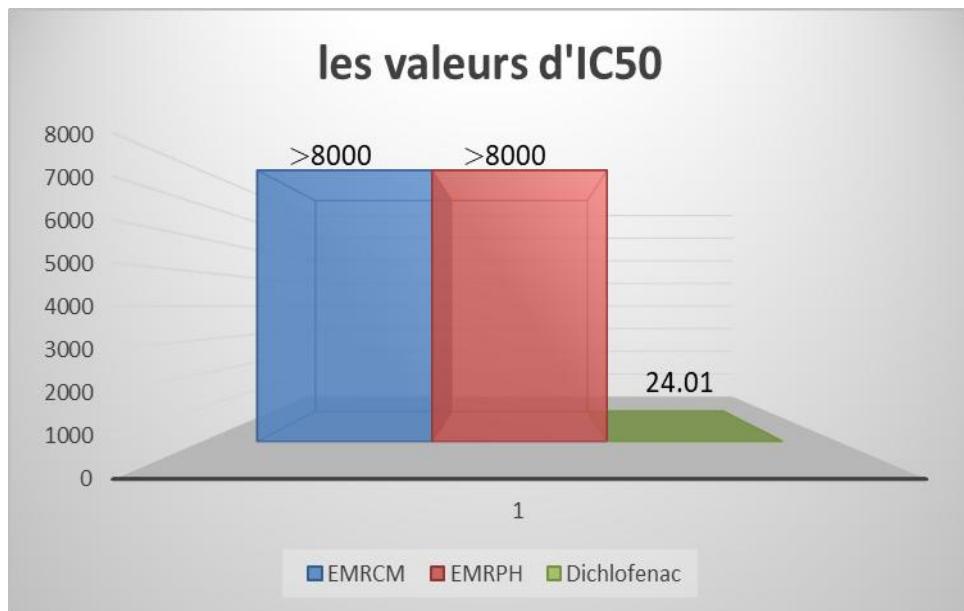


Figure 53: les valeurs d'IC50 de l'activité anti-inflammatoire des deux extraits EMRCM et EMRPH

La discussion

Les résultats du test d'inhibition de la dénaturation de BSA, utilisé comme méthode d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, ont montré que les deux extraits EMRCM et EMRPH, présentent des valeurs de CI_{50} supérieures à 8000 $\mu\text{g/ml}$, indiquant ainsi une activité anti-inflammatoire faible comparée au médicament de référence, le diclofénac, qui a montré une efficacité élevée avec une valeur de CI_{50} de 24,01 $\mu\text{g/ml}$ seulement.

Malgré cette faible activité, il convient de souligner que les analyses phytochimiques ont révélé une teneur notable en composés phénoliques (polyphénols) dans les deux extraits, avec une concentration plus élevée dans l'extrait de *Commiphora myrrha*.

L'étude de (**Beaudeux , & Durand, 2008**) dit que L'extrait méthanolique de *Pinus halepensis* a démontré une activité anti-inflammatoire effective à toutes les étapes du processus inflammatoire, probablement grâce à plusieurs mécanismes d'action. De plus, cet extrait a révélé une forte capacité antioxydante, ce qui suggère que l'inhibition de la production de radicaux libres pourrait être l'un des mécanismes sous-jacents à son action anti-inflammatoire.

II.5. Evaluation toxicologique in vivo

II.5.1 Test d'irritation cutané

Nous avons réalisé le test sur quatre souris de laboratoire et appliqué les quatre solutions sur leur peau après avoir rasé une zone de leurs poils. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

