

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie
Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention Du diplôme de Master en
Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Spécialité : Pharmacotoxicologie
Filière : Sciences Biologiques
Thème

BIO-ESSAI D'UNE FORMULATION SIROP
ANTITUSSIF A BASE DE PLANTE SUR LE
PARENCHYME
PULMONAIRE DU RAT WISTAR

Présenter par

Melle ASMA BELARBI

Devant le jury :

Mme BOKRETA S.	MCB	USDB1	Présidente
Mme SETTAR A.	MCB	USDB1	Examinatrice
Mme KHALDOUN H.	Professeur	USDB1	Promotrice
Mme BOUSSAID K.	MRA	CRAPAST Djelfa	Co-Promotrice
Mme MENACER A.	MAB	USDB1	Co-Promotrice

✿ Année universitaire : 2024 - 2025 ✿



Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience de mener à bien ce travail

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde et sincère gratitude à mon encadreur, Mme Khaldoun Hassina, pour son accompagnement attentif, sa disponibilité constante, sa patience et ses précieux conseils. Sa bienveillance, son écoute et son soutien ont été d'un apport essentiel tout au long de ce travail, et travailler sous sa direction a été une expérience aussi enrichissante sur le plan scientifique qu'humain.

J'adresse ensuite mes sincères remerciements à Mme Menacer Amel, dont le soutien moral, la bienveillance et les encouragements constants m'ont permis de persévérer et de ne jamais abandonner, même dans les moments les plus difficiles.

Je remercie également ma co-promotrice, Mme Boussaid Khadidja, pour son accompagnement et ses remarques pertinentes.

Mes remerciements vont à Mme Boukreta Samira, présidente du jury, et à Mme Settari Amina, membre du jury, pour l'honneur qu'elles m'ont fait et pour l'intérêt porté à ce travail.

Je remercie le laboratoire de contrôle de qualité P.L.I d'Alger, le service d'anatomopathologie du CHU BEO d'Alger, ainsi que le laboratoire du Dr Ouled Slimane Karim, pour leur aide et leur disponibilité.

Enfin, je remercie toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.



Dédicace

En premier lieu, je remercie Dieu, le Tout-Puissant, de m'avoir donné la force, la patience et la chance d'arriver jusqu'à ce jour. Sans Sa guidance, rien de tout cela n'aurait été possible.

Je dédie ce modeste travail à la mémoire de ma chère **Yema Djamila**.

Que Dieu l'accueille dans Son vaste paradis.

Toi qui as pris soin de moi avec tant d'amour, de douceur et de générosité. Ton absence me pèse, mais ton amour m'accompagne chaque jour.

À mon père **Hocine**, pour ses encouragements constants et pour m'avoir toujours poussée à aller de l'avant.

À mes chères tantes **Camy, Mouna, Nadia et Lila**, et à mon unique et cher oncle **Zahir**, merci pour votre soutien, votre tendresse et votre amour si précieux.

À mes sœurs **Zineb, Zahra, Salma et Assil**,
et à mes frères **Yacine, Younes**, et à mon petit chouchou **Abd El Mounaim**.
Vous êtes ma force, mon refuge et mon bonheur au quotidien.

À mon âme sœur **Yasmina**, merci d'être toujours là dans les hauts comme dans les bas. Ta présence dans ma vie est un cadeau inestimable.

À toute la famille **Belarbi et Yaici**.

À mes précieuses **PPG, Amira et Ferial**, merci pour votre soutien indéfectible pendant les périodes les plus difficiles, ainsi que pour les beaux souvenirs et les merveilleux moments partagés ensemble.

À **Lydia et Katia**, pour leur générosité, leur bienveillance et leur présence réconfortante tout au long de ce parcours.

Sans oublier ma chère **Menna Allah**, avec toute ma gratitude.

À mes **bibies de lycée, Bouchra et Samira**.

À tous ceux qui savent donner sans rien attendre en retour, qui aident sans calcul et sans égoïsme.

**To the one who is my heart waiting for.
And for my future little ones.**

Last but not least, I wanna thank me.



Résumé

Cette étude vise à évaluer la sécurité et les effets biologiques d'un sirop antitussif formulé à base de résine de *Pinus halepensis*, à travers une double approche : **in vitro**, par l'analyse des paramètres sensoriels et physicochimiques, et **in vivo**, à l'aide d'un modèle animal. La résine a été intégrée dans une formulation galénique puis administrée oralement à des rats Wistar mâles dans le cadre d'un protocole de toxicité subaiguë. Les animaux, dont le poids variait entre 200 et 220 g, ont été répartis en deux groupes et traités quotidiennement pendant 15 jours à raison de 0,5 mL/jour. Aucun signe de toxicité ni mortalité n'a été observé au cours de la période d'expérimentation. Des analyses biochimiques ont été effectuées pour évaluer la fonction hépatique, en mesurant la glycémie, les transaminases (ASAT, ALAT) et la GGT. Les résultats ont montré une diminution modérée de la glycémie, suggérant un potentiel effet hypoglycémiant, ainsi qu'une élévation modérée des transaminases et de la GGT, indiquant une réponse métabolique maîtrisée. L'analyse histopathologique des poumons a révélé une architecture tissulaire globalement conservée, malgré une légère congestion vasculaire et une infiltration lymphoplasmocytaire. Ces résultats suggèrent que le sirop à base de résine de *Pinus halepensis* est bien toléré, même après une administration répétée à forte dose sur 15 jours, et confirment son potentiel en tant qu'agent antitussif naturel dans le cadre d'un usage traditionnel.

Mot clés : Résine de pin d'Alep, Sirop antitussif, étude *in vitro*, étude *in vivo*, poumon Rat

Abstract

This study aims to evaluate the safety and biological effects of an antitussive syrup formulated with *Pinus halepensis* resin through a dual approach: *in vitro*, by assessing sensory and physicochemical parameters, and *in vivo*, using an animal model. The resin was incorporated into a galenic formulation and administered orally to male Wistar rats as part of a subacute toxicity protocol. The animals, weighing between 200 and 220 g, were divided into two groups and treated daily with a dose of 0.5 mL for 15 consecutive days. No signs of toxicity or mortality were observed during the experimental period. Biochemical analyses were performed to evaluate liver function, including blood glucose, transaminases (AST, ALT), and gamma-glutamyl transferase (GGT). The results showed a moderate decrease in blood glucose levels, suggesting a potential hypoglycemic effect, as well as a mild increase in transaminase and GGT levels, indicating a controlled metabolic response. Histopathological examination of lung tissue revealed a generally preserved architecture, despite slight vascular congestion and lymphoplasmacytic infiltration. These findings suggest that the *Pinus halepensis* resin-based syrup is well tolerated, even at high doses administered over 15 days, and support its traditional use as a natural antitussive agent.

Keywords: *Pinus halepensis* resin, antitussive syrup, *in vitro* study, *in vivo* study, rat lung

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم سلامة وفعالية شراب مضاد للسعال مُركَّب من صمغ *Pinus halepensis* (صنوبر حلب)، وذلك من خلال مقارنة مزدوجة: **اختبارات مخبرية (in vitro)** لتقييم الخصائص الحسية والفيزيوكيميائية، و**اختبارات حية (in vivo)** باستخدام نموذج حيواني. تم دمج الصمغ في تركيب صيدلاني، وأُعطِيَ عن طريق الفم لذكور جرذان ويستار ضمن بروتوكول لتقييم السمية تحت الحادة. تراوح وزن الحيوانات بين 200 و220 غرامًا، ووزعت إلى مجموعتين تم علاجها يوميًا بجرعة مقدارها 0.5 مل لمدة 15 يومًا متتاليًا. لم تُسجَل أي علامات سُمية أو حالات وفاة خلال فترة التجربة.

تم إجراء تحاليل بيوكيميائية لتقييم وظائف الكبد، شملت قياس نسبة السكر في الدم، وتركيز أنزيمات الترانساميناز (ASAT و ALAT وإنزيم GGT. أظهرت النتائج انخفاضًا متوسطًا في نسبة السكر في الدم، مما يشير إلى تأثير خافض لسكر الدم، بالإضافة إلى ارتفاع طفيف في أنزيمات الكبد، مما يدل على استجابة أيضية محكومة. كما كشفت الدراسة النسجية لنسيج الرئة عن سلامة البنية العامة، رغم وجود احتقان وعائي خفيف وتسلسل لمفاوي بلازماوي محدود.

تشير هذه النتائج إلى أن شراب *Pinus halepensis* قائم على الصمغ يتمتع بسلامة جيدة حتى عند إعطائه بجرعات مرتفعة ولفترة متواصلة تمتد إلى 15 يومًا، مما يدعم استخدامه التقليدي كمضاد طبيعي للسعال.

الكلمات المفتاحية : صمغ صنوبر حلب، شراب مضاد للسعال، دراسة مخبرية، دراسة حية، رئة الجرذ

Listes des figures

Figure	Titre	Page
Partie bibliographie		
Figure 1	Arbre du pin d'Alep (<i>Pinus halepensis</i> Mill)	3
Figure 2	l'extraction de la résine de <i>Pinus halepensis</i> Mill	5
Figure 3	Anatomie et arborisation des poumons de l'arbre bronchique	7
Figure 4	Coupe d'une alvéole pulmonaire et détail de la membrane alvéolocapillaire	9
Figure 5	Structure histologique du poumon	10
Matériels et méthodes		
Figure 6	Automate de circulation	17
Résultats et discussions		
Figure 7	Variation du poids corporel moyen (g) des rats témoin et traité	14
Figure 8	Variation du poids moyen des poumons (g), des rats témoins et traités	15
Figure 9	Variation du taux plasmatique de glucose chez les rats témoins et traités	16
Figure 10	Variation du taux plasmatique ALAT chez les rats témoins et traités	17
Figure 11	Variation du taux plasmatique ALAT chez les rats témoins et traités	18
Figure 12	Variation du taux plasmatique gamma GT chez les rats témoins et traités	19

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Données taxonomiques du <i>Pinus helepensis</i> Mill	4

Listes des abréviations

Abréviations	Mot
ASAT / GOT	Aspartate Aminotransférase / Glutamate Oxaloacétate Transaminase
AV	Parenchyme Alvéolaire
Br	Bronchiole
GC-MS	Chromatographie en phase gazeuse- Spectrométrie de masse
γ GT	Gamma-Glutamyl Transférase
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
HE	Huile essentielle
HE	Hématoxyline-Eosine
MDH	Malate Déshydrogénase
NAD ⁺	Nicotinamide Adénine Dinucléotide oxydé
NADH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit
OMS	Organisation mondiale de la santé
pH	Potentiel Hydrogène
P	Pneumocyte
SA	Sacs Alvéolaires
TGP	Transaminase Glutamique Pyruvique
UV	Ultraviolets

Liste des Planches

Planche	Titre	Page
Planche 1	Histologie de parenchyme pulmonaire chez le lot témoin (coloration HE, grossissement x 10 (A) et x 40 (B))	22
Planche 2	Histologie de parenchyme pulmonaire chez le lot témoin (Trichrome de Masson, grossissement x 10 (A) et x 40 (B))	23
Planche 3	Aspect histologique du poumon chez les rats traités par le sirop antitussif (coloration HE, grossissement x 10 (A) et x 40 (B))	25
Planche 4	Aspect histologique du poumon chez les rats traités par le sirop antitussif (coloration trichrome de Masson, grossissement x 10 (A) et x 40 (B))	25

SOMMAIRE

Introduction.....	1
Chapitre 1 : Rappels bibliographiques	
1. Pin d'Alep (<i>Pinus halepensis</i> Mill)	3
1.1. Description Botanique	3
1.2. La résine de <i>Pinus halepensis</i>	4
1.3. Activités pharmacologiques de la résine de <i>Pinus halepensis</i>	4
1.3.1. Activité antimicrobienne	4
1.3.2. Activité anti-inflammatoire	4
1.3.3. Activité antioxydante	5
1.3.4. Activité expectorante et antitussive	5
1.3.5. Activité cicatrisante et antiseptique	5
1.4. Utilisations thérapeutiques traditionnelles de la résine de pin.....	5
1.5. Forme galénique « sirop antitussif à base de résine végétale »	6
2. Poumon.....	6
2.1. Anatomie.....	6
2.2. Physiologie respiratoire	8
2.2.1. Ventilation pulmonaire	8
2.2.2. Echanges gazeux	8
2.2.3. Volume pulmonaires et respiratoires	9
2.3. Histologie.....	9
2.4. Structure cellulaire.....	10
2.5. Bronchiole respiratoire	11

2.6. Canaux alvéolaire	11
2.7. Alvéoles	11

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

1. Matériels	13
1.1. Matériels biologique... ..	13
1.1.1. Matériel végétale	13
1.1.2. Animaux et conditions d'élevage.....	13
1.2. Matériel non biologique.....	13
2. Méthodes.....	13
2.1. Etude in vitro	13
2.1.1. Caractérisation sensorielles	13
2.1.2. Caractéristiques physico-chimiques... ..	13
2.1.2.1. Densité	14
2.1.2.2. Volume	14
2.1.2.3. pH	14
2.1.2.4. Conductivité	14
2.1.2.5. Solubilité	14
2.2. Etude pharmacologique « in vivo »	15
2.2.1. Condition d'hébergement et d'acclimations	15
2.2.2. Protocole expérimental... ..	15
2.2.3. Prélèvements sanguin et d'organes	15
2.2.4. Analyses des paramètres biochimiques.....	15
2.2.4.1. Aspartate aminotransférase (GOT/ ASAT)	15
2.2.4.2. Glycémie	16

2.3. Etude histologique du poumons.....	16
2.3.1. Etude Macroscopique.....	16
2.3.2. Etude Microscopique... ..	16
2.3.2.1. Circulation.....	17
2.3.2.2. Inclusion et microtomie	17
2.3.2.3. Colorations histologique... ..	17
2.3.2.4. Observation microscopique.....	18
2.4. Etude statistique	18

Chapitre 3 : Résultats et discussions

1. Résultats.....	22
1.1. Résultats de l'étude <i>in vitro</i>	22
1.1.1. Résultats de l'étude sensorielle	22
1.1.2. Résultats de l'étude physico-chimiques.....	22
1.2. Résultat de l'étude pharmaco toxicologique <i>in vivo</i>	23
1.2.1. Effet du traitement sur l'évolution pondérale.....	23
1.2.2. Effet du traitement sur le poids des poumons.....	24
1.2.3. Effet du traitement sur les paramètres biochimiques	25
1.2.4. Glycémie à jeun (g/L).....	26
1.2.5. Activité Enzymatique de l'Aspartate Amino-Transférase (ASAT).....	27
1.2.6. Activité enzymatique de l'Alanine Amino-Transférase (ALAT).....	28
1.2.7. Activité enzymatique du gamma GT (γ GT).....	29
1.3. Résultats histologiques	31
1.3.1. Histologie du poumon chez les rats témoins.....	32
1.3.2. Histologie du poumon chez les rats traités.....	34

2. Discussion.....	37
Conclusion.....	40
Perspectives	
Références bibliographiques	
Annexes	

INTRODUCTION

Introduction

Pinus halepensis, communément appelé pin d'Alep, constitue l'une des principales essences forestières du bassin méditerranéen, particulièrement bien adaptée aux conditions climatiques arides et semi-arides (Monjauze et Médail, 2004). Outre son intérêt écologique, cette espèce occupe une place importante dans la médecine traditionnelle.

