Républiques Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère De l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR – KHENCHELA –
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DU BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

OPTION : Biochimie Appliquée

Thème

Profil phytochimique et évaluation des activités antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne et cicatrisante des extraits de *Pinus halepensis* Mill. (Khenchela)

Réalisé par

- Manaa Chaima
- Abada Douha
- BelafdelHanane

Jury de soutenance :

Président : Dr. THABET Rachid	M.C.B	Université Abbés Laghrour Khenchela
Encadrante : Dr. DOUAOUYA Lilia	M.C.A	Université Abbés Laghrour Khenchela
Examinatrice : Dr. SAIDI Malika	M.C.B	Université Abbés Laghrour Khenchela

Année universitaire 2025/20

Résumé

Face à la demande de thérapeutiques naturelles, la présente étude vise à valoriser les propriétés pharmacologiques de *Pinus halepensis* Mill., une essence forestière méditerranéenne emblématique. Le travail a porté sur la partie aérienne (aiguilles et cônes) prélevée dans la forêt domaniale d'OuledYagoub (massif des Aurès, wilaya de Khenchela, Algérie), une région peu explorée sur le plan pharmacognostique.

L'approche méthodologique intégrée a combiné un screening phytochimique qualitatif, le dosage des flavonoïdes totaux ($AlCl_3$), l'identification par chromatographie sur couche mince (CCM), l'extraction et la caractérisation de l'huile essentielle (hydrodistillation), ainsi que l'évaluation biologique *in vitro* et *in vivo*. Les activités antioxydante (DPPH), anti-inflammatoire (test anti-hémolytique sur érythrocytes humains) et antibactérienne (diffusion sur disque et CMI contre neuf souches de référence) ont été investiguées. L'effet cicatrisant a été évalué *in vivo* sur lapin (*Oryctolaguscuniculus*) par des modèles de plaies excisionnelles et de brûlures thermiques de deuxième degré, en comparant une pommade à base d'extrait de Pin d'Alep à la Biafine® et à un témoin non traité.

Les résultats montrent que la macération hydro-méthanolique offre des rendements de 6,66 % (aiguilles) et 12,28 % (cônes), avec une prédominance de tanins, flavonoïdes, terpènes et composés réducteurs. Les aiguilles se distinguent par une teneur supérieure en flavonoïdes totaux (3,8–4,0 µg EQ/mg) comparée aux cônes (2,5–2,7 µg EQ/mg). Les extraits méthanoliques présentent une activité antioxydante significative, une propriété anti-hémolytique comparable au Dicynone® et un spectre antibactérien large (Gram+ et Gram−), avec des CMI de 813 µg/mL pour l'extrait d'aiguilles contre *Yersinia enterocolitica* et l'extrait de cônes contre *Klebsiella pneumoniae*. L'évaluation *in vivo* révèle une cinétique de cicatrisation nettement plus rapide sous la pommade au Pin d'Alep qu'avec le témoin négatif et la Biafine®, caractérisée par une réduction précoce de l'inflammation, une épithélialisation accélérée et une contraction intense de la plaie.

En conclusion, *Pinus halepensis* du massif des Aurès constitue une source botanique prometteuse, dont la polyactivité antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne et cicatrisante justifie son développement en tant que phytomédicament topique innovant.

Mots-clés : *Pinus halepensis* ; activité antioxydante ; activité anti-inflammatoire ; activité antibactérienne ; cicatrisation.

Phytochemical Profile and Evaluation of Antioxidant, Anti-inflammatory, Antibacterial and Wound-Healing Activities of Extracts from of *Pinus halepensis* Mill. (Khenchela)

Abstract

In the face of the demand for natural therapeutics, the present study aims to valorize the pharmacological properties of *Pinus halepensis* Mill., an emblematic Mediterranean forest species. The work focused on the aerial part (needles and cones) collected from the Ouled Yagoub state forest (Aurès massif, wilaya of Khenchela, Algeria), a region little explored from a pharmacognostic perspective.

The integrated methodological approach combined qualitative phytochemical screening, quantification of total flavonoids ($AlCl_3$), identification by thin-layer chromatography (TLC), extraction and characterization of the essential oil (hydrodistillation), as well as *in vitro* and *in vivo* biological evaluation. Antioxidant (DPPH), anti-inflammatory (anti-hemolytic test on human erythrocytes) and antibacterial (disk diffusion and MIC against nine reference strains) activities were investigated. The wound-healing effect was evaluated *in vivo* in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) using excisional wound and second-degree thermal burn models, comparing an ointment based on Aleppo pine extract to Biafine® and an untreated control.

The results show that hydro-methanolic maceration offers yields of 6.66% (needles) and 12.28% (cones), with a predominance of tannins, flavonoids, terpenes and reducing compounds. The needles are distinguished by a higher total flavonoid content (3.8–4.0 µg EQ/mg) compared to the cones (2.5–2.7 µg EQ/mg). The methanolic extracts exhibit significant antioxidant activity, an anti-hemolytic property comparable to Dicynone®, and a broad antibacterial spectrum (Gram+ and Gram−), with MICs of 813 µg/mL for the needle extract against *Yersinia enterocolitica* and for the cone extract against *Klebsiella pneumoniae*.

The *in vivo* evaluation reveals a markedly faster healing kinetics under the Aleppo pine ointment than with the negative control and Biafine®, characterized by an early reduction of inflammation, accelerated epithelialization and intense wound contraction.

In conclusion, *Pinus halepensis* from the Aurès massif constitutes a promising botanical source, whose polyactivityantioxidant, anti-inflammatory, antibacterial and wound-healingjustifies its development as an innovative topical phytomedicine.

Keywords: *Pinus halepensis*; antioxidant activity; anti-inflammatory activity; antibacterial activity; wound healing.

الدراسة الفيتو كيميائية و التقييم البيولوجي (مضاد أكسدة ، مضاد الالتهاب ، مضاد بكتيريا و مندمل للجروح) لمستخلصات نبات الصنوبر الحلبي في ولاية خنشلة

ملخص

في ظل الطلب المتزايد على العلاجات الطبيعية، تهدف هذه الدراسة إلى تثمين الخصائص الصيدلانية لنبات الصنوبر الحلبي(*Pinus halepensis* Mill.) ، وهو نوع شجري متوسطي بارز. شمل هذا العمل الأجزاء الهوائية (الإبر والمخاريط) التي تم جمعها من الغابة الوطنية "أولاد يعقوب" (كتلة الأوراس، ولاية خنشلة، الجزائر)، وهي منطقة لا تزال غير مستكشفة كفاية من الناحية العقاقيرية وكذلك من ناحية تنوعها البيئي .

اعتمد المنهج التجريبي المتكامل على إجراء كشف فيتوكيميائي كيفي، معايرة الفلافونويدات الكلية بطريقة كلوريد الألمنيوم،تحديد المكونات بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة(CCM) ، بالإضافة إلى استخلاص وتوصيف الزيت الأساسي عن طريق التقطير المائي، يليه تقييم الفعالية البيولوجية مخبرياً وحيوياً. حيث تم تقصي الفعالية المضادة للأكسدة (DPPH)، والنشاط المضاد للالتهاب (اختبار مضاد انحلال الدم على كرات الدم الحمراء البشرية)، والفعالية المضادة للبكتيريا (طريقة الانتشار عبر الأقراص وتحديد التركيز الأدنى المبطئ [CMI] ضد تسع سلالات بكتيرية مرجعية). كما جرى تقييم تأثير الالتئام حيوياً (*in vivo*) على الأرانب (*Oryctolagus cuniculus*) عبر نموذج الجروح الاستئصالية والحروق الحرارية من الدرجة الثانية، من خلال مقارنة مرهم مصنع أساسه مستخلص صنوبر حلب بمنتج مرجعي (Biafine®)ومجموعة شاهدة غير معالجة.

أظهرت النتائج أن عملية النقع الهيدرو-ميثانولي أعطت مردود استخلاص قدره 6.66% (بالنسبة للإبر) و12.28% (بالنسبة للمخاريط)، مع وفرة ملحوظة للعفص (الـTanins، الفلافونويدات، التربينات والمركبات المرجِعة. وتميزت الإبر باحتوائها على نسبة أعلى من الفلافونويدات الكلية (3.8–4.0 ميكروغرام/EQ ملغ) مقارنة بالمخاريط (2.5–2.7 ميكروغرام /EQملغ). كما أبدت المستخلصات الميثانولية نشاطاً مضاداً للأكسدة معتبراً، وقدرة مضادة لانحلال الدم مقارِبة لدواء®Dicynone، بالإضافة إلى طيف مضاد للبكتيريا واسع المدى (موجبة وسالبة الغرام)، حيث بلغت قيمة الـ CMI حوالي 813 ميكروغرام/مل لمستخلص الإبر ضد بكتيريا *Yersinia enterocolitica*ومستخلص المخاريط ضد بكتيريا *Klebsiella pneumoniae*.

أما التقييم الحيوي، فقد كشف عن حركية التئام أسرع بكثير عند استخدام مرهم صنوبر حلب مقارنة بالمجموعة الشاهدة السلبية والدواء المرجعي(®Biafine) ، وتميز هذا الالتئام باختفاء مبكر للمظاهر الالتهابية، تسارع تشكل النسيج الطلائي (الظهاري)، وانكماش حثيث ومكثف لمساحة الجرح.

ختاماً، يمثل نبات الصنوبر الحلبي لمنطقة الأوراس مصدراً نباتياً واعداً، تبرر فعالياته المتعددة (المضادة للأكسدة، مضادة الالتهاب، مضادة الميكروبات والمندملة للجروح) إمكانية تطويره وتوظيفه كدواء نباتي موضعي ومبتكر.

الكلمات المفتاحية: الصنوبر الحلبي(*Pinus halepensis*) ؛ النشاط المضاد للأكسدة؛ النشاط المضاد للالتهاب؛ الفعالية المضادة للبكتيريا؛ التئام الجروح.