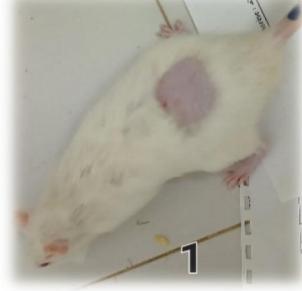
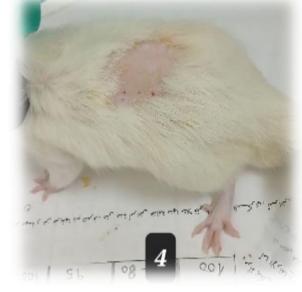
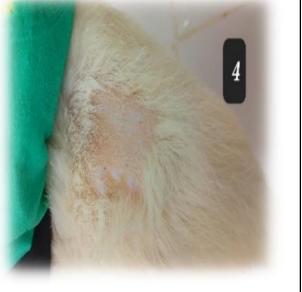
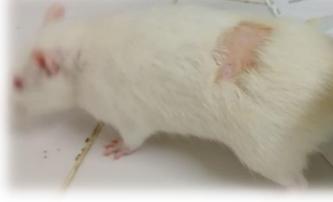
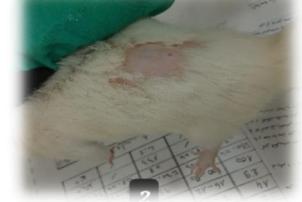
Les solutions	Les jours		
	1	2	3
DMSO			
<i>Pinus halepensis</i>			
Eau physiologie			
<i>Commiphora myrrha</i>			

Tableau19:Les résultats de 3 jours d'observation de test d'irritation des 2 espèces *Pinus halepensis* et *Commiphora myrrha*

La discussion

Notre résultats ont montré que l'extrait de *Pinus halepensis* présente une bonne tolérance cutanée, sans apparition d'irritation ni de changement visible de la peau après application. Cela indique une compatibilité dermatologique favorable pour un usage topique.

En revanche, l'extrait de *Commiphora myrrha* a provoqué une rougeur marquée accompagnée d'un réflexe de retrait chez la souris, suggérant un effet irritant ou potentiellement douloureux. L'étude de **Fraternale et al., 2011** dit que le test d'irritation a été effectué sur un modèle animal selon un protocole standardisé. L'extrait a été appliqué à différentes concentrations (faibles, modérées et élevées) sur la peau rasée des animaux. Les résultats ont révélé l'absence de toute réaction visible aux faibles et moyennes concentrations. Cependant, à forte concentration (≥ 500 mg/mL), une rougeur modérée (érythème) et un léger œdème ont été observés après 24 heures d'exposition, indiquant une irritation cutanée réversible. Ces effets ont disparu complètement après 72 heures, suggérant que l'irritation est transitoire et non permanente. Ce résultat met en évidence l'importance du dosage dans les applications topiques de l'extrait . Aussi, l'étude de **Salhi et al. (2024)** indique que l'application topique d'un extrait de *Pinus halepensis* à une dose de 5000 mg/kg n'a provoqué aucune réaction cutanée significative chez les rats de laboratoire. Aucun signe d'érythème ni d'œdème n'a été observé durant la période de suivi de 14 jours, et aucun décès n'a été enregistré. Ces résultats suggèrent une absence de toxicité aiguë par voie cutanée, et confirment une bonne tolérance locale, ce qui ouvre la voie à une utilisation sécurisée de cet extrait dans des formulations dermatologiques

Conclusion

Nos recherches ont porté sur des espèces de grande importance médicinales , à savoir le *Pinus halepensis* Mill, appartenant à la famille des Pinacées, et le *Commiphora myrrha* L. à la famille des Burseracées. L'objectif principal de cette étude consiste à caractériser les métabolites secondaires ainsi qu'à évaluer leurs activités biologiques (antioxydante , anti bactérienne ,alpha amylase , anti inflammatoire, toxicité (test d'irritation) .

Dans le screening phytochimique la présence significative de flavonoïdes, tanins, stérols, terpènes ,saponosides, etc., dans les deux plantes analysées a été détectée.

Pour résumer les activités biologiques réalisées sur les extraits hydrométhanoliques, voici un aperçu :

L'évaluation de l'activité antioxydante montre que les deux extraits est différent dans les résultats, l'extrait EMRCM ayant une activité sur EMRPH, qui n'a pas d'activité antioxydante.

Lors de l'évaluation de l'activité antibactérienne, les deux extraits EMRCM et EMRPH ont montré une activité notable sur la croissance des souches *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, avec des degrés d'inhibition variables selon les deux souches.

Les extraits de *Pinus halepensis* et de *Commiphora myrrha* ont montré une activité inhibitrice faible contre l' α -amylase, comme l'indiquent les valeurs élevées de CI_{50} obtenues lors de l'évaluation. Cc

Dans l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, les extraits EMRPHet EMRCM n'ont montré aucune activité notable. Ce manque d'effet pourrait être attribué à une dégradation partielle des composés actifs, notamment les terpènes, possiblement causée par des conditions de séchage inappropriées ayant altéré leur stabilité ou leur biodisponibilité.

L'activité de toxicité est montrée que L'extrait de *Pinus halepensis* n'a provoqué aucune irritation cutanée chez les rats, contrairement à celui de *Commiphora myrrha* qui a induit une légère rougeur au niveau de la peau. Cette réaction pourrait être due à une concentration plus élevée de l'extrait appliqué, pouvant entraîner une sensibilité locale

Pour maximiser les bienfaits nutritionnels et thérapeutiques de ces deux plantes, il est souhaitable de poursuivre les recherches. Il serait pertinent d'explorer davantage ces plantes et

Conclusion

de développer de nouveaux produits alimentaires aux effets médicinaux. En parallèle, d'autres études et activités biologiques sont menées afin d'évaluer l'efficacité de ces plantes .

Références

A

- Abdul-Ghani ,R., Mansour, T., & El Baz, H. (2009). Myrrh and trematodoses in Egypt: an overview of safety, efficacy and effectiveness profiles . *Parasitology International* , 58 (3), 214-210.
- Akbar, S. (2020). *Handbook of 200 medicinal plants: A comprehensive review of their traditional medical uses and scientific justifications* (Vol. 1). (S. (. Akbar, Ed.) Springer International Publishing.
- Alyafei, N. (2020). Can myrrh combat COVID-19? *Iberoamerican Journal of Medicine*, 2(3), 223–229.
- Alyafei, Najat; Alyafei, Najat. (2020). Can Myrrh Combat covid-19? *iberoamerican Journalof Medicine*, 223-229.
- Anderson, G. J., Stone, B. A., & Barrow, R. A. (1965). Studies on uronic acid materials: Part XI. The carbohydrate component of the oleoresin from *Boswellia papyrifera* (Del.). *ochst. Carbohydrate Research*, 320–323.
- Ayda Hosseinkhani, Fatemeh Ghavidel, Abdolali Mohagheghzadeh, & Mohammad Mehdi Zarshenas . (2017). Analysis of six populations of *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. oleogum resin. *Trends in Pharmaceutical Sciences*, 3(1), 7-12.

B

- Barnett J.R, L. J. (2004, June). Plant resins: Chemistry, evolution, ecology and ethnobotany. *Annals of Botany*, 93(6), 784-785.
- Batiha , G. E. S., Magdy, B., El-Hack, M. E. A., Taha, A. E., & Al-Sagan, A. A. (2023). *Commiphora myrrh: A phytochemical and pharmacological update*. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 405–420.
- Belal, M. F., Rahman, M. M., Sayeed, M. A., & Hossain, M. M. (2017). In vitro comprehensive analysis of phytochemical screening, antioxidant, anti-inflammatory and anti-diabetic activities of three different plants of Bangladesh. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*, 3(7), 39–48.
- Bown, D. (1995). *Encyclopedia of Herbs and Their Uses*. Dorling Kindersley, London.
- Boudjemaa, A., & Djouahri, A. (2016). Comparative study of essential oils and resins from needles and bark of *Pinus halepensis* Mill. growing in Algeria: Chemical composition and physicochemical properties. *Industrial Crops and Products*, 83, 316–325. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.049>
- Bouzenna, H., Samout, N., Fatma, G., Dhibi, S., & Saidi, I. (2021). Phytochemical, antioxidant and antibacterial activities of the aqueous and ethanol extracts of *Pinus*

- halepensis. *Discovery Phytomedicine*, 8(1), 24-28.
- Bruneton J., (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Technique & Documentation, Paris, 721-741.
 - Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie - Phytochimie , Plantes médicinales. (T. &.-É. internationales, Ed.) 1288p.
 - Buisson, G., Duee, E., Haser, R., & Payan, F. (1987). Three-dimensional structure of porcine pancreatic α -amylase at 2.9 Å resolution: Role of calcium in structure and activity. *The EMBO Journal*, 6, 3909–3916.

C

- Candolle, A., & Candolle, A. (1883). Monographie des plantes phanérogame. *plante of the world online*, 4, 10.
- Colen, J. H., & Jones, T. R. (1847). Balsamodendron myrrha [Lithographie en couleur]. Dans J. Carson, Illustrations of Medical Botany (pl. 20). Historical Medical Library of The College of Physicians of Philadelphia (image numérisée en ligne)

D

- Djouahri, A., & Kadik, L. (2010). Composition chimique des huiles essentielles des rameaux et des aiguilles de Pinus halepensis Mill. et évaluation de leur activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 8(5), 304–310. <https://doi.org/10.1007/s10298-010-0539-4>
- Dolara , P., Luceri, C., Ghelardini, C., Monserrat, C., Aiolli, S., Luceri, F., & Menichetti, S. (1996). Analgesic effects of myrrh. *Nature* , 379 (6560), 29.

E

- Schulz, V., Hänsel, R., Tyler, V. E., & Wagner, H. (2001). *Rational Phytotherapy: A Physician's Guide to Herbal Medicine* (4th ed.). Springer-Verlag
- El Ashry, E. S., Rashed, A. N., Salama, O. M., & Saleh, A. (2003). Components, therapeutic value and uses of myrrh. *Fitoterapia*, 74(1–2), 106–112. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00277-0](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00277-0)
- Ellena, J.-C. (2020). *Atlas de botanique parfumée* (Éditions Actes Sud ed.). Paris: Arthaud.

F

- Ferrer, C. (2014, septembre 11). Silhouette d'un Pin d'Alep mort au coucher du soleil [Photographie]. Pinet, Hérault, France. Wikimedia Commons. Licence CC BY-SA 4.0
- Fern, K. (2014). *Commiphora myrrha*. Retrieved mars 20, 2025, from Useful Tropical Plants Database: <https://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Commiphora+myrrha>
- Fraternale, D., Sosa, S., Ricci, D., Salerno, G., Novelletto, A., & Tubaro, A. (2011). Anti-inflammatory, antioxidant and antifungal furanosesquiterpenoids isolated from *Commiphora erythraea* (Ehrenb.) Engl. resin. *Fitoterapia*, 82(5), 654–661. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.01.009>

G

- Zengin, G., Uysal, A., Gunes, E., Aktumsek, A., & Mollamehmetoglu, H. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*, 53, 244–251.
- Gaber El-Saber Batiha, Lamiaa Wasef, John Oluwafemi Teibo, Hazem M. Shaheen, Ali Muhammad Zakariya, Opeyemi Abigail Akinfe, et al. (2023). *Commiphora myrrh*: a phytochemical and pharmacological update. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 396, 405–420.
- Guimarães, A. C., Meireles, L. M., Lemos, M. F., Guimarães, M. C. C., Endringer, D. C., & Scherer, R. (2019). Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. *Molecules*, 24(13), 2471. <https://doi.org/10.3390/molecules24132471>
- Gy, Y., Nguessan, B. B., Méité, S., & Zirihi, G. N . (2008). Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'*Annonaréticulata* (Annonaceae) sur l'oeudème aigu de la patte de rat induit par la carragénine. *Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines*, 15, 23-25.

H

- Hanus, L. O., Lafonová, M., & Dembitsky, V. M. (2005). Myrrh–*Commiphora* chemistry. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czech Republic*, 149(1), 3–27.
- He, L. (1998). Alpha-glucosidase inhibitors as agents in the treatment of diabetes. *Diabetes Review*, 6, 132–145.
- Hosseinkhan , A., Akbarzadeh, T., & Dehghani, F. (2017). Analysis of six populations of *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. oleo-gum resin. *Trends in Pharmaceutical Sciences (TIPS)*, 3(1), 7–12.
- Hosseinkhani , A., Akbarzadeh, T., & Dehghani, F. (2017). Analysis of six populations of *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. oleo-gum resin. *Trends in Pharmaceutical Sciences*, 3(1), 7-12.

I

- Ioannou, I., Vasilakakis, M., & Machera, K. (2015). *Origin of the Variability of the Antioxidant Activity Determination of Food Material*. IntechOpen.

J

- Junior, S. A., & Rüdigera , A. (2007, January-May). The Chemistry and Pharmacology of the South America genus Protium Burm.f.(Burseraceae). *Pharmacognosy Reviews*, 1(1), 93-104.

K

Kandikattu K , Bharath Rathna Kumar P, Venu Priya R, Sunil Kumar K, Ranjith Singh.B.Rathore. . (2013). Evaluation of Anti-inflammatory Activity of Canthium parviflorum by In-vitro Method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1(5), 729–730

L

- La Cerdá-Lemus, M. (2011). LA FAMILIA BURSERACEAE EN EL ESTADO DE. *Acta Botanica Mexicana*(94), 1-25.
- Lamiaa F, Shalabi, Fedah S, & Otaif. (2022, March 29). Commiphora Jacq (Burseraceae) in Saudi Arabia, Botanical, Phytochemical and Ethnobotanical Notes. *Ecologies*, 3857.
- Le Jeune, R. (2011). La myrrhe Commiphoramyrha (Nees) Engl. *Phytothérapie*, 9, 42–47.
- Lebovitz, H. (1997). Alpha-glucosidase inhibitors. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 26, 539–551.
- Louis. (2010). GESTION ET UTILISATION DES ANTIINFLAMMATOIRES EN ODONTOLOGIE. *Thèse de doctorant en chirurgie dentaire. UNIVERSITE HENRI POINCARE-NANCY*, 1, 47.
- Lumír, O., Hanuš, Tomáš, Ř., Valery, M., Dembitsky, & Moussaieff, A. (2005). Myrrh—Commiphora chemistry. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia*, 149, 3–28.

M

- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.

- Massei, K. (2022). Caractérisation et valorisation de matières premières aromatiques : le ciste, la myrrhe et l'encens. *Thèse de doctorat, Université Côte d'Azur*, 342.
- Massoud, A. A., El-Sayed, N. M., & Eltahir, Y. M. (2001). Preliminary study of therapeutic efficacy of a new fasciolicidal drug derived from Commiphora molmol(myrrh). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 65(2), 96–99.
- Meziti, H., Bouriche, H., Kada, S., Demirtas, I., Kizil, M., Senator, A., & Garrido, G. (2019). Analyse phytochimique et effets hémolytiques et génoprotecteurs de Quercus -antioxydants, antiextraits et Pinus halepensis Mill.ilex L. 272.-, 260 7 , Rés. *Pharmac. J.Pharm.* méthanoliques. *J.Pharm.Pharmac.Rés.* 7,260-272.
- Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant [Reactive oxygen species and oxidative stress]. *Médecine/Sciences*, 27, 405–412.
- Mouas.k. (2016). Extraction, purification et caractérisation d'une enzyme amylolytique issue de Bacillus amylolique facien. *Université M'hamed* , 11.
- Mueller, M., & Tainter, C. R. (2023). *Escherichia coli Infection*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555922/>
- Müller, M., Schwarz, K., & Böhm, V.(2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT – Food Science and Technology*, 43, 992–999.
- Muster.D. (2005). Médicaments de l'inflammation., Anti-inflammatorydrugs. *EMC-Stomatologie*, 1, 21-29.

N

- Nauciel, C., & Vildé, J.-L. (2005). *Bactériologie médicale* (2ed ed.). paris: Masson.
- Nomicos, E. (2007). Myrrh: Medical marvel or myth of the Magi? *Holistic Nursing Practice*, 21, 308–323.
- Nouadri, T. (2011). L’α-amylase de Penicillium camemberti PL21: Production, purification, caractérisation et immobilisation. *Thèse de doctorat, Université Mentouri de Constantine).* *Biochimie / Biotechnologies*, 143.

O

- OCDE. (2015). Ligne directrice n° 404 : Effet irritant/corrosif aigu sur la peau. *Organisation de Coopération et de Développement Économique*. Paris.
- Ozenda, P. (2006). *Les vegetaux. organisation et diversité biologique* (2 eme édition ed.). Paris, France : Dunod.

P

- Paquereau , J. (2013). *Au jardin des plants de la Bible:Botanique ,symboles et usages.* Paris,France: Centre national de la propriété forestière.
- Paquereau, J. (2006). *Au jardin des plantes de la Bible: Botanique, symboles et usages.* (I. p. (IDF), Ed.) Éditions de l'Atelier
- Poonia, A., Upadhyay, A., & Ojha, A. (2014). *International Journal of pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(4), 347-354.
- Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, 4, 2539 .

R

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231–1237.

S

- Spanos, K., Gaitanis, D., & Spanos, I. (2010). Resin tapping of Pinus halepensis in northern Evia, Greece [Figure 1]. In Resin production in natural Aleppo pine stands in northern Evia, Greece. *Acta Horticulturae*, 853. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.853.53>
- Ben Abdallah, M., Trabelsi, N., Elkahoui, S., & Hamida, J. B. (2019). Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre espèces algales marines. *Journal de l'Institut de Sfax (J.I.M. Sfax)*, 31, 38–44.
- Shalabi, L. F., & Otaif, F. S. (2022). Commiphora Jacq (Burseraceae) in Saudi Arabia: Botanical, phytochemical and ethnobotanical notes. *Ecologies*. 3, 38–57.
- Shen T, Li G-H, Wang X-N et al. (2012). The genus Commiphora: a review of its traditional uses. *Phytochemistry and pharmacology*. *J Ethnopharmacol*, 142, 319–330.
- Shobana, S., Sreerama, Y. N., & Malleshi, N. G . (n.d.). Composition and enzyme inhibitory properties of finger millet (*Eleusine coracana* L.) seed coat phenolics:Mode of inhibition of α -glucosidase and pancreatic amylase. *Food Chemistry*, 115, 1268–1273.
- Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., & Kukreti, S. (2019). Oxidative Stress: A Key Modulator in Neurodegenerative Diseases. *Molecules*, 24(8).
- Soni .P. D., Upadhyay, S. U., & Upadhyay, U. M. (2013). A review on Commiphora myrrha. *Pharma Science Monitor*, 4(3), 171–179.

T

- Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of Pistacia terebinthus. *Food Chemistry*, 103(816–822).
- Togni, S., Maramaldi, G., Di Pierro, F., & Biondi, M. (2014). Togni et al. Clin. Cosmet. Investig. Dermatol. 7, 321
- Tundis, R., Loizzo, M. R., & Menichini, F. (2010). Natural products as alpha-amylase and alphaglucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an update. *Mini Rev Med*, 10(4), 315-31.

U

- Ustun, O., Senol, FS, Kurkcuglu, M., Orhan, IE, Kartal, M. et Baser, KHC (2012). Enquête sur la composition chimique, les activité anticholinestérasiques et antioxydantes des extraits et des huiles essentielles des espèces turques de Pinus et du pycnogenol. Cultures et produits industriels , 38 , 115-123

W

- Whitcomb et Lowe . (2007). Human pancreatic digestive enzymes. *Digestive Diseases and Sciences*, 52(1), 1-17.

Y

- Yang Y., Sun, X., Peng, C., Wei, J., & Yang, X. (2024). The genus Commiphora: An overview of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and quality control. *Pharmaceuticals*, 17(11), 1524.

Z

- Zissu.D. (2008). Test in vitro pour l'evalution de la tolérance cutanée aux substances chimiques. *Hygiène et sécurité du travail*, 219, 129-133.

Sites web

<https://theoriginalgarden.com/fr/p/semences/semences-arbres-arbustes/conifères/pinus-halepensis-pin-d-alep>

<https://www.google.com/search?q=les+Feuilles+pinus+halepensis>

<https://www.fs-usda-gov.translate.goog/wildflowers/ethnobotany/resins.shtml>

<https://www.amazon.in/Myrrh-Resin-Incense-100grms-Dhoop/dp/B06Y2D39KV>

<https://chimactiv.agroparistech.fr/en/aliments/antioxydant-dpph/principe#:~:text>

Etude phytochimique et évaluations des activités biologiques des deux espèces : *Pinus halepensis* Mill et *Commiphora myrrha* L**Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biodiversité et physiologie végétale**

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales sont reconnues comme une source essentielle de traitements thérapeutiques, principalement grâce à l'usage d'extraits végétaux dans le soin de nombreuses pathologies. Les recherches actuelles visent à confirmer scientifiquement ces pratiques traditionnelles, en s'appuyant sur des analyses phytochimiques poussées et une évaluation rigoureuse des activités biologiques des extraits. Dans ce cadre, notre étude s'est intéressée aux résines de deux plantes utilisées en médecine traditionnelle : *Pinus halepensis* L. (famille des Pinaceae) et *Commiphora myrrha* (famille des Burseraceae).

Le criblage phytochimique de ces résines a révélé la présence de divers métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, tanins, stérols, stéroïdes, terpènes et saponosides. L'analyse quantitative des polyphénols totaux a montré que *Commiphora myrrha* présente une concentration plus élevée ($829 \pm 37,47 \mu\text{g EQ/ml}$) comparativement à celle de *Pinus halepensis* ($181 \pm 17,72 \mu\text{g EQ/ml}$). De même, la teneur en flavonoïdes totaux est supérieure dans l'extrait EMRCM ($113,50 \pm 43,14 \mu\text{g EQ/ml}$) par rapport à l'extrait EMRPH ($52,00 \pm 1,41 \mu\text{g EQ/ml}$).

L'étude des propriétés biologiques – notamment les activités antioxydante, anti-inflammatoire et l'inhibition de l' α -amylase – a été menée *in vitro*. Les résultats ont montré que l'extrait de *Commiphora myrrha* possède une activité antioxydante plus marquée que celui de *Pinus halepensis*. En revanche, les activités anti-inflammatoire et inhibitrice de l' α -amylase se sont avérées faibles comparées aux témoins positifs. Enfin, un test d'irritation cutanée a été réalisé *in vivo* sur des rats mâles de souche Wistar. Une légère différence a été observée entre les deux extraits : une rougeur cutanée est apparue sur le dos des animaux après quelques jours.

Mots clés : *Pinus halepensis* Mill et *Commiphora myrrha* L, les activités biologiques, résine, screening phytochimique .

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biochimie du centre de recherche institut de Biotechnologie (CRBT) et Laboratoire de Biochimie Appliquée (Chaabat Ersas).

Jury d'évaluation :

Président du jury : KARA karima (MCA - UFM Constantine).

Rapporteur : CHIBANI Salih (MCA - UFM Constantine).

Examinateurs : BOUCHOUKH Imen (MAA - UFM Constantine).

Date de soutenance : 29/06/2025