Sa résine, utilisée depuis des siècles, est reconnue pour ses nombreuses vertus thérapeutiques. Riche en composés bioactifs tels que les terpènes, les flavonoïdes et les acides phénoliques, elle présente un large spectre d'activités pharmacologiques bien documentées, notamment des effets antimicrobiens (El-Azzouny et al., 2015), anti-inflammatoires (Benkhaled et al., 2014), antioxydants (Ghaffari et al., 2019), ainsi que des propriétés expectorantes, antitussives, cicatrisantes et antiseptiques (Cueilleurs, 2025).

En Algérie, la résine de pin d'Alep est largement utilisée dans le traitement des affections respiratoires telles que la toux, les bronchites et les congestions pulmonaires. Elle est également employée comme antiseptique, antifongique et tonique surrénalien, en particulier dans les zones rurales où la phytothérapie demeure fortement enracinée (Benderradji et al., 2015). Ces usages empiriques ont suscité un intérêt croissant pour son intégration dans des formulations modernes, plus sûres et standardisées.

Le poumon, principal organe de l'appareil respiratoire, assure les échanges gazeux essentiels à la vie. Il constitue également une voie d'entrée majeure pour de nombreux agents pathogènes et substances inhalées, ce qui le rend particulièrement vulnérable aux agressions environnementales et chimiques (Tortora, 2018). Chez le rat, comme chez l'homme, les modifications structurelles ou fonctionnelles du tissu pulmonaire peuvent être détectées par l'analyse histopathologique et des paramètres tels que le poids pulmonaire, qui peut refléter un œdème, une congestion ou une inflammation. L'évaluation de la tolérance pulmonaire d'un traitement est donc essentielle, notamment dans le cas d'un produit à visée antitussive, censé agir directement ou indirectement sur l'arbre respiratoire.

Dans le cadre du présent travail, une formulation de sirop antitussif à base de résine de pin d'Alep a été développée. Ce type de formulation est traditionnellement employé dans la pharmacopée populaire pour ses effets antiseptiques, expectorants et anti-inflammatoires (Shuaib et al., 2013 ; Miara et al., 2019). L'administration sous forme liquide présente l'avantage de faciliter la prise orale, d'éviter les irritations mécaniques, et de permettre une

meilleure diffusion du principe actif dans les voies respiratoires supérieures, où son action thérapeutique est ciblée.

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'innocuité globale de ce sirop, à travers une série de tests in vitro (analyse physicochimique et sensorielle) et in vivo chez le rat mâle, en se concentrant sur l'évolution du poids corporel, du poids des poumons, ainsi que sur des marqueurs biochimiques de la fonction hépatique (glycémie, ASAT, ALAT, GGT) et l'étude histologique du tissu pulmonaire

Rappels

Bibliographiques

Chapitre 1 Rappels Bibliographiques

1. Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill)

Le pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) est un conifère aromatique et médicinal, très présent dans les régions méditerranéennes sèches, notamment en Algérie. Il appartient à la famille des Pinaceae (Quézel et Médail, 2003). Utilisé depuis longtemps dans la médecine traditionnelle, il est particulièrement valorisé pour sa résine, riche en composés volatils bioactifs.

Parmi ses composants majeurs figurent l' α -pinène, le β -pinène et le limonène, qui lui confèrent des propriétés antiseptiques, anti-inflammatoires, antitussives et expectorantes (Dob et al., 2005). Le pin d'Alep est couramment utilisé pour soulager les affections respiratoires comme la toux, la bronchite ou les maux de gorge. Il est également reconnu pour ses effets antioxydants et antifongiques (Zerroug et al., 2021), ce qui en fait une plante d'intérêt en phytothérapie.



Figure 1 : arbre du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill) (Seladji (2014))

1.1.Description Botanique

Le nom « *Pinus* » dérive du latin et signifie « pin », tandis que « *halepensis* » fait référence à la ville d'Alep, en Syrie, où cette espèce a été décrite pour la première fois (Quézel et Médail, 2003).

Pinus halepensis, communément appelé pin d'Alep, constitue l'un des principaux éléments du couvert forestier naturel les mieux adaptés aux conditions climatiques sèches (Monjauze et Médail, 2004). Il s'agit d'un arbre résineux de taille moyenne à grande, atteignant généralement 10 à 20 mètres de hauteur. Son port est irrégulier, parfois dissymétrique. L'écorce est lisse et grise chez les jeunes arbres, devenant rougeâtre, épaisse et fissurée avec l'âge. Les rameaux sont souples, de couleur vert olive à brun clair.

Ses feuilles sont des aiguilles persistantes, fines et souples, groupées par deux, mesurant entre 6 et 12 cm de longueur. Elles présentent une teinte vert clair à glauque. Les cônes, ovoïdes à coniques, mesurent entre 5 et 12 cm, brun clair à maturité, et peuvent persister plusieurs années sur l'arbre avant de s'ouvrir pour libérer les graines. La pollinisation se déroule généralement au printemps, entre mars et mai, avec une production abondante de pollen anémophile (Barbero et al., 1990).

Tableau 1 : Données taxonomique du *Pinus halepensis* Mill (Barbero et al., 1990).

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plante
Embranchement	Spermaphytes(Phanérogames)
Sous-embranchement	Gymnospermes
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinale
Famille	Pinacea
Sous-famille	Pinoidée
Genre	<i>Pinus</i>
Sous-genre	<i>Pinus</i>
Espèce	<i>Pinus halepensis</i> Mill

1.2.La résine de *Pinus halepensis*

La résine de pin constitue un mélange complexe de composés terpéniques, comprenant une fraction volatile, la térébenthine, et une fraction non volatile, la colophane (ou rosin). Les résines naturelles peuvent être classées en deux grandes catégories : d'une part, les dérivés d'esters de colophane, et d'autre part, les polymères obtenus par synthèse pétrochimique. Traditionnellement, la colophane était extraite à partir de résine de pin et employée notamment dans la fabrication des encres d'imprimerie, sous forme dimérisée ou polymérisée (Meullemiestre, 2014).



Figure 2 : l'extraction de la résine de *Pinus halepensis* Mill (Fancès 2019)

La production de résine se déroule principalement en hiver, période durant laquelle un abaissement de la température augmente sa viscosité et réduit son écoulement (Lorio, 1986 ; Blanche et al., 1992). Au cours de la journée, le flux de résine atteint son maximum à l'aube pour ensuite décroître dans l'après-midi, en lien avec la diminution de la teneur en eau du tronc (Pallardy, 2008). La quantité annuelle de gemme produite par un arbre est estimée à environ 3 kg (Bouazza, 2013).

La résine de pin d'Alep (*Pinus halepensis*) se caractérise par une composition chimique riche et complexe, dominée principalement par des acides résiniques et des composés terpéniques (Joye et Lawrence, 1967 ; Ravelonirina, 2022). Les monoterpènes, notamment l' α -pinène et le β -pinène, constituent la fraction volatile de la résine et sont responsables de plusieurs activités biologiques, telles que les effets antimicrobiens, anti-inflammatoires et expectorants, comme illustré dans la Figure 2 (Zerroug et al., 2021).

Par ailleurs, la résine contient également des composés phénoliques, incluant des polyphénols et des flavonoïdes, conférant une activité antioxydante notable (Ravelonirina, 2022). Des analyses phytochimiques basées sur des techniques chromatographiques ont également mis en évidence la présence d'acides aromatiques, de sucres et d'acides gras, dont les proportions peuvent varier selon les conditions environnementales et la méthode d'extraction (Zerroug et al., 2021).

1.3. Activités pharmacologiques de la résine de *Pinus halepensis*

La résine de pin d'Alep est largement reconnue pour ses propriétés thérapeutiques, notamment en médecine traditionnelle et en phytothérapie. Sa richesse en composés bioactifs, notamment les terpènes, les flavonoïdes et les acides phénoliques, lui confère un large spectre d'activités pharmacologiques.

1.3.1. Activité antimicrobienne

La résine possède une action antibactérienne et antifongique bien documentée. Les constituants tels que l' α -pinène et le β -pinène ont montré une efficacité contre diverses souches pathogènes, notamment *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Candida albicans*. Ces effets sont attribués à leur capacité à perturber les membranes cellulaires des microorganismes (El-Azzouny et al., 2015)..

1.3.2. Activité anti-inflammatoire

Grâce à la présence de composés terpéniques, la résine exerce une action anti-inflammatoire en inhibant la production de médiateurs pro-inflammatoires tels que les prostaglandines. Elle est traditionnellement utilisée pour soulager les douleurs articulaires, les inflammations cutanées et les affections respiratoires (Benkhalel et al., 2014).

1.3.3. Activité antioxydante

La résine contient des flavonoïdes et acides phénoliques aux propriétés antioxydantes, capables de neutraliser les radicaux libres. Cette activité contribue à la protection cellulaire contre le stress oxydatif, un facteur impliqué dans de nombreuses pathologies chroniques (Ghaffari et al., 2019).

1.3.4. Activité expectorante et antitussive

Traditionnellement utilisée pour soulager les affections respiratoires, la résine de pin est connue pour ses effets expectorants et antitussifs. Elle favorise l'élimination du mucus bronchique et calme l'irritation des voies respiratoires. C'est cette propriété qui justifie son usage dans la formulation de sirops antitussifs.

1.3.5. Activité cicatrisante et antiseptique

Sous forme de baume ou d'onguent, la résine est utilisée en usage externe pour favoriser la cicatrisation des plaies, brûlures et affections cutanées, grâce à ses propriétés antiseptiques et régénératrices (Cueilleurs, 2025).

1.4. Utilisations thérapeutiques traditionnelles de la résine de pin

Les différentes parties de l'arbre « *Pinus halepensis* », notamment les pommes, les feuilles, l'écorce et surtout la résine, sont exploitées pour leurs vertus médicinales. Traditionnellement, la résine est utilisée comme remède contre le diabète, les ulcères gastro-

intestinaux, les blessures cutanées, et divers désordres internes. Elle est réputée pour ses effets diurétiques, émollients, stimulants, antiseptiques, anthelminthiques, insecticides, désinfectants, ainsi que pour ses propriétés antibactériennes, antifongiques, cicatrisantes, spasmolytiques et même cytotoxiques (Shuaib et al., 2013).

En Algérie, elle est principalement employée dans le traitement des affections respiratoires et urinaires, mais aussi contre la parasitose délirante, en tant qu'antiseptique, antifongique et stimulant des glandes surrénales (Benderradji et al., 2015).

Dans le monde, au Maroc, les populations locales l'utilisent en poudre pour soigner les troubles digestifs, respiratoires, dermatologiques, circulatoires et génitaux (Miara et al., 2019). En Espagne, comme dans d'autres pays du bassin méditerranéen, la résine, ainsi que les feuilles, le pollen et la gomme de pin, sont traditionnellement employées comme expectorants et dans le traitement des abcès. En Turquie, la résine est mélangée avec du miel pour soulager les affections de l'estomac et des intestins, ou bien mâchée pour l'hygiène bucco-dentaire, notamment pour rafraîchir l'haleine (Satil et al., 2011).

1.5. Forme galénique « sirop antitussif à base de résine végétale »

La forme sirop est l'une des formes galéniques les plus utilisées pour le traitement des affections respiratoires, notamment chez les enfants et les sujets sensibles, en raison de sa facilité d'administration, de son goût généralement sucré et de sa capacité à véhiculer des principes actifs naturels hydrosolubles (Boudemagh et al., 2021 ; Bouriche, 2019). Elle permet une action adoucissante directe sur les muqueuses irritées tout en assurant une libération rapide du principe actif.

Dans ce travail, un sirop antitussif à base de résine de pin d'Alep (*Pinus halepensis*) a été utilisé. Ce type de formulation est traditionnellement employé dans la pharmacopée populaire pour ses vertus antiseptiques, expectorantes, cicatrisantes et anti-inflammatoires (Shuaib et al., 2013 ; Miara et al., 2019). L'utilisation de la gomme de pin sous forme liquide facilite son administration orale, évite l'irritation mécanique, et permet une meilleure dispersion dans les voies respiratoires supérieures, là où son effet thérapeutique est recherché.

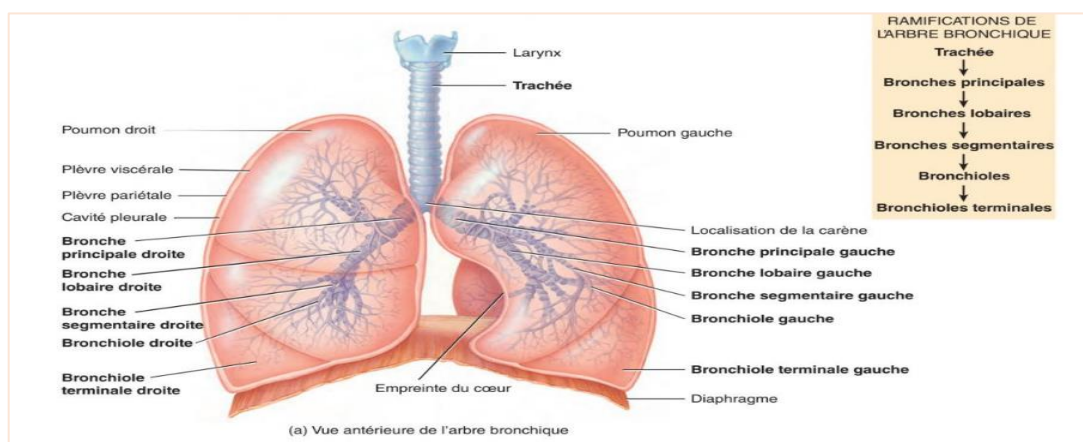
Par ailleurs, les excipients généralement présents dans ce type de formulation – comme le sucre, l'acide citrique ou les agents conservateurs, contribuent à améliorer la stabilité, la conservation et l'acceptabilité du sirop, tout en ayant parfois un léger effet adoucissant complémentaire (Hoppenot, 2024).

2. Poumon

2.1. Anatomie

Les poumons sont situés latéralement dans la cavité thoracique, séparés par le médiastin. Ils reposent sur le diaphragme qui délimite la cavité abdominale supérieure. Les poumons sont des structures rose-grisâtres, très résistantes et élastiques. Ils sont constitués de deux lobes à gauche et trois à droite, séparés par des scissures (**Figure 3**) (**Wissler, 2012**).

La partie du poumon qui repose sur le diaphragme est désignée sous le terme de base pulmonaire et la partie supérieure sous le terme de sommet pulmonaire (apex). Au niveau de la face pulmonaire orientée vers le cœur se trouve le hile pulmonaire. À cet endroit pénètrent dans les poumons les bronches souches, les artères et les nerfs ainsi que les veines et les vaisseaux lymphatiques (**Menche, 2014**)



Arborescence bronchique		
	Dénomination des branches	Génération #
Zone de conduction	Trachée	0
	Bronche principale	1
	Bronches lobulaires et segmentaires	2–10
	Bronchioles et bronchioles terminales	11–16
Zone respiratoire	Bronchioles respiratoires	17–19
	Canaux alvéolaires	20–22
	Sacs alvéolaires	23

Figure 3 : Anatomie et arborisation des poumons et de l'arbre bronchique (**Flavien and Alexis, 2021 ; Tortora, 2017**).

Les lobes pulmonaires sont de nouveau divisés en segments pulmonaires de plus petite taille (dix à droite et neuf à gauche). À la différence des scissures, les limites entre les segments ne sont pas visibles de l'extérieur. Des unités broncho-artérielles leur correspondent ; c'est-à-dire que chaque segment est alimenté par une bronche segmentaire et une branche de l'artère Pulmonaire.

Par rapport à la vascularisation pulmonaire, les poumons d'une part sont traversés par des vaisseaux de la circulation pulmonaire, ces vaisseaux servent exclusivement aux échanges gazeux. Par contre, la vascularisation propre des poumons est assurée par des branches de la circulation générale et notamment par les artères bronchiques provenant de l'aorte ([Menche, 2014](#)).

Du fait de la position gauche du cœur, le poumon gauche est plus petit que le droit. Le poumon gauche est séparé par une scissure facilement reconnaissable en lobe supérieur et lobe inférieur. Alors que le poumon droit est divisé en trois lobes par deux scissures, le lobe supérieur, le lobe moyen et le lobe inférieur.

2.2. Physiologie Respiratoire

Ventilation pulmonaire : La ventilation correspond au déplacement de l'air entre l'extérieur et les alvéoles, généré par des variations de pression dues aux changements de volumes pulmonaires. Elle dépend des propriétés mécaniques des poumons (tension superficielle, élasticité, compliance) ([Aung et al., 2019](#)).

3. **Inspiration** : Processus actif impliquant le diaphragme et les muscles intercostaux externes, créant une pression alvéolaire inférieure à la pression atmosphérique, permettant l'entrée d'air ([Menche, 2014](#)).
4. **Expiration** : Majoritairement passive, elle résulte du relâchement musculaire et de l'élasticité pulmonaire. Elle peut devenir active via les intercostaux internes, favorisant la sortie d'air ([Menche, 2014](#)).

4.1.Échanges Gazeux

L'échange gazeux, qui succède à la ventilation, a lieu dans les alvéoles pulmonaires par diffusion à travers la membrane respiratoire. Ce processus dépend des différences de pressions partielles des gaz, chaque gaz diffusant de la zone à pression plus élevée vers celle à pression plus basse. Ainsi, l'oxygène diffuse des alvéoles vers le sang, tandis que le dioxyde de carbone migre en sens inverse, du sang vers les alvéoles (**Figure 4**). Le sang veineux systémique, plus

riche en CO₂ et moins oxygéné que le sang artériel, subit une diffusion nette d'O₂ vers les capillaires pulmonaires et de CO₂ vers les alvéoles, assurant ainsi les échanges nécessaires à l'hématose (Menche, 2014 ; Aung et al., 2019).

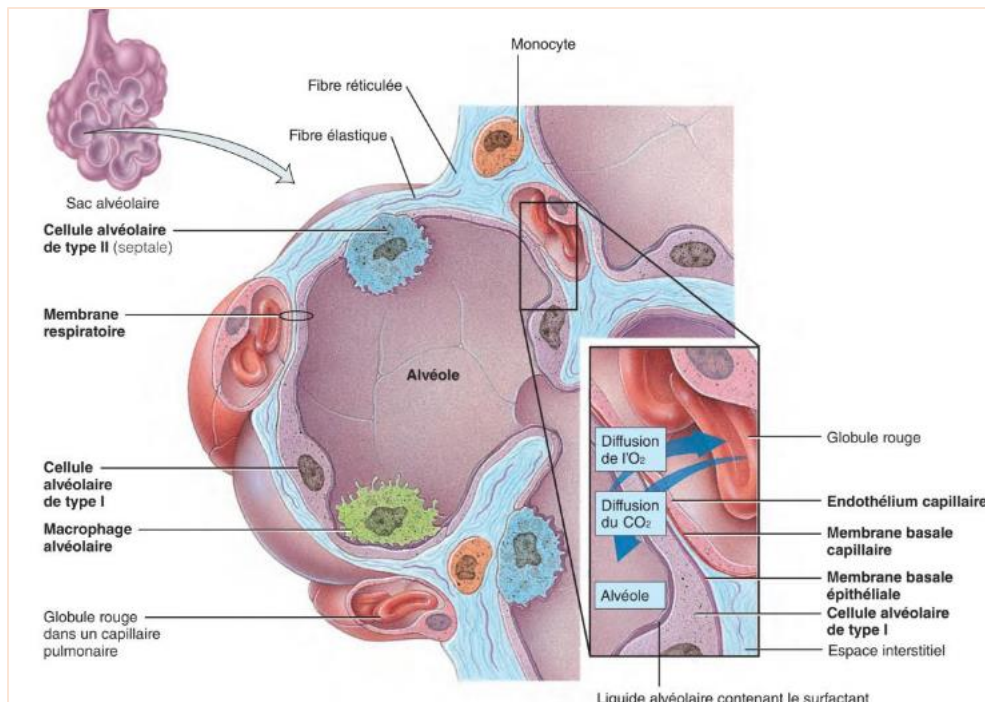


Figure 4 : Coupe d'une alvéole pulmonaire et détail de la membrane alvéolocapillaire (Tortora and Derrickson, 2017).

4.2.VOLUMES PULMONAIRES ET RESPIRATOIRES

Lors d'un cycle respiratoire, environ 500 mL d'air (volume courant) pénètrent dans les voies respiratoires, avec une ventilation minute estimée à 7,5 L répartie sur 14 à 16 cycles chez l'adulte sain. Environ deux tiers de ce volume atteignent les alvéoles, tandis que le reste reste piégé dans l'espace mort anatomique (larynx, trachée, bronches), sans participer aux échanges gazeux. En respiration forcée, des volumes additionnels (réserves inspiratoire et expiratoire) peuvent être mobilisés, formant des capacités pulmonaires, dont la capacité vitale représentant le volume maximal mobilisable (Menche, 2014).

4.3.HISTOLOGIE

L'architecture du poumon montre une zone conductrice qui commence par la trachée et se termine aux bronchioles terminales. Elle inclut les cavités nasales, le nasopharynx, le larynx et la trachée, puis, à l'intérieur du poumon, les bronches principales, lobaires (secondaires) et segmentaires (tertiaires). Celles-ci sont progressivement dépourvues de cartilage à mesure qu'elles se ramifient en bronchioles (Menche, 2014 ; Khan & Lynch, 2018). Les bronchioles

terminales marquent la fin de la portion conductrice et débouchent sur les bronchioles respiratoires, début de la zone respiratoire (Khan & Lynch, 2018).

4.3.1. Structure cellulaire

La muqueuse de la zone conductrice est tapissée majoritairement d'un épithélium pseudostratifié cylindrique cilié (Figure 5, composé de :

- **Cellules ciliées** : assurent le transport mucociliaire (défense pulmonaire) ;
- **Cellules caliciformes** : sécrètent le mucus et diminuent progressivement dans les voies distales ;
- **Cellules club** : remplacent les caliciformes dans les bronchioles respiratoires ;
- **Cellules basales** : cellules souches de l'épithélium ;
- **Cellules en brosse** : peu nombreuses, pourraient avoir un rôle de chimiorécepteurs (Khan & Lynch, 2018) ;
- **Cellules neuroendocrines (Kulchitsky)** : sécrètent des catécholamines et des polypeptides tels que la sérotonine et la calcitonine (Khan & Lynch, 2018).

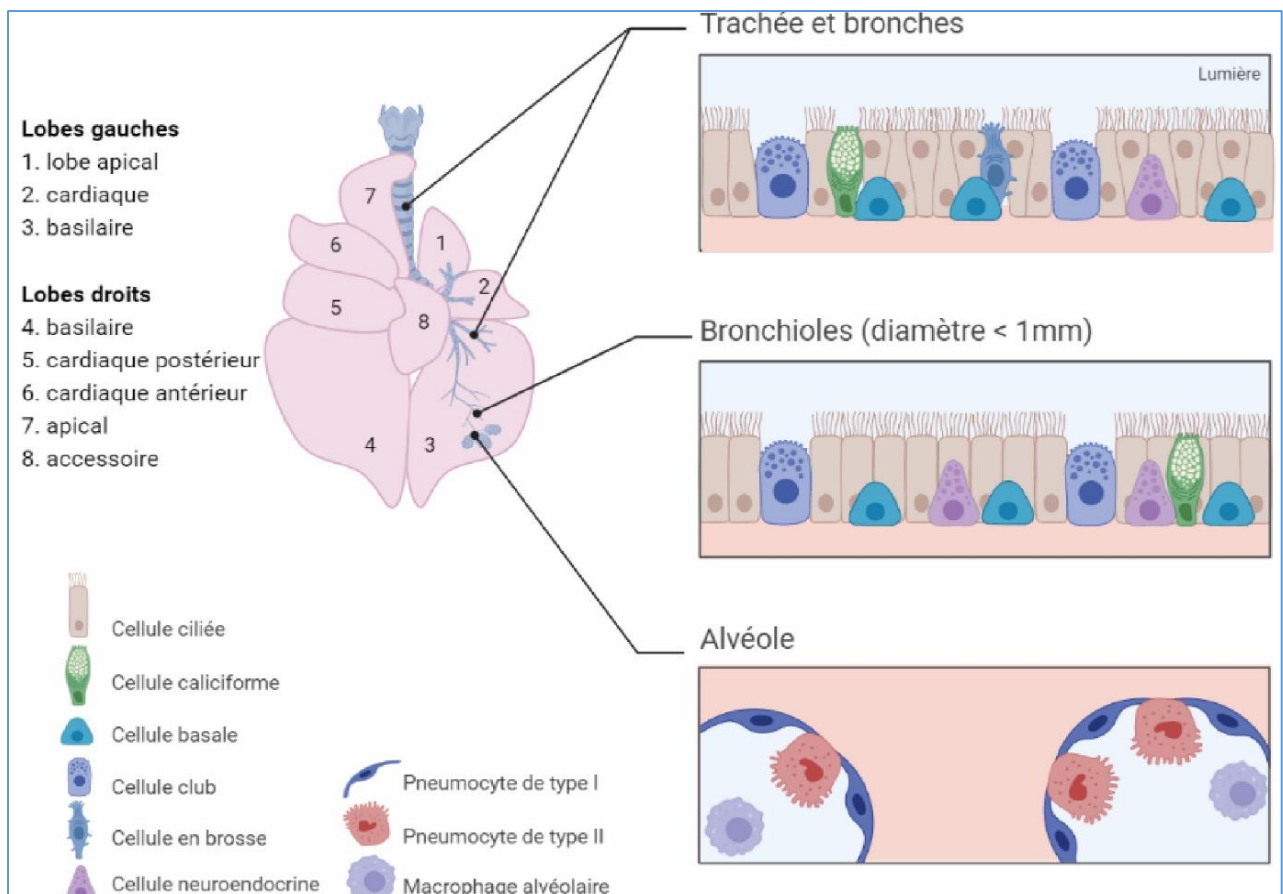


Figure 5: Structure histologique du poumon (Khan & Lynch, 2018).

4.3.2. BRONCHIOLE RESPIRATOIRE

Zone de transition entre la conduction et la respiration, où commencent les échanges gazeux. Elle ressemble à la bronchiole terminale mais ses parois sont interrompues par de nombreuses alvéoles. Bordée d'un épithélium cuboïde cilié, les cils peuvent être absents en zone distale. Des cellules de Clara non ciliées, devenant dominantes distalement, y sont présentes.

L'épithélium est dépourvu de cellules caliciformes. Le tissu sous-jacent contient muscles lisses et fibres élastiques. Vers l'extrémité, la bronchiole se divise, se rétrécit, et le nombre d'alvéoles augmente ([Khan and Lynch, 2018](#)).

4.3.3. CANAUX ALVÉOLAIRES

Issus des bronchioles respiratoires, ils ne possèdent pas de paroi propre et sont formés par des ouvertures d'alvéoles. Ils se terminent en sacs alvéolaires puis en alvéoles. Ils sont entourés de cellules musculaires lisses, de collagène et de fibres élastiques. Des muscles lisses de type sphincter régulent l'air entrant. Ces muscles disparaissent en zone distale. La structure est alors soutenue uniquement par des fibres élastiques et réticulaires ([Khan and Lynch, 2018](#)).

4.3.4. ALVÉOLES

Sacs aériens de 200 μm de diamètre, unités fonctionnelles des poumons, sites principaux d'échange gazeux. Il y en a environ 300 millions. Disposées en grappes, elles s'ouvrent sur les canaux alvéolaires et sont bordées de pneumocytes. La barrière alvéolocapillaire, très fine, permet les échanges rapides d'oxygène et de CO_2 . Deux types de cellules :

- **Pneumocytes de type I** : aplatis, couvrent 90 à 97 % de la surface, assurent les échanges.
- **Pneumocytes de type II** : cuboïdes, produisent le surfactant et peuvent se différencier en type I ([Menche, 2014 ; Khan and Lynch, 2018](#)).
- **MACROPHAGES ALVÉOLAIRES** Provenant des monocytes sanguins ou par mitose locale, ils phagocytent poussières, bactéries et particules. Présents dans les alvéoles et les septas interalvéolaires, ils migrent vers les bronches, sont piégés dans le mucus et évacués par les cils jusqu'au pharynx ([Khan and Lynch, 2018](#)).

MATERIEL ET METHODES

Présentation de l'étude

Dans un contexte où les effets indésirables des médicaments de synthèse suscitent une préoccupation croissante, la recherche de solutions thérapeutiques naturelles, sûres et efficaces, devient une priorité. Les plantes médicinales, riches en composés bioactifs, représentent une alternative prometteuse, notamment dans le traitement symptomatique de la toux et des affections respiratoires

Ce travail a pour objectif d'évaluer *in vitro* et *in vivo* une formulation antitussive à base de la résine de pin d'Alep (*Pinus halepensis*)

L'étude a eu lieu dans divers centres spécialisés :

- ✚ **L'étude *in vitro*** La formulation du sirop antitussif à base de la résine de pin d'Alep dans le laboratoire d'analyse au niveau de bloc C de la faculté des sciences vétérinaire de l'université Blida 1
- ✚ Au niveau du laboratoire PFE de l'Université de Saad Dahleb Blida 1 et au laboratoire de contrôle de qualité P.L.I, les paramètres physico-chimiques et biologiques de la formulation sirop ont été étudiés, incluant : Des analyses sensorielles et physico-chimiques (densité, volume, pH et Conductivité....)
- ✚ **L'étude *in vivo*** sur des rats de souche *wistar* a été réalisée dans un box de la station expérimental de la faculté SNV de l'université de Blida 1 ou on a suivi l'évolution pondérale des rats traités
- ✚ L'étude macroscopique et microscopique des poumons a été réalisée à l'aide de deux colorations histologiques : Hématoxyline-Éosine (HE) et Trichrome au niveau du laboratoire d'anatomie et cytologie pathologie de Dr Ouled Slimane Karim et CHU BEO Alger. A travers cette étude on a cherché la tolérance biologique du modèle animale qui est traité par l'antitussif en mettant l'accent sur son impact éventuel sur le parenchyme pulmonaire à travers une étude histologique

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel végétale

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé la résine de pin d'Alep (*Pinus halepensis*) pour formuler notre sirop. Le sirop formulé a été conservée au réfrigérateur, dans des récipients hermétiques à l'abri de la lumière, jusqu'au début des expérimentations.

1.1.2. Animaux et conditions d'élevage

Nous avons testé l'innocuité du sirop sur un modèle animale le rat male de souche Wistar. Dans cette étude, 10 rats males de souche Wistar, âgés de 09 semaines et pesant entre 200 et 220 g, ont été obtenus de l'Institut Pasteur d'Algérie. Les animaux ont été maintenus dans des conditions identiques : un cycle lumière/obscurité de 12 heures, une humidité relative de 65,3 % et une température ambiante de (25 ± 2) °C. Ils ont eu un accès libre à l'eau et à une alimentation standard. L'expérimentation s'est déroulée sur une durée de 15 jours.

1.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé dans cette étude est constitué de verrerie classique, appareillages et réactifs chimiques du laboratoire d'anatomopathologie (annexe1).

2. Méthodes

2.1. Etude *in vitro*

2.1.1. Caractéristiques sensorielles

L'évaluation sensorielle de la formulation a porté sur quatre volets principaux : l'aspect, la couleur, l'odeur et le goût.

- Observation visuelle : appréciation de la limpidité, de la texture et de l'homogénéité de la solution.
- Évaluation de la couleur : détermination de la teinte dominante et de son intensité.
- Analyse olfactive : caractérisation de l'odeur à l'aide d'une évaluation directe par voie nasale.
- Appréciation gustative : estimation de la saveur générale (sucrée, amère, résineuse, etc.) et de l'acceptabilité organoleptique du sirop

2.1.2. Caractéristiques physicochimiques

Les analyses physicochimiques ont été réalisées dans le cadre de notre travail au laboratoire de l'Université Saad Dahleb – Blida 1 ainsi qu'au laboratoire de contrôle de qualité P.L.I à Chéraga

(Alger), dans le but de caractériser la formulation à base de résine de *Pinus halepensis*. Les paramètres suivants ont été évalués :

2.1.2.1. Densité

La densité a été déterminée par méthode gravimétrique, en utilisant une fiole jaugée de 10 mL (type Georgi) et une balance de précision. Après pesée de la fiole vide, celle-ci a été remplie avec un volume connu de la formulation, et la densité a été calculée selon la formule :

$$\rho = m / V$$

où :

- ρ = densité (g/mL)
- m = masse du liquide (g)
- V = volume (mL)

2.1.2.2. Volume

Le volume utilisé pour la mesure de densité a été rigoureusement contrôlé à l'aide d'une fiole jaugée de 10 mL, garantissant une précision dans les calculs. Ce paramètre a aussi servi à standardiser les essais sensoriels et analytiques.

2.1.2.3. pH

Le pH a été mesuré par deux méthodes complémentaires :

- Une estimation visuelle préliminaire à l'aide de papier pH, après dépôt d'une goutte de la formulation.
- Une mesure précise effectuée à l'aide d'un pH-mètre électronique étalonné, dont l'électrode a été directement immergée dans la formulation pour obtenir une valeur exacte du pH.

2.1.2.4. Conductivité

La conductivité électrique a été mesurée à l'aide d'un conductimètre, afin d'estimer la concentration ionique de la solution et d'évaluer sa stabilité électrochimique.

2.1.2.5. Solubilité

La solubilité de la formulation dans différents solvants (eau, éthanol, glycérol) a été observée qualitativement afin de déterminer sa compatibilité avec les excipients hydrophiles et lipophiles utilisés. L'aspect homogène ou biphasique a été noté, ainsi que la présence éventuelle de dépôts ou de turbidité.

2.2. Etude pharmacotoxicologique « *in vivo* »

2.2.1. Conditions d'hébergement et acclimatation

Dix rats albinos Wistar (n = 10) ont été répartis en deux groupes (témoin et traité, n = 5 chacun) et logés dans des cages en polyéthylène, avec accès ad libitum à une alimentation standard et à de l'eau potable. Les conditions environnementales ont été contrôlées (25 °C, photopériode naturelle), et la litière renouvelée quotidiennement. Chaque animal a été identifié par un marquage codé sur la queue. Une période d'acclimatation de 14 jours a été observée, avec pesée quotidienne.

2.2.2. Protocole expérimental

Une étude de toxicité aiguë par voie orale a été conduite sur 16 jours. Le lot témoin a reçu 0,5 mL/jour d'eau distillée, tandis que le lot traité a reçu 0,5 mL/jour de sirop à base de résine de *Pinus halepensis*, par gavage à l'aide d'une seringue et d'une sonde gastrique. Les rats ont été à jeun avant chaque administration afin d'assurer une absorption optimale. La répartition des rats a été faite en fonction du poids afin d'assurer l'homogénéité entre les groupes. L'évolution pondérale et l'état clinique des animaux ont été suivis tout au long de l'étude.

2.2.3. Prélèvements sanguin et d'organes

Après 15 jours de traitement, les deux groupes de rats ont été sacrifiés. La veille, les animaux ont été mis à jeun afin de réduire les variations métaboliques. Le sacrifice a été réalisé par décapitation. Les poumons ont été prélevés avec précaution après dissection, rincés à l'eau, puis immédiatement pesés à l'aide d'une balance de précision afin d'évaluer l'éventuel impact du traitement sur la masse pulmonaire. Chaque échantillon a ensuite été placé dans un flacon identifié contenant du formol à 10 % pour assurer une conservation optimale des tissus en vue de l'analyse histologique.

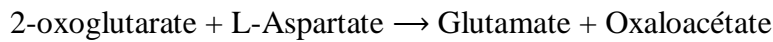
2.2.4. Analyse des paramètres biochimiques

Les paramètres biochimiques ont été évalués à l'aide de kits réactifs commerciaux fournis par Biomeghreb, en utilisant un analyseur manuel.

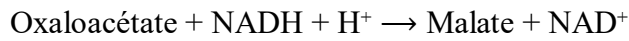
2.2.4.1. Aspartate Aminotransférase (GOT/ASAT)

L'activité de l'aspartate aminotransférase (GOT/ASAT) a été déterminée par méthode cinétique. La réaction enzymatique est initiée par l'ajout de l'échantillon au réactif, selon le mécanisme suivant :

- **GOT :**



- **MDH :**

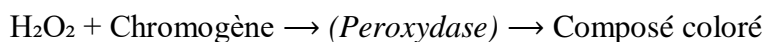


L'oxydation du NADH est mesurée spectrophotométriquement, permettant une évaluation quantitative de l'activité enzymatique.

2.2.4.2. Glycémie

La glycémie a été déterminée par une méthode enzymatique utilisant la glucose oxydase. Le glucose est oxydé en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), qui réagit ensuite avec un chromogène en présence de peroxydase, formant un composé coloré. L'intensité de la coloration, mesurée spectrophotométriquement, est proportionnelle à la concentration de glucose.

Réactions enzymatiques :



2.3 Etude histologique des poumons

L'étude histopathologique de poumons a été réalisée au laboratoire d'anatomie et cytologie pathologique Dr Ouled Slimane Karim de Blida, en suivant un protocole standard

2.3.1 Etude Macroscopique

Les organes ont été examinés à l'œil nu afin d'évaluer leur état macroscopique en prêtant une attention particulière à la présence éventuelle d'anomalie visibles telles que la congestion, la décoloration ou la formation de nodules les échantillons ont ensuite été délicatement coupés en petits fragments afin de les mettre dans des cassettes d'inclusion en vue de l'analyse histologique

2.3.2 Etude Microscopique

L'étude microscopique avait pour objectif d'évaluer l'état des tissus pulmonaires à partir des organes fixés dans une solution de formol à 10 %. Après fixation, les échantillons ont été transformés en lames histologiques, selon un protocole standard en plusieurs étapes (cf. Annexe X pour le détail des procédures).

2.3.2.1. Circulation

La circulation a été réalisée à l'aide d'un automate histologique, et comprend trois phases principales :

- **Déshydratation** : élimination progressive de l'eau intracellulaire par immersion dans des bains d'éthanol à concentrations croissantes (70°, 90°, 95°, 100°).
- **Éclaircissement** : remplacement de l'éthanol par du xylène, solvant miscible avec la paraffine.
- **Imprégnation** : infiltration des tissus avec de la paraffine fondue à 60 °C, permettant leur solidification.



Figure 6 : Automate de circulation (originale 2025)

2.3.2.2. Inclusion et microtomie

Les tissus imprégnés ont été inclus dans des blocs de paraffine à l'aide de moules chauffés. Après solidification, ces blocs ont été sectionnés au microtome rotatif, produisant des coupes fines de 3 à 5 μm . Les coupes ont été flottées dans un bain-marie, fixées sur des lames de verre, puis séchées dans une étuve.

2.3.2.3. Colorations histologiques

Deux types de colorations ont été réalisés pour analyser les structures tissulaires :

- **Hématoxyline-Éosine (H&E)** : met en évidence les noyaux (bleu-violet) et le cytoplasme/protéines (rose).
- **Trichrome de Masson** : différencie les tissus conjonctifs, avec le collagène en vert, les fibres musculaires en rouge et les noyaux en bleu.

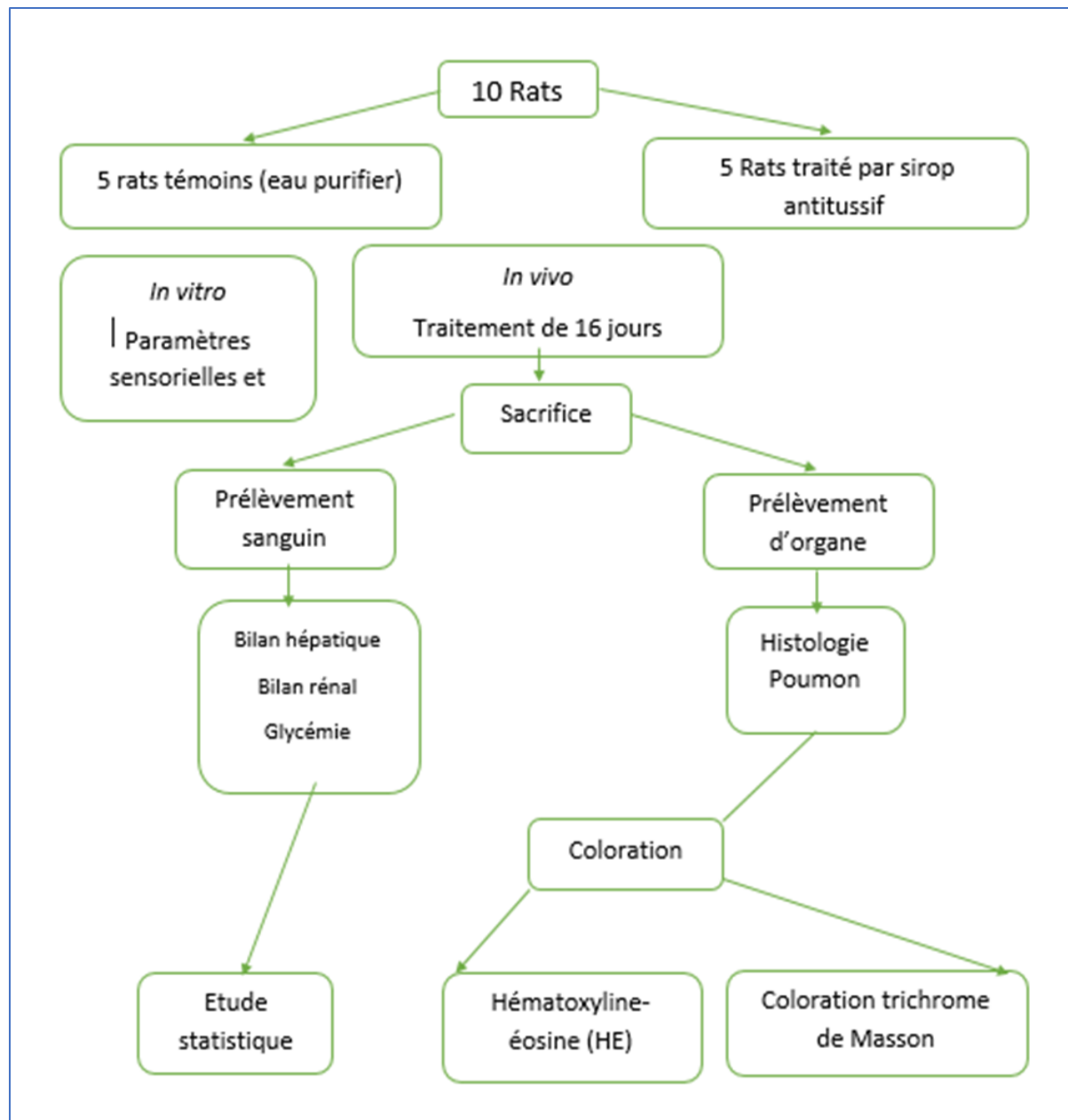
Les étapes détaillées de déparaffinage, réhydratation, coloration, déshydratation et montage sont disponibles en **Annexe 3**.

2.3.2.4. Observation microscopique

Les lames ont été observées au microscope optique à lumière transmise, avec des grossissements $\times 10$ et $\times 40$, afin de mettre en évidence les structures normales ainsi que d'éventuelles lésions histopathologiques (congestion vasculaire, infiltrats inflammatoires, etc.)

2.4. Etude Statistique

Les valeurs du poids pondérale et le poids du poumon et les paramètres biochimiques ont été analysées statistiquement par statistica version 10 en comparant le lot témoin par le lot traité par le sirop antitussif de *Pinus halepensis*. Les résultats obtenus sont représentés graphiquement. Les valeurs sont données par la moyenne \pm l'écart type, une valeur p



Organigramme de l'expérimentation *in vitro* et *in vivo*

RESULTATS ET DISCUSSION

Chapitre 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultat de l'étude *in vitro*

1.1. Résultat de l'étude physicochimique

2.1. Caractéristiques sensorielles du sirop à la gomme de pin d'Alep

Résultats des analyses physico-chimiques de la solution

Analyse	Résultat
Aspect macroscopique	Solution liquide, transparente, homogène
Odeur	Fraîche, aromatique, légèrement piquante, caractéristique des huiles essentielles.
pH	6,53
Densité	1,119590 g/mL
Conductivité	8,09 ms

Test de stabilité physique par centrifugation

- Après centrifugation, la solution est restée parfaitement limpide, homogène et sans aucune phase séparée visible.
- Aucune précipitation, sédimentation ou trouble n'a été observé.

Ce résultat indique que la formulation présente une bonne stabilité physique à court et moyen terme, et qu'elle peut résister à des conditions mécaniques modérées (agitation, transport).

La solution de sirop antitussif s'est présentée sous forme liquide, homogène et prête à l'emploi. Son odeur fraîche et aromatique témoigne de la présence caractéristique du pin d'Alep. Les analyses physico-chimiques ont révélé un pH de 6,63, une densité de 1,109 g/mL et une conductivité de 8,17 mS, indiquant une bonne dispersion ionique de la formulation. Le test de centrifugation (3000 tr/min pendant 15 minutes) n'a mis en évidence ni séparation de phase ni précipitation, traduisant une stabilité physique satisfaisante.

Ces résultats démontrent que la formulation répond aux exigences de qualité définies par la Pharmacopée Européenne pour les solutions buccales. Le pH, légèrement acide, est

conforme aux normes visant à prévenir toute irritation de la muqueuse orale. La densité élevée suggère un bon équilibre entre les phases aqueuse et huileuse, garantissant ainsi une homogénéité optimale. La conductivité confirme la bonne répartition des composants ionisables, critère important pour l'efficacité antiseptique. Enfin, l'absence d'instabilité après centrifugation confirme la conformité de la préparation aux critères de stabilité imposés par les monographies et méthodes analytiques de la Pharmacopée.

2. Résultat de l'étude pharmaco toxicologique *in vivo*

Cette section présente les résultats de l'étude *in vivo*, accompagnés de l'analyse des variations du poids corporel, de la masse pulmonaire, ainsi que des paramètres biochimiques (ASAT, ALAT et glycémie). Elle inclut également l'interprétation des données histologiques à travers l'examen des planches microscopiques du tissu pulmonaire.

2.1.Effet du traitement sur l'évolution pondérale

La Figure 7 présente l'évolution pondérale des rats suivie tout au long de la période expérimentale, en comparant les deux groupes étudiés : le groupe témoin et le groupe traité par la formulation antitussive à base de résine de pin d'Alep.

Les mesures du poids corporel ont été réalisées quotidiennement (de J1 à J15), permettant ainsi d'apprécier l'effet potentiel de l'administration répétée de la formulation sur la croissance des animaux. Les résultats montrent une évolution pondérale similaire dans les deux groupes, sans différence statistiquement significative. Cette stabilité du poids corporel chez les animaux traités suggère l'absence d'effet toxique apparent de la formulation sur le métabolisme général ou l'appétit au cours des 15 jours de traitement.

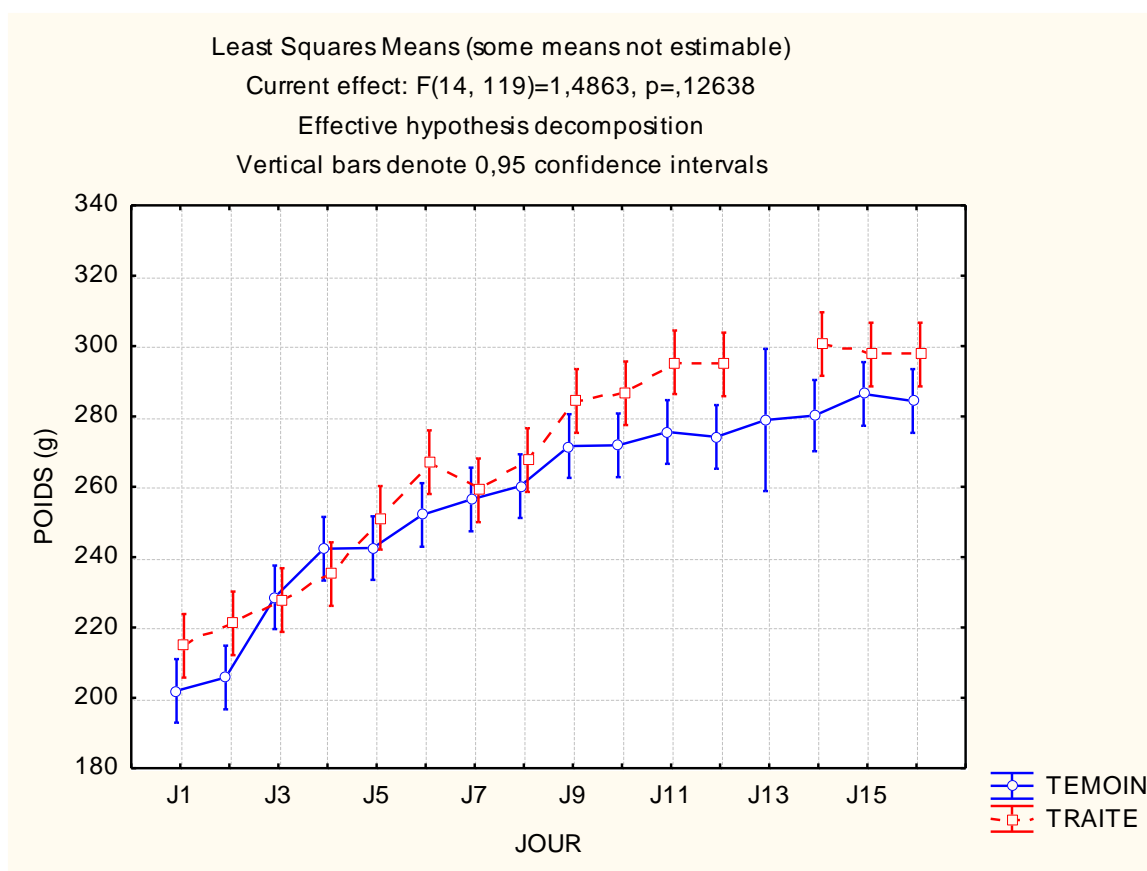


Figure 7 : Variation du poids corporel moyen (g) des rats témoins et traités.

2.2.Effet du traitement sur le poids des poumons

La Figure 8 montre les résultats du poids moyen du foie obtenues à la fin de la période expérimentale chez les lapins témoins et traités par la formulation antitussif.

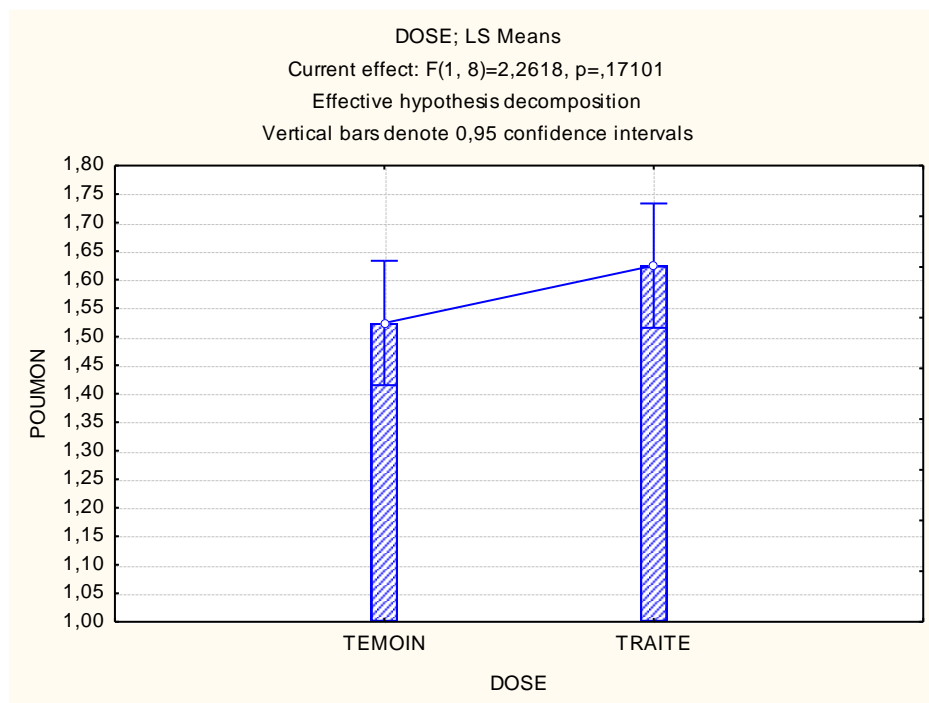


Figure 8 : Variation du poids moyen des poumons (g) des rats témoins et traités

Le poids moyen des poumons a été légèrement plus élevé chez les rats traités par le sirop à base de résine de pin d'Alep (1,62 g) comparé au groupe témoin (1,52 g). Cependant, cette différence n'est pas statistiquement significative, comme l'indique la valeur de $p = 0,17$ ($F(1,8) = 2,26$), bien au-dessus du seuil de 0,05.

Cette augmentation non significative pourrait refléter une variabilité individuelle ou un effet physiologique mineur du traitement, sans que cela ne traduise nécessairement une altération pathologique des poumons. En l'absence d'autres signes de congestion, d'inflammation ou d'œdèmes pulmonaires (cliniques ou histologiques), ces données ne permettent pas de conclure à une atteinte pulmonaire significative.

2.3.Effet du traitement sur les paramètres biochimiques

Les résultats biochimiques des taux plasmatiques des marqueurs de la fonction hépatique ont montré que le traitement par la formulation sirop à base de résine de pin d'Alep affecte certains paramètres biochimiques.

2.3.1. Glycémie à jeun (g/L)

Le graphique (Figure 9) présente la variation de la glycémie à jeun (en g/L) chez les deux groupes témoin et traité par la formulation antitussive à base de résine de pin d'Alep. Chaque barre représente la moyenne \pm l'intervalle de confiance à 95 %.

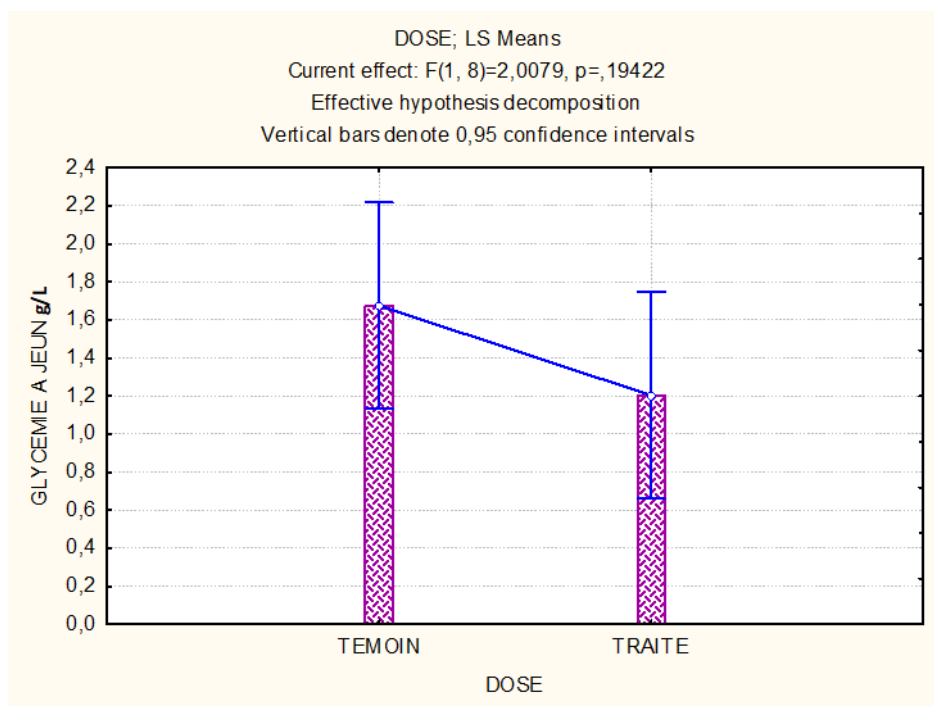


Figure 9 : Variation du taux plasmatique de glucose chez les rats témoins et traités.

- Le groupe témoin affiche une glycémie moyenne d'environ 1,6 g/L, tandis que le groupe traité présente une valeur légèrement inférieure, autour de 1,3 g/L.
- Une légère diminution de la glycémie est donc observée chez les animaux traités.
- Cependant, cette différence n'est pas statistiquement significative, comme l'indique la valeur de $p = 0,19422$ ($> 0,05$), avec un $F(1,8) = 2,0079$.

Bien que l'administration de la formulation antitussive semble induire une tendance à la baisse de la glycémie à jeun, aucun effet hypoglycémiant significatif n'est mis en évidence dans les conditions expérimentales de cette étude. La formulation ne semble donc pas perturber de manière notable le métabolisme glucidique chez les rats sains après 15 jours de traitement.

2.3.2. Activité Enzymatique de l'Aspartate Amino-Transférase (ASAT)

La Figure 10 présente les niveaux moyens d'ASAT (Aspartate Aminotransférase) chez les rats des deux groupes : témoin et traité par le sirop à base de résine de pin d'Alep, après 15 jours d'administration.

Le groupe témoin présente une valeur moyenne d'ASAT avoisinant 90 U/L, avec un intervalle de confiance modéré. Le groupe traité montre une élévation notable de l'activité ASAT, atteignant une moyenne proche de 190 U/L. Cette augmentation est statistiquement significative comme l'indique le test ANOVA avec $F(1,8) = 5,3853$ et $p = 0,04887 (< 0,05)$.

Figure 10 : Variation du taux plasmatique ASAT chez les rats témoins et traités.

L'administration prolongée du sirop antitussif à base de résine de pin d'Alep a induit une élévation significative de l'ASAT, suggérant une légère atteinte hépatique ou une réaction de stress hépatocellulaire. Cette enzyme étant principalement localisée dans les mitochondries des cellules hépatiques, sa libération dans le sang reflète une altération de la membrane hépatocytaire, probablement transitoire et modérée. Un suivi parallèle des ALAT et une analyse

2.3.3. Activité enzymatique de l'Alanine Amino-Transférase (ALAT)

La figure 11 illustre une augmentation marquée de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT ou TGP) chez les rats traités par la formulation antitussive à base de résine de pin d'Alep, comparativement au groupe témoin. Le groupe traité présente une moyenne enzymatique d'environ 220 U/L, contre 70 U/L chez les témoins.

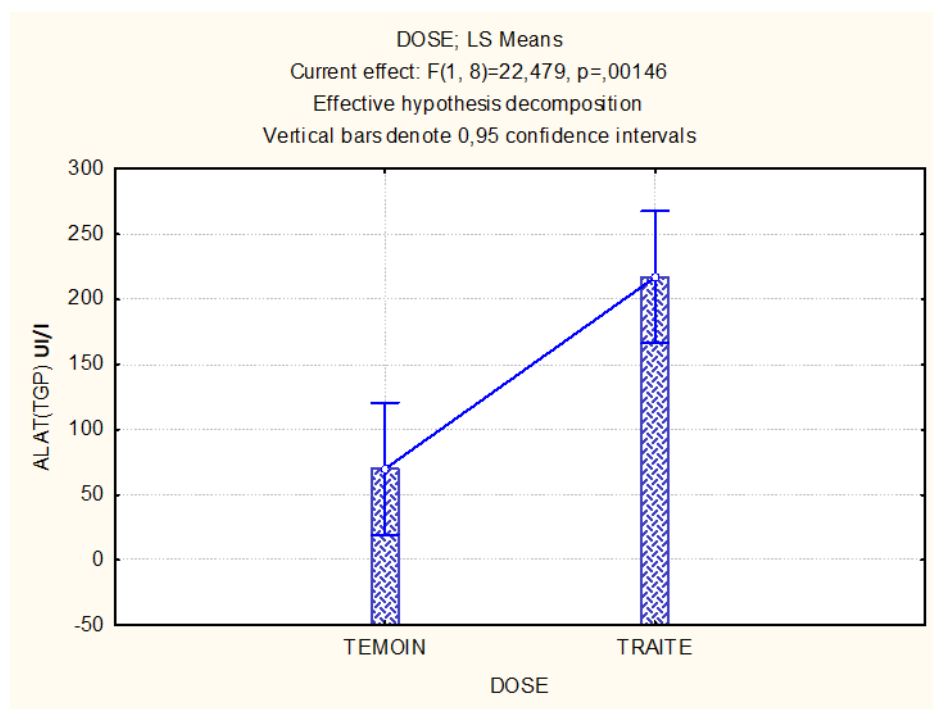


Figure 11 : Variation du taux plasmatique ALAT chez les rats témoins et traités.

Cette différence est hautement significative sur le plan statistique, comme le montre la valeur de $p = 0,00146$ ($F(1,8) = 22,479$), bien inférieure au seuil de 0,05. L'ALAT étant une enzyme cytoplasmique hépatique sensible aux dommages hépatiques précoces, cette augmentation reflète probablement une cytolyse hépatique modérée, suggérant que le traitement prolongé pourrait avoir un effet hépatotoxique léger à modéré.

2.3.4. Activité enzymatique du gamma GT (γ GT)

La figure 12 illustre une augmentation marquée de l'activité de la GGT chez les animaux traités ($3 \pm \dots$) par rapport au groupe témoin ($1,14 \pm \dots$). Toutefois, cette augmentation n'a pas atteint le seuil de signification statistique ($p = 0,08$; $F(1,8) = 3,82$), suggérant une tendance à l'augmentation, mais non concluante au seuil classique de 5 %.

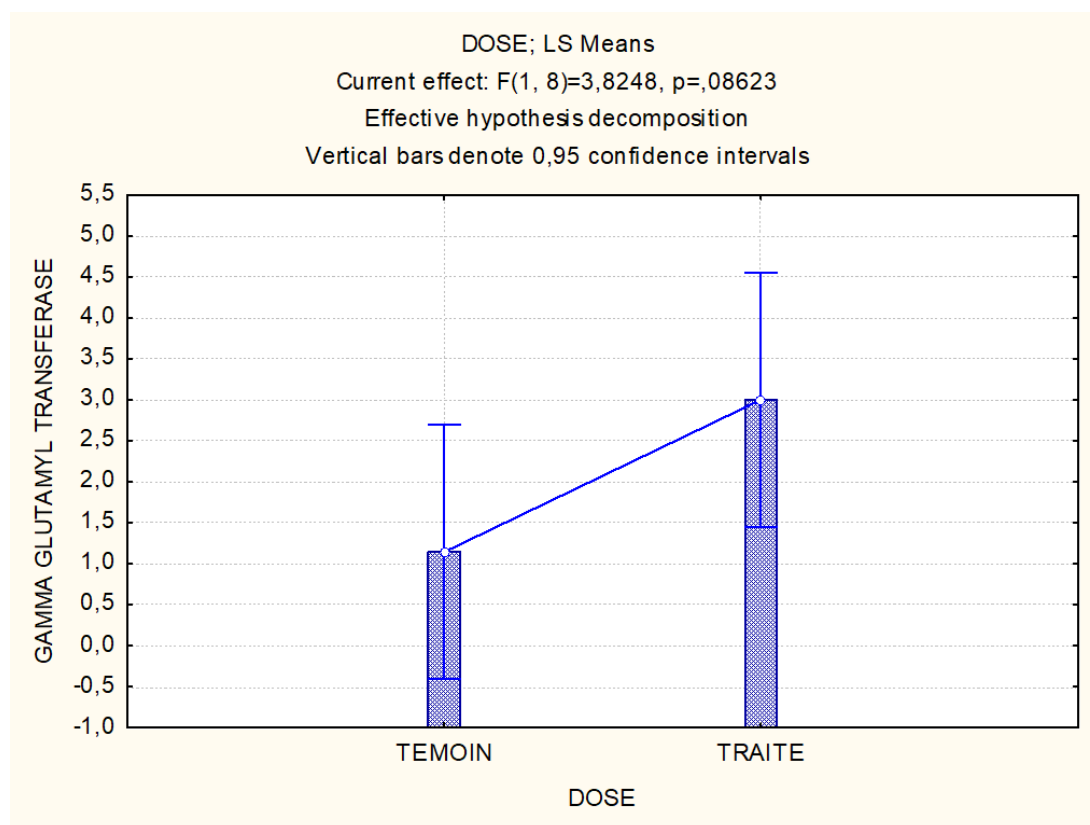


Figure 12 : Variation du taux plasmatique gamma GT chez les rats témoins et traités.

L'activité de la gamma-glutamyl transférase (GGT), enzyme hépatique impliquée dans le métabolisme du glutathion et considérée comme un marqueur de stress oxydatif ou d'atteinte hépatique, présente une élévation dans le groupe traité comparativement au groupe témoin.

Cette augmentation suggère une induction enzymatique potentiellement liée à une stimulation hépatique ou à une réponse au traitement administré. Toutefois, l'analyse statistique ($F(1,8) = 3,82$; $p = 0,08$) indique que cette différence n'est pas statistiquement significative au seuil conventionnel de 5 % ($p > 0,05$).

L'ensemble des paramètres biochimiques étudiés met en évidence une altération modérée de la fonction hépatique chez les rats traités par le sirop formulé à base de résine de pin d'Alep.

L'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT), enzyme hépatique cytoplasmique très sensible aux lésions hépatiques, est significativement augmentée dans le groupe traité (220 U/L contre 70 U/L ; $p = 0,00146$). Cette élévation marquée témoigne d'une cytolyse hépatique probable, traduisant une atteinte directe des hépatocytes.

L'aspartate aminotransférase (ASAT), bien que moins spécifique au tissu hépatique, présente également une augmentation significative (190 U/L contre 90 U/L ; $p = 0,04887$), renforçant l'hypothèse d'une souffrance hépatique associée au traitement.

Quant à l'activité de la gamma-glutamyl transférase (GGT), elle est plus élevée dans le groupe traité (3 U/L contre 1,14 U/L), mais cette différence n'est pas statistiquement significative ($p = 0,08$). Cette tendance pourrait néanmoins refléter une induction enzymatique d'origine hépatobiliaire ou une réponse adaptative à un stress oxydatif, fréquemment observée avec les extraits phytothérapeutiques.

Dans leur ensemble, ces résultats suggèrent que le sirop à base de résine de pin d'Alep pourrait induire une toxicité hépatique légère à modérée en cas d'administration prolongée. Toutefois, l'absence de significativité statistique pour la GGT et la nature végétale du traitement appellent à une interprétation prudente. Il serait donc pertinent de compléter ces données biochimiques par des analyses histopathologiques du foie, afin de confirmer ou d'exclure la présence de lésions tissulaires.

1.3.Résultats histologiques

Notre travail est basé sur l'étude des variations histologiques au niveau des poumons des lapines après un traitement de 15 jours par une formulation antitissuf a base de resine de pin d'alep.

Les résultats suivants regroupent l'étude histologique de plusieurs parties du parenchyme pulmonaire, des deux lots de l'expérimentation le lot témoin et le lot traité par le sirop à différents grossissements ($\times 4$, $\times 10$, $\times 40$).

Afin de rechercher l'effet de la supplémentation vitaminique sur le parenchyme pulmonaire nous avons utilisé deux colorations topographiques : la coloration de routine en anatomie pathologie l'hématoxyline éosine (HE) et le trichrome de Masson.

✚ L'**hématoxyline éosine** : est une coloration de base qui colore en bleu les noyaux et en rose le compartiment cytoplasmique ;

✚ Le **trichrome de Masson** permet de reconnaître les différents tissus, le cytoplasme, le noyau et les principales inclusions cytoplasmiques. Cette coloration topographique permet de coloré les noyaux (chromatine et nucléole) en bleu foncé a noir ; le cytoplasme en rouge ; les globules rouges et les granulations éosinophiles en rouge ; le collagène en bleu et les muscles en rouge.

1.3.1. Histologie du poumon chez les rats témoins

L'observation des coupes histologiques du parenchyme pulmonaire des lapines témoins (**Planche 1 et 2**) révèle une architecture tissulaire normale, avec des structures bien organisées et intactes. On distingue les éléments suivants :

- La bronchiole (br), identifiable par sa lumière bordée d'un épithélium cylindrique pseudostratifié cilié, riche en cellules à villosités, assurant le transport du mucus. La bronchiole respiratoire, plus fine, se prolonge par des canaux alvéolaires débouchant sur des sacs alvéolaires (SA).
- Le parenchyme alvéolaire (AV) est constitué de cloisonnements inter alvéolaires fins et de structures alvéolaires bien individualisées, assurant une large surface d'échange gazeux. Les alvéoles pulmonaires apparaissent ouvertes, bordées par des cellules épithéliales aplaties (pneumocytes) de type I (P), intercalées de quelques pneumocytes de type II

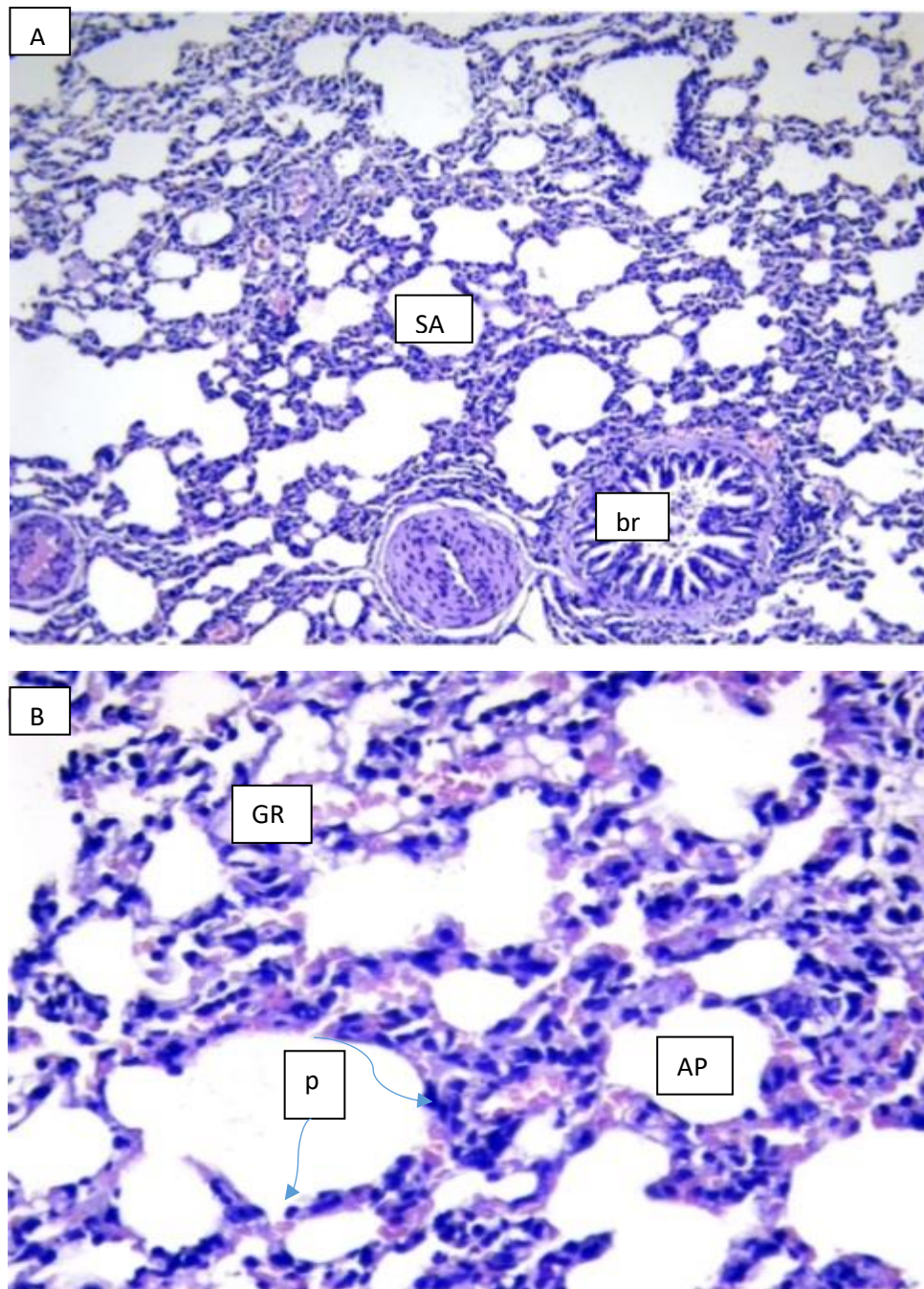


PLANCHE 1 : Histologie de parenchyme pulmonaire chez le lot témoin (coloration HE, grossissement x10 (A) et x40 (B)).

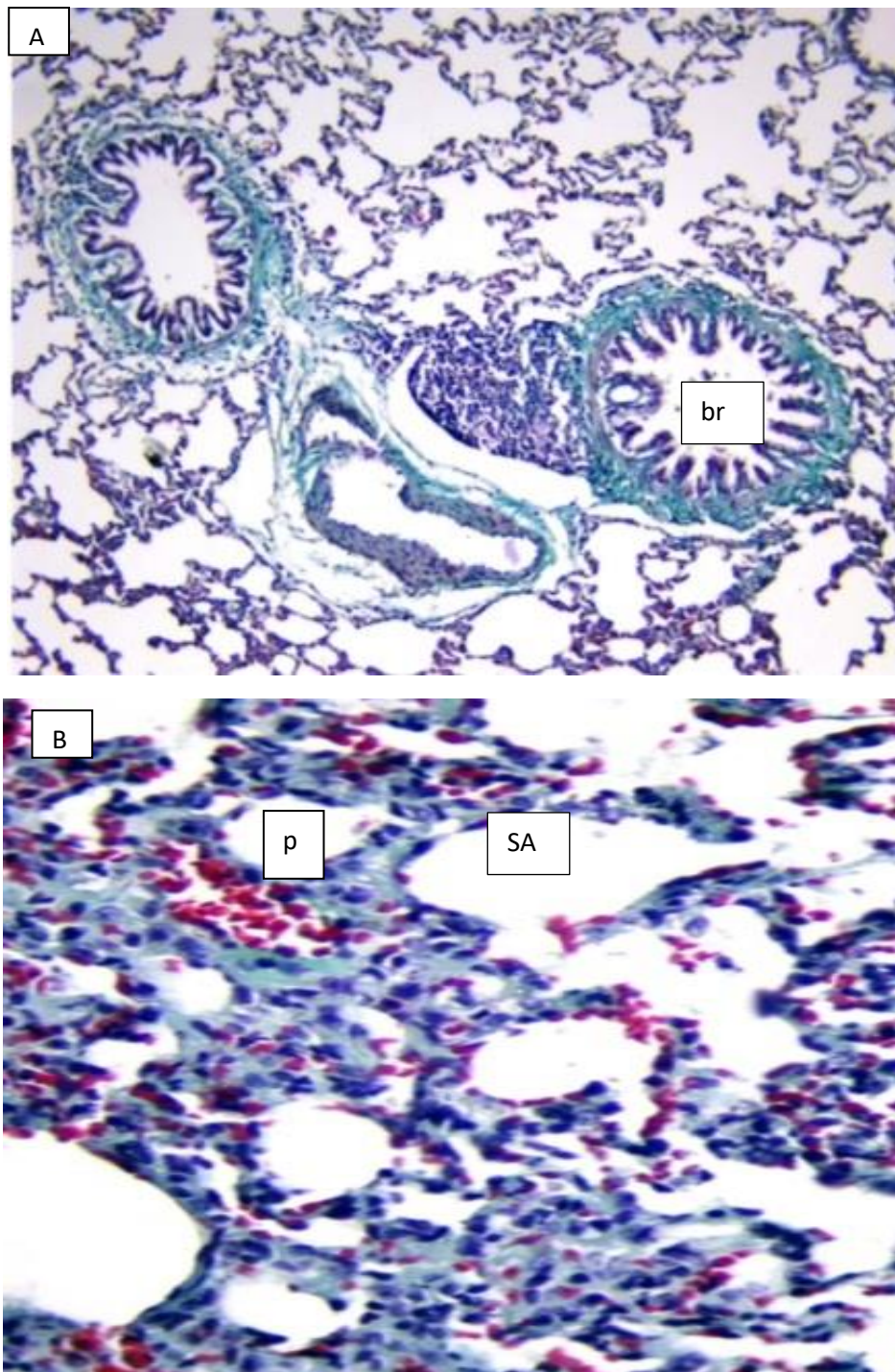


PLANCHE 2 : Histologie de parenchyme pulmonaire chez le lot témoin (coloration Trichrome de Masson, grossissement x10 (A) et x40 (B)).

1.3.2. Histologie du poumon chez les rats traités

L'observation des coupes histologiques du parenchyme pulmonaire des rats traités pendant 15 jours par le sirop antitussif (**Planche 3 et 4**) montre une architecture tissulaire globalement conservée, avec des structures bien reconnaissables et une organisation comparable à celle des témoins. Toutefois, de légères altérations inflammatoires sont observées.

On distingue les éléments suivants :

- La bronchiole (br) présente une lumière bordée d'un épithélium cylindrique pseudostratifié cilié, riche en cellules à villosités, sans désorganisation apparente. Elle se prolonge par des bronchioles respiratoires conduisant aux canaux alvéolaires, qui débouchent sur des sacs alvéolaires (SA) bien individualisés.
- Le parenchyme alvéolaire (AV) reste dans l'ensemble intact, bien que l'on note une congestion modérée des capillaires péri-alvéolaires, accompagnée d'une augmentation du diamètre des alvéoles pulmonaires. Les alvéoles demeurent ouvertes, tapissées par des pneumocytes de type I (P) aplatis, entrecoupés de rares pneumocytes de type II, témoignant du maintien des structures responsables des échanges gazeux

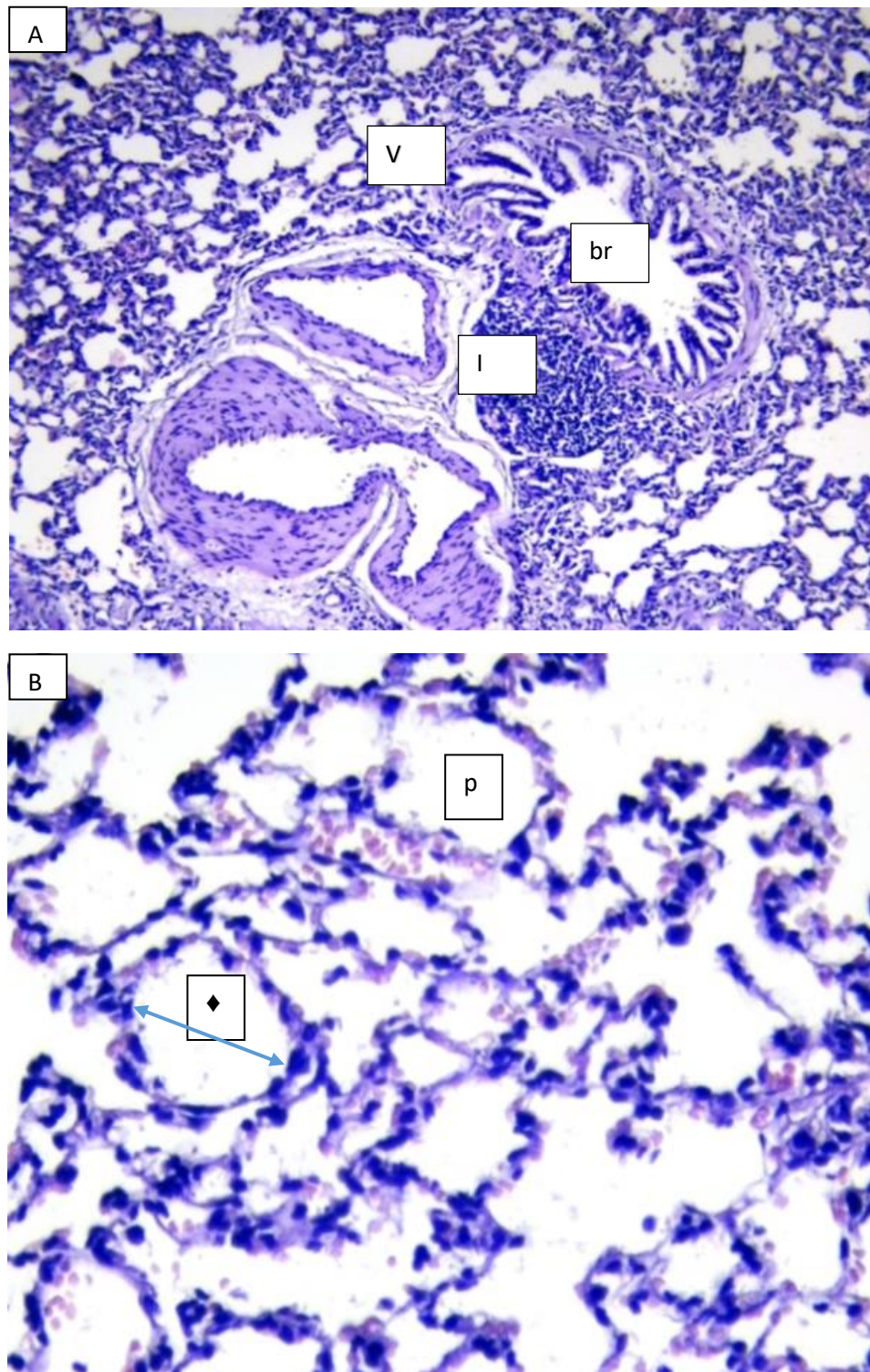


PLANCHE 3 : Aspect histologique du poumon chez les rats traités par le sirop antitussif. Grossissement : Gx10 (A), Gx40 (B). **Coloration HE**. Légende : Une structure normale de la bronche intra pulmonaire (br) avec une infiltration lymphoplasmocytaire (I) modérée des capillaires péri alvéolaires. Élargissement des alvéoles pulmonaires (◆).

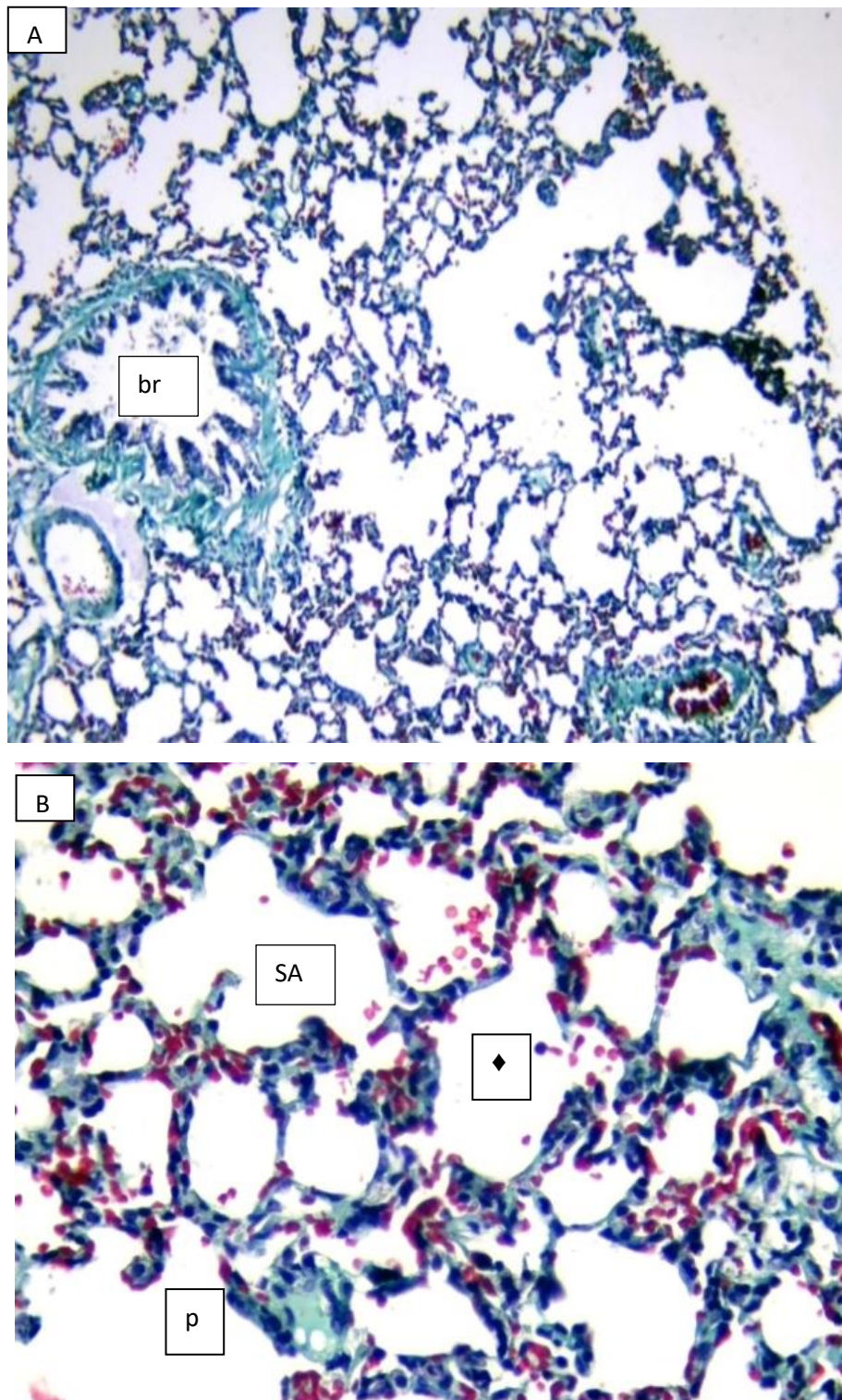


PLANCHE 4 : Aspect histologique du poumon chez les rats traités par le sirop antitussif. Grossissement : Gx10 (A), Gx40 (B. **Coloration Trichrome de Masson.** Légende : Une structure normale de la bronche intra pulmonaire (br) avec une congestion modérée des capillaires péri-alvéolaires. Élargissement des alvéoles pulmonaires (♦).

Discussion

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer l'innocuité d'une formulation antitussive à base de résine de *Pinus halepensis* (pin d'Alep), espèce bien connue pour sa richesse en terpènes, flavonoïdes et acides phénoliques, et largement utilisée en phytothérapie pour ses propriétés antimicrobiennes, expectorantes, antiseptiques et anti-inflammatoires (Benkhaled et al., 2014 ; El-Azzouny et al., 2011 ; Sarri et al., 2020).

1. Étude in vitro : qualité galénique et acceptabilité

Les résultats de l'analyse sensorielle ont confirmé une bonne acceptabilité du sirop, caractérisée par une couleur homogène, une consistance fluide et une odeur agréable. Ces éléments sont conformes aux critères d'acceptabilité pour les formulations à usage oral en phytothérapie (Zerroug et al., 2021).

Par ailleurs, les paramètres physicochimiques (pH, viscosité, densité) étaient conformes aux normes galéniques, soutenant la stabilité du sirop et son bon potentiel d'administration (Miara et al., 2019).

2. Étude in vivo : tolérance générale et effets métaboliques

a. Évolution pondérale et poids des poumons

L'évolution du poids corporel des rats n'a pas montré de différence significative entre les groupes témoin et traité, suggérant une absence d'effet délétère sur le métabolisme énergétique, l'appétit ou l'état général des animaux. Ce constat est cohérent avec les résultats obtenus par Zerroug et al. (2021), qui ont étudié l'innocuité de la résine de *P. halepensis* sur les fonctions métaboliques.

De même, l'augmentation non significative du poids pulmonaire ($p = 0,17$) dans le groupe traité ne reflète pas une atteinte pulmonaire manifeste, d'autant plus qu'aucune altération histologique majeure n'a été observée.

b. Paramètres biochimiques hépatiques

Les enzymes hépatiques ALAT et ASAT ont montré une élévation significative chez les rats traités, indiquant une cytolyse hépatique modérée. Ces résultats sont compatibles avec ceux rapportés par Ghaffari et al. (2019), qui ont observé un stress oxydatif modéré induit par certains composés de *P. halepensis*, notamment les terpènes.

L'élévation de la GGT, bien que non significative ($p = 0,08$), pourrait refléter une induction enzymatique hépatobiliaire ou une réponse adaptative au stress (Sarri et al., 2020).

Concernant la glycémie, aucune différence significative n'a été constatée entre les deux groupes. Cela suggère que la formulation n'altère pas significativement le métabolisme glucidique, en accord avec les données de [Benderradji et al. \(2015\)](#) qui indiquent que les extraits de résine ne perturbent pas la glycémie chez le rat sain.

3. Étude histologique pulmonaire

L'analyse des coupes histologiques pulmonaires montre une architecture tissulaire globalement conservée dans le groupe traité, avec uniquement des signes légers : congestion capillaire modérée et élargissement des alvéoles. Ces anomalies mineures ne semblent pas traduire une atteinte pathologique sérieuse et pourraient correspondre à une réponse physiologique passagère au traitement, comme cela a été décrit dans des essais [similaires \(Zerroug et al., 2021 ; Sarri et al., 2020\)](#).

Dans l'ensemble, la formulation antitussive à base de résine de *Pinus halepensis* semble bien tolérée chez le rat, sans effet toxique systémique manifeste. Toutefois, les signes modérés d'altération hépatique justifient un usage prudent en cas d'administration prolongée. Ces résultats confirment l'intérêt thérapeutique traditionnel de la résine, tout en appelant à une évaluation plus approfondie de sa sécurité hépatique, notamment via l'histopathologie hépatique ([Benkhaled et al., 2014 ; Ghaffari et al., 2019 ; Sarri et al., 2020](#)).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les résultats obtenus dans cette étude confirment la bonne tolérance du sirop antitussif formulé à base de résine de *Pinus halepensis*, administré par voie orale à des rats Wistar dans le cadre d'un protocole de toxicité subaiguë. L'absence de signes cliniques de toxicité ou de mortalité, associée à des modifications biochimiques modérées et contrôlées (notamment une baisse de la glycémie et une légère élévation des transaminases), témoigne d'une sécurité d'utilisation à court terme du produit testé. De plus, l'étude histopathologique des tissus pulmonaires a révélé une préservation globale de l'architecture tissulaire, malgré des altérations mineures non alarmantes, renforçant ainsi les observations biologiques et cliniques.

Ces résultats soutiennent non seulement la validité de l'usage traditionnel de la résine de *P. halepensis* en tant qu'agent antitussif naturel, mais ouvrent également des perspectives prometteuses pour son développement en phytomédi

cament, notamment dans le traitement symptomatique des affections respiratoires bénignes.

Perspectives

- La poursuite des recherches par des études chroniques à plus long terme est recommandée afin de confirmer l'innocuité du sirop sur la durée.
- Il serait pertinent d'évaluer également les effets pharmacodynamiques spécifiques sur le réflexe de la toux, à l'aide de modèles animaux adaptés.
- Des analyses mécanistiques (in vitro et in silico) pourraient être envisagées pour identifier les composés actifs responsables des effets observés.
- Enfin, une évaluation clinique sur des sujets humains représenterait une étape essentielle vers la valorisation thérapeutique de cette formulation naturelle.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références complètes

- **Abubakar, A.R., & Haque, M.** (2020). Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 12(1), 1–10.
- **Aung, H. H., Sivakumar, A., Gholami, S. K., Venkateswaran, S. P., Gorain, B.** (2019). An overview of the anatomy and physiology of the lung. Nanotechnology-based targeted drug delivery systems for lung cancer, 1-20.
- **Barbero, M., Loisel, R., & Quezel, P.** (1990). *Pinus halepensis* et *Pinus brutia* : deux espèces méditerranéennes jumelles ? *Ecologia Mediterranea*, 16(1-2), 5–19.
- **Benderradji, L., Harzallah-Skhiri, F., & Jabnoun-Khiareddine, H.** (2015). Ethnobotanical survey and antimicrobial properties of *Pinus halepensis* resin in Algeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 165, 202–210.
- **Bendiabdellah, A., Dib, M. E. A., Allali, H., Tabti, B., & Abdellah, F.** (2013). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Pinus halepensis* Mill. from Algeria. *Der Pharmacia Lettre*, 5(6), 237–241.
- **Benkhaled, A., Kabouche, Z., & Kabouche, A.** (2014). Anti-inflammatory activity of essential oils from *Pinus halepensis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 153(1), 196–202. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.02.016>.
- **Bessagnet, F., Desmoulière, A.** (2021). Les poumons. *Actualités Pharmaceutiques*, 60(603), 55-59.
- **Blanche, C. A., Lorio, P.L., Sommers, R.A., Hodges, J.D., Nebeker, T.E.** (1992). Seasonal cambial growth and development of loblolly pine: Xylem formation, inner bark chemistry, resin ducts, and resin flow. *Forest Ecology and Management* 49, 151-165 [https://doi.org/10.1016/03781127\(92\)90167-8](https://doi.org/10.1016/03781127(92)90167-8)
- **Bouazza, F.** (2013). Intérêt de la mycorhization contrôlée du Chêne vert (*Quercus ilex* L.) et du Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Miller) par deux espèces de Terfez, en conditions gnotoxéniques et axéniques. Université d'Oran Es-Senia Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biotechnologie. 99 pages
- **Boudemagh, S., et al.** (2021). Formes galéniques phytothérapeutiques et leur application en médecine traditionnelle algérienne. *Revue Phytothérapie*, 19(2), 115-122.
- **Boukhatem, M. N., Kameli, A., Saidi, F., & Tayebi, K.** (2014). Essential oil of Algerian *Pinus halepensis*: chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2(1), 14–19.
- **Bouriche, H.** (2019). *Pharmacognosie et phytothérapie*. Éditions de l'Université d'Alger.
- **Croteau, R., Kutchan, T. M., & Lewis, N. G.** (2000). Natural Products (Secondary Metabolites). In *Biochemistry and Molecular Biology of Plants* (pp. 1250–1318).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES







- **Dob, T.**, Ghedadba, N., Dahmane, D., Benabdelkader, T., & Chelghoum, C. (2005). Chemical composition of essential oil of *Pinus halepensis* Miller growing in Algeria. *Comptes Rendus Chimie*, 8(11-12), 1939–1945.
- **El-Azzouny, A. A.**, Lazzouni, H. A., & Rebiahi, S. A. (2011). Antibacterial activity of *Pinus halepensis* essential oil from Algeria. *Journal of Natural Products and Plant Resources*, 1(1), 33–36.
- **Elgharabawy, R.M.**, & El-Magd, M.A. (2016). Pulmonary and hepatic toxicity of essential oils: An experimental study on rats. *Toxicology Reports*, 3, 771–777.
- **European Pharmacopoeia** (11^e édition, 2023). Monographies générales et méthodes analytiques applicables aux préparations buccales – stabilité des solutions, densité relative, pH et tests de compatibilité. EDQM. Disponible sur le site de la Pharmacopée Européenne.
- **Fancès, M.** (2019). Eude de la mise au point d'un vernis industriel à base de colophane et d'huile végétale. Thèse doctorat : Polymères. Université de Pau et des Pays de l'Adour, 21-25 p.
- **Ghaffari, H.**, Tavakkoli, F., & Sattari, M. (2019). Antioxidant effects of *Pinus halepensis* extracts in vitro and in vivo. *Phytotherapy Research*, 33(6), 1501–1510. <https://doi.org/10.1002/ptr.12345>
- **Guyton, A. C.**, & Hall, J. E. (2020). *Traité de physiologie médicale* (14^e éd.). Elsevier Masson.
- **Hoppenot, D.** (2024). *Les formes galéniques en pharmacie officinale*. Éditions Lamarre.
- **Jothy, S.L.**, Zakaria, Z., Chen, Y., Lau, Y.L., Latha, L.Y., & Sasidharan, S. (2011). Acute oral toxicity of methanolic seed extract of *Cassia fistula* in mice. *Molecules*, 16(6), 5268–5282.
- **Joye, N. M.**, & Lawrence, R. V. (1967). Resin acids of pine gum. *Journal of Chemical Education*, 44(8), 439-441
- **Khan YS**, Lynch DT. Histology, Lung. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2023. PMID : 30521210.
- **Khouja, M. L.**, & Debazac, E. P. (1994). Contribution à l'étude écologique et sylvicole du Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.). *Ann. Rech. For. Tunisie*, 1, 101–114.
- **Klein, C.B.**, & King, A.A. (2007). Carcinogenicity testing of natural products: chemicals of herbal origin. *Toxicologic Pathology*, 35(7), 895–903.
- **Lüllmann-Rauch, R.**, Paulsen, F. (2012). *Taschenlehrbuch Histologie*. Allemagne : Thieme.
- **Lorio, P.L.** (1986). Growth-differentiation balance: A basis for understanding southern pinebeetle-tree interactions. *Forest Ecology and Management* 14, 259–273 [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(86\)90172-6](https://doi.org/10.1016/0378-1127(86)90172-6)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES





- **Menche, N.** (2023). *Biologie Anatomie Physiologie*. France: Elsevier Health Sciences.
- **Miara, M. D., et al.** (2019). Medicinal uses of Aleppo pine resin in the Mediterranean region. *Plant Archives*, 19(1), 333-338.
- **Monjauze, A., & Médail, F.** (2004). Le pin d'Alep (*Pinus halepensis*) et le pin brutia (*Pinus brutia*): écologie, distribution, usages et gestion. *Forêt Méditerranéenne*, 25(3), 175–186.
- **Pallardy, S.G.** (2008). Chapter 8 - Lipids, Terpenes, and Related Substances, in: Pallardy, S.G. (Ed.), *Physiology of Woody Plants* (Third Edition). Academic Press, San Diego, pp.217–232. <https://doi.org/10.1016/B978-012088765-1.50009-9>
- **Pardé, J.** (1961). Le pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) en forêt méditerranéenne. *Annales de l'École Nationale des Eaux et Forêts*, 18(3), 233–255.
- **Quézel, P., & Médail, F.** (2003). *Écologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen*. Elsevier, Paris.
- **Ravelonirina, F.** (2022). Les résines végétales : composition chimique et propriétés biologiques. *Revue des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques*
- **Sarri, M., Boudjelal, A., Hendel, N., et al.** (2020). Phytochemical and biological activities of *Pinus halepensis* Mill., and their ethnomedicinal use: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 260, 113046. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113046>
- **Seddik, L., Mahasseni, N., & El Kebir, B.** (2014). Toxicity of the essential oils from some Algerian medicinal plants. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(1), 147–154.
- **Shuaib, M., et al.** (2013). Ethnobotanical use of *Pinus halepensis* in North Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, 146(2), 456-462.
- **Tortora, G. J., & Derrickson, B.** (2017). *Manuel d'anatomie et de physiologie humaines*. De Boeck supérieur.
- **Tortora, G. J., & Derrickson, B.** (2018). *Anatomie et physiologie*. De Boeck supérieur.
- **Zerroug, M. M., Haichour, N., Mezaache Aichour, S., et al.** (2021). Lyophilized aqueous extract of *Pinus halepensis* resin: Chemical composition, antioxidant and antidermatophytic activities. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 11(2), e3423. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.3423>.
- **Zrira, S., Elamrani, A., & Benjilali, B.** (2003). Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Pinus halepensis*. *Annales FST*, 28, 39–44.

Annexes

ANNEXES 1

		
Cassettes d'inclusion	Moules d'enrobage	Lames et lameles
		
Microtome	Bain-marie	Etuve

Matériel nécessaire pour la préparation des lames histologiques

			
Bécher	Fiole jaugé	pHmètre	Balance a précision

Matériel nécessaire pour les tests physicochimique

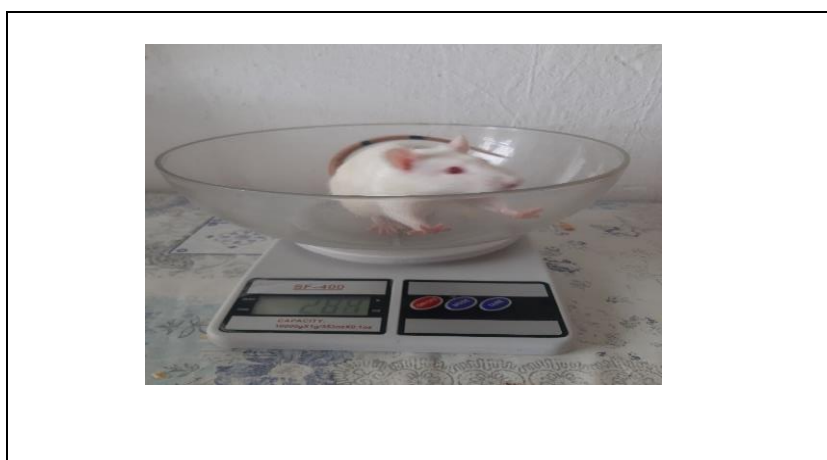
ANNEXES 2



Adminstration du sirop par voie oral (originale 2025)

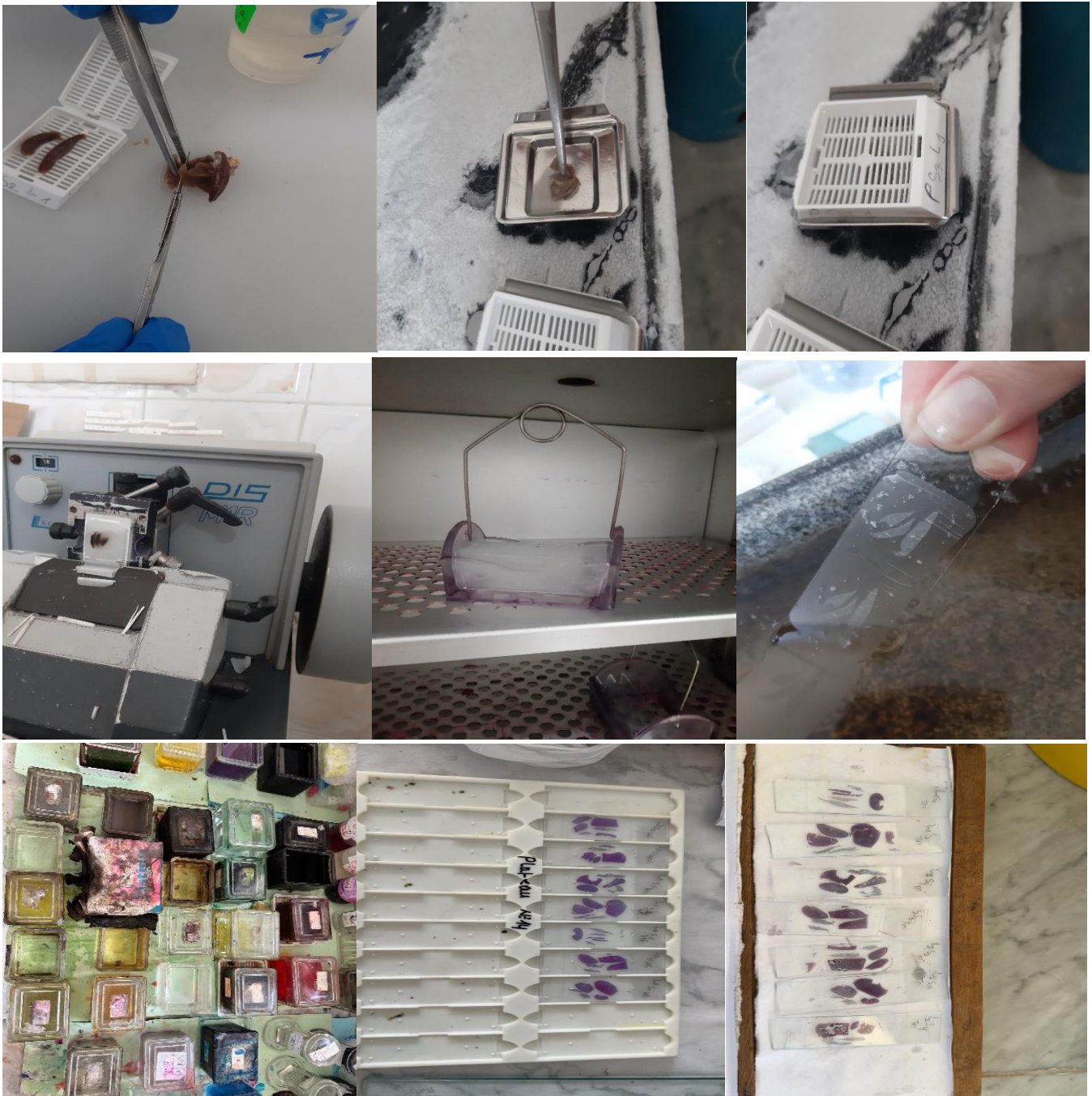


La répartition des rats dans les cages (originale2025)



Le suivi pondéral des rats (originale 2025)

ANNEXES 3



Les étapes de préparation des lames histologiques (originale 2025)