

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE DES FRERES MENTOURI – CONSTANTINE



**FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET ÉCOLOGIE VÉGÉTALE**

N° ordre :
Série :

Thèse

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de

DOCTORAT en SCIENCES

**Filière : Biotechnologie Végétale
Spécialité : Biotechnologie Végétale**

Présenté par

Mr. BOUKELOUA Ahmed

THEME

**EXPLORATION DES POTENTIALITES THERAPEUTIQUES DE LA
PHYTOPHARMACOPEE TRADITIONNELLE ALGERIENNE :
ETUDE DE QUELQUES PLANTES A ACTIVITE CICATRISANTE**

Soutenu le : 15 Décembre 2016

Devant le Jury composé de :

Président	: Khelifi Douadi	Prof	Université des Frères Mentouri Constantine 1
Rapporteur	: Belkhiri Abdelmalik	Prof	Université Constantine 3
Examineurs	: Kabouche Zahia	Prof	Université des Frères Mentouri Constantine 1
	: Merghem Rachid	Prof	Université des Frères Mentouri Constantine 1
	: Djerrou Zouhir	MCA	Université 20 Aout 1955 de Skikda
	: Boulebda Nadji	MCA	Université Mouhammed El Cherif Messaidia de Souk Ahras

Année: 2016 / 2017

Remerciements

Je tiens à remercier mon directeur de thèse le Dr. **Belkhiri Abdelmalik**, professeur au Département de Pharmacie, Faculté de Médecine, Université Constantine 3, d'avoir accepté de diriger mes travaux de thèse avec beaucoup d'attention et de patience. Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance la plus sincère et de ma profonde gratitude.

Je remercie les membres du jury qui ont bien voulu juger ce modeste travail :

- à mon Maître, le Dr. **Khelifi Douadi**, professeur au Département de biochimie, Université des frères Mentouri, Constantine 1, d'avoir accepté de présider le jury, malgré ses multiples préoccupations. Qu'il me soit permis de lui exprimer mes profondes gratitudee ;

- au Dr. **Kabouche Zahia**, professeure au Département de chimie, Université des frères Mentouri, Constantine 1. Je tiens à lui exprimer ma pleine gratitude et reconnaissance pour ses précieuses orientations. Sa totale disponibilité et sa gentillesse incomparable m'ont été d'un grand apport ;

- à mon Maître, le Dr. **Merghem Rachid**, Professeur au département de Biochimie, Université des frères Mentouri Constantine1, pour avoir voulu apprécier ce travail. Qu'il reçoit ici tous mes hommages respectueux ;

- à Mon maître, le Dr. **Boulebda Nadji**, Maître de conférences, Université de Souk Ahras, qui par ses travaux pionniers sur l'évaluation de l'effet cicatrisation du lentisque a permis la mise au point du modèle expérimental utilisé dans notre étude. Qu'il trouve ici toute ma gratitude et ma reconnaissance ;

- au Dr. **Djerrou Zouhir**, Maître de conférences, Université de Skikda. Que je remercie vivement pour son expertise dans la rédaction du premier article issu de ce travail.

Je voudrais exprimer également mes vifs remerciements :

- à la direction et au personnel du laboratoire DUBTAM à l'université Dicle en Turquie, notamment le Directeur Pr. **Hamdi TEMEL**, et le Dr. **Mustafa Yilmaz**, chef de département de chromatographie, qui sans eux ce travail n'aurait pas pu s'accomplir ;

- à la direction et au personnel du laboratoire **CACQE** à Constantine, notamment le chef du département physicochimique et le chef de la section des produits d'origine végétale, qui ont mis à ma disposition le plateau technique pour réaliser les analyses physico-chimiques ;

- Au Pr. **Hamdi Pacha Youcef**, directeur de laboratoire de pharmacologie et de toxicologie, université des frères Mentouri, Constantine 1, dans lequel une grande partie de ce travail a été réalisée.

- Au Pr. **Cheriti Abdelkrim** de l'université de Bechar pour la récolte et le don de l'échantillon d'Argan.

- Finalement à ma petite famille et à mon père qui m'ont épaulé durant toutes les étapes de ce travail, qu'ils trouvent ici mes sincères sentiments de reconnaissance infinie.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*A la mémoire de ma très chère mère **L. ZOHRA**, mère d'amour, de sagesse et de patience, voici l'aboutissement de tes prières éternelles, de tes sacrifices et de ta générosité. Que Dieu nous réunisse un jour dans le paradis des délices...*

Chère mère ... ce travail est le tiens

Ton fils Ahmed

Lexique des abréviations

AG	: <i>Acides gras</i>
AGL	: <i>Acides gras libres</i>
AGME	: <i>Acides gras méthylester</i>
AGMI	: <i>Acides gras monoinsaturé</i>
AGPI	: <i>Acides gras polyinsaturé</i>
AGS	: <i>Acides gras saturés</i>
°C	: <i>Degré Celsius</i>
CL-SM/SM	: <i>Chromatographie liquide couplée à la Spectrométrie de masse en tandem</i>
CPG	: <i>Chromatographie phase gazeuse</i>
DAD	: <i>Diode array detector</i>
DL50	: <i>Dose létale 50%</i>
Equiv.	: <i>Equivalent</i>
ESI	: <i>Electro-Spray-ionisation</i>
IM	: <i>Intramusculaire</i>
J	: <i>Jour</i>
JORF	: <i>Journal Officiel de la République Française</i>
m/v	: <i>Masse par volume</i>
NA	: <i>Norme Algérienne</i>
RT	: <i>Temps de rétention</i>
Temp.	: <i>Température</i>
TFA	: <i>Trifluoroacétamide</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>

Liste des tableaux

Tableau 01 :	Comparaison entre l'exposition et l'effet des tests de toxicité aigu ou chronique.	13
Tableau 02 :	Les Anthocyanes les plus abondants.	19
Tableau 03 :	Classification classique et phylogénique du taxon <i>Argania</i> .	25
Tableau 04 :	Caractéristiques morphologiques de l'Arganier.	26
Tableau 05 :	Usages traditionnels de l'huile d'argan.	30
Tableau 06 :	Composition de l'huile d'argan.	31
Tableau 07 :	Propriétés pharmacologiques de l'huile d'argan.	33
Tableau 08 :	Classification classique et phylogénique du taxon <i>Opuntia</i> .	34
Tableau 09 :	Caractéristiques morphologiques du figuier de Barbarie.	36
Tableau 10 :	Importances socio-économiques de l'figuier de Barbarie et ses produits.	39
Tableau 11 :	Contenu du figuier de Barbarie.	40
Tableau 12 :	Composition de l'huile de figuier de Barbarie.	40
Tableau 13 :	Propriétés pharmacologiques du figuier de Barbarie.	41
Tableau 14 :	Classification classique et phylogénique du taxon <i>Pistacia</i> .	42
Tableau 15 :	Caractéristiques morphologiques de lentisque.	43
Tableau 16 :	Usages traditionnels de lentisque.	47
Tableau 17 :	Composition de l'huile de lentisque.	48
Tableau 18 :	Propriétés pharmacologiques de l'huile d'argan.	49
Tableau 19 :	Quelques médicaments conventionnels pour traiter les plaies et brûlures.	57
Tableau 20 :	Type et normes des différentes déterminations physico-chimiques.	58
Tableau 21 :	Paramètres physico-chimiques.	65
Tableau 22 :	Phytostérols standards (<i>Sigma-Aldrichl</i> , Germany) utilisés dans l'analyse chromatographique (CPG-SM).	67
Tableau 23 :	Composition de la phase mobile, analyse de l'alpha-tocophérol.	68
Tableau 24 :	Description du matériel d'analyse (CLHP-SM/SM).	71
Tableau 25 :	Liste des standards utilisés dans l'analyse chromatographique (CL-SM/SM).	72

Tableau 26 :	Les caractéristiques organoleptiques des différents échantillons.	80
Tableau 27 :	Les propriétés physico-chimiques du matériel végétal.	81
Tableau 28 :	Rendement d'extraction à l'hexane.	82
Tableau 29 :	Propriétés organoleptiques et paramètres physico-chimiques des différentes préparations huileuses.	83
Tableau 30 :	Valeurs de la densité de quelques huiles grasses.	84
Tableau 31 :	Composition des acides gras des trois préparations EHPL , HAS et EHOFL .	86
Tableau 32 :	Contenu en Acides gras saturés vs insaturés (mono et polyinsaturés).	88
Tableau 33 :	Composition en phytostérols (mg/100g) pour les trois extraits huileux.	89
Tableau 34 :	Rendement d'extraction à l'éthanol	93
Tableau 35 :	Teneurs en phénols totaux (PT) et flavonoïdes totaux (FT) des extraits.	94
Tableau 36 :	Temps de rétention (RT) des standards et paramètres de validation de la méthode d'analyse de CL-SM / SM.	96
Tableau 37 :	Identification et quantification par CL-SM/SM des composés phénoliques des 03 extraits alcooliques de PL, OFI et AS.	98
Tableau 38 :	Pourcentages de mortalité en fonction de la dose administrée <i>per os</i> .	102
Tableau 39 :	Pourcentages de mortalité en fonction de la dose administrée <i>per v.i.p.</i>	102
Tableau 40 :	Détermination de l'irritation oculaire des produits testés.	104
Tableau 41 :	Détermination de l'irritation oculaire maximale (I.O.I.).	105
Tableau 42 :	Détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée.	106
Tableau 43 :	Evolution globale du processus cicatriciel des plaies d'excision chez le lapin.	107

Liste des Figures

Figure 01 :	Schéma simplifié de l'effet des composantes d'un extrait sur une ou plusieurs cibles cellulaires.	9
Figure 02 :	Structure de base des phénols.	15
Figure 03 :	Structure générale des coumarines.	15
Figure 04 :	Squelette général de flavonoïdes abondants.	16
Figure 05 :	Squelette général de flavonoïdes rares.	17
Figure 06 :	Quelques flavonols : kaempférol, quercétine, isorhamnétine, myricétine.	17
Figure 07 :	Flavones apigénine et la lutéoline.	17
Figure 08 :	Une partie de la structure moléculaire de flavan-3-ol.	18
Figure 09 :	Structure de base des Anthocyanes.	19
Figure 10 :	Structure et classification des terpènes par le nombre de carbones de molécules isoprénoïdes.	19
Figure 11 :	La structure moléculaire de certains alcaloïdes importants.	21
Figure 12 :	Description botanique de l' <i>Argania spinosa L.</i> Skeels.	26
Figure 13 :	Aire de répartition de l'arganier.	28
Figure 14 :	Présentation d' <i>Opuntia ficus indica L.</i>	36
Figure 15 :	Aire de répartition de figuier de barbarie.	38
Figure 16 :	Description botanique de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	44
Figure 17 :	Aire de répartition de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	46
Figure 18 :	Structure de la peau.	51
Figure 19 :	Courbe de calibration de pyrocatechol pour le dosage des phénols totaux.	69
Figure 20 :	Courbe de calibration de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.	70
Figure 21 :	Morphologie des amandes, des baies et des graines.	80
Figure 22 :	Chromatogramme CPG-SM des AGmethyl estersde HAS.	87

Figure 23 :	Tracés CLHP des trois échantillons (A/EHOFI, B/HAS, C/EHPL).	91
Figure 24 :	Tracé chromatographique témoin des standards.	97
Figure 25 :	Chromatogramme de l'extrait (EAPL).	99
Figure 26 :	Evolution du processus cicatriciel (contraction %) des plaies chirurgicales chez le lapin.	107
Figure 27 :	Photographie de l'évolution chronologique de la cicatrisation des plaies d'excision traitées par les préparations huileuses topiques HAS, EHOFI et EHPL.	108

Sommaire

Remerciement	i
Dédicace	ii
Lexique des abréviations	iii
Liste des tableaux	v
Liste des figures	vi
Sommaire	ix
Introduction Générale	0 2
Partie I : Revue Bibliographique	0 5
Chapitre I: Généralités sur les Plantes médicinales	0 6
I. 1. Introduction	0 6
I. 2. Définitions réglementaires	0 6
I. 2. 1. Médecine traditionnelle (MT)	0 7
I. 2. 2. Plantes médicinales (PM)	0 7
I. 2. 3. Plantes pharmaceutiques (PP)	0 7
I. 2. 4. Substances végétales (SV)	0 7
I. 2. 5. Préparation à base de plantes (PBP)	0 8
I. 2. 6. Constituants à effet thérapeutique (CT)	0 8
I. 2. 7. Principe actif (PA)	0 8
I. 2. 8. Médicament à base de plantes (MBP)	0 8
I. 2. 9. Médicaments Traditionnels à base de plantes (MTBP)	0 8
I. 3. Particularités des plantes médicinales	0 9
I. 4. Méthodologie d'évaluation de l'efficacité/innocuité des plantes médicinales	1 0
I. 4. 1. Etude de la toxicité potentielle des PM	1 1
I. 4. 1. 1. Etudes de toxicité aigüe	1 1
I. 4. 1. 2. Etudes de toxicité à long terme	1 2
I. 4. 2. Etude de l'efficacité potentielle des PM	1 3
I. 5. Métabolites secondaires des plantes	1 4
I. 5. 1. Composés phénoliques	1 4
I. 5. 1. 1. Phénols	1 4
I. 5. 1. 2. Coumarines	1 5

I. 5. 1. 3.	Flavonoïdes	1 6
I. 5. 1. 4.	Anthraquinones	1 8
I. 5. 1. 5.	Tanins	1 8
I. 5. 1. 6.	Anthocyanes	1 8
I. 5. 2.	Terpènes et stéroïdes	1 9
I. 5. 2. 1.	Huiles essentielles	2 0
I. 5. 2. 2.	Saponines	2 0
I. 5. 3.	Alcaloïdes	2 0
I. 5. 4.	Vitamines	2 1
I. 5. 5.	Minéraux et oligoéléments	2 1
I. 6.	Voies de valorisation des plantes et phytothérapie traditionnelles	2 2
Chapitre II: Présentation des plantes étudiées		2 4
II. 1.	Présentation de l'Arganier (<i>Argania spinosa</i>)	2 4
II. 1. 1.	Classification et description botanique de la plante	2 4
II. 1. 1. 1.	Classification	2 4
II. 1. 1. 2.	Caractères botaniques	2 5
II. 1. 2.	Caractéristiques écologiques et répartition géographique	2 7
II. 1. 2. 1.	Caractéristiques écologiques	2 7
	a) Pluviométrie	2 7
	b) Température	2 7
II. 1. 2. 2.	Répartition	2 7
II. 1. 3.	Usages ethnobotaniques de l'arganier	2 8
II. 1. 3. 1.	Importances socio-économiques de l'arganier et de ses produits	2 8
	a) Fruits	2 8
	b) Huile d'argan	2 9
	c) Tourteau	2 9
	d) Bois	2 9
	e) Feuilles	2 9
II. 1. 3. 2.	Utilisations de l'huile de l'argan	3 0
II. 1. 4.	Travaux antérieurs sur l'Arganier	3 1
II. 1. 4. 1.	Etudes phytochimiques de l'Arganier	3 1
II. 1. 4. 2.	Propriétés pharmacologiques de l'arganier	3 2
II. 2.	Présentation de l'espèce <i>Opuntia ficus indica</i> L.	3 4

II. 2. 1.	Classification et description botanique de la plante	3 4
II. 2. 1. 1.	Classification	3 4
II. 2. 1. 2.	Caractères botaniques	3 5
II. 2. 2.	Caractéristiques écologiques et répartition géographique	3 7
II. 2. 2. 1.	Caractéristiques écologiques	3 7
II. 2. 2. 2.	Répartition	3 7
II. 2. 3.	Usages ethnobotaniques du Figuier de Barbarie	3 8
II. 2. 3. 1.	Importances socio-économiques du Figuier de Barbarie et ses produits	3 8
II. 2. 4.	Travaux antérieurs sur le figuier de Barbarie	3 9
II. 2. 4. 1.	Etudes phytochimiques du figuier de Barbarie	3 9
II. 2. 4. 2.	Propriétés pharmacologiques de figuier de Barbarie	4 0
II. 3.	Présentation de l'espèce <i>Pistacia lentiscus</i> L.	4 2
II. 3. 1.	Classification et description botanique de la plante	4 2
II. 3. 1. 1.	Classification	4 2
II. 3. 1. 2.	Caractères botaniques	4 3
II. 3. 2.	Caractéristiques écologiques et répartition géographique	4 5
II. 3. 2. 1.	Caractéristiques écologiques	4 5
	a) Humidité	4 5
	b) Pluviométrie	4 5
	c) Température	4 5
	d) Altitude	4 6
II. 3. 2. 2.	Répartition géographique	4 6
II. 3. 3.	Usages ethnobotaniques de lentisque	4 7
II. 3. 3. 1.	Importances socio-économiques de lentisque et ses produits	4 7
II. 3. 3. 2.	Utilisations de l'huile de lentisque	4 7
II. 3. 4.	Travaux antérieurs sur le lentisque	4 7
II. 3. 4. 1.	Etudes phytochimiques du lentisque	4 7
II. 3. 4. 2.	Propriétés pharmacologiques du lentisque	4 9
Chapitre III: Organisation histo-physiologique et cicatrisation de la peau		5 1
III. 1.	Histologie de la peau	5 1
III. 1. 1.	Épiderme	5 2
III. 1. 2.	Derme	5 2

III. 1. 3.	Hypoderme	5 2
III. 1. 4.	Annexes cutanées	5 3
III. 2.	Physiologie de la peau	5 3
III. 3.	Altération pathologique de la peau	5 3
III. 4.	Cicatrisation de la peau	5 4
III. 4. 1.	Phase préparatoire	5 5
III. 4. 2.	Phase de prolifération	5 6
III. 4. 3.	Phase de remodelage	5 6
III. 5.	Plantes à activité cicatrisante	5 7
III. 6.	Quelques médicaments conventionnels pour traiter les plaies et brûlures	5 8
Partie II : Matériel et Méthodes		5 9
Chapitre I : Matériel et Méthodes		6 0
I. 1.	Matériel végétal	6 0
I. 1. 1.	Récolte du matériel végétal	6 0
I. 1. 2.	Identification du matériel végétal	6 1
I. 2.	Méthodes d'extraction des drogues végétales	6 1
I. 2. 1.	Extraction à l'hexane	6 2
I. 2. 2.	Extraction à l'éthanol	6 3
I. 2. 3.	Extraction de l'insaponifiable et des acides gras	6 3
I. 2. 3. 1.	Préparation de la fraction insaponifiable	6 3
I. 2. 3. 2.	Préparation de la fraction des acides gras libres	6 3
I. 3.	Méthodes d'analyse	6 4
I. 3. 1.	Analyses physico-chimiques	6 4
I. 3. 2.	Analyses des acides gras et phytostérols	6 5
I. 3. 2. 1.	Analyse des acides gras par CPG-SM	6 5
	a) Description de l'appareillage	6 5
	b) Préparation et analyse des acides gras libres	6 5
I. 3. 2. 2.	Analyse des phytostérols	6 6
	a) Description de l'appareillage	6 6
	b) Préparation et analyse des phytostérols	6 7
I. 3. 3.	Analyse par HPLC de l'alpha-tocophérol	6 7
I. 3. 3. 1.	Description de l'appareillage	6 8
I. 3. 3. 2.	Préparation et analyse de l'échantillon	6 8

I. 3. 4.	Dosages des phénols totaux et flavonoïdes totaux	6 8
I. 3. 4. 1.	Dosage des phénols totaux (PT)	6 9
I. 3. 4. 2.	Dosage des flavonoïdes totaux (FT)	7 0
I. 3. 5.	Analyse chromatographique (CLHP-SM/SM) des composés phénoliques	7 1
I. 3. 5. 1.	Equipement et conditions opératoires	7 1
I. 3. 5. 2.	Identification et quantification des composés phénoliques des extraits alcooliques	7 2
I. 4.	Analyses biologiques	7 3
I. 4. 1.	Evaluation de l'innocuité cutanée	7 3
I. 4. 1. 1.	Test d'irritation oculaire	7 3
I. 4. 1. 2.	Test d'irritation primaire cutanée	7 4
I. 4. 2.	Test de toxicité aiguë	7 5
I. 4. 2. 1.	Animaux	7 5
I. 4. 2. 2.	Protocole	7 5
I. 4. 3.	Evaluation de l'activité cicatrisante	7 6
I. 4. 3. 1.	Animaux	7 6
I. 4. 3. 2.	Protocole	7 6
	a) Modèle de plaie d'excision	7 7
	i. Mode opératoire	7 7
	ii. Préparation et anesthésie générale	7 7
	iii. Excision chirurgicale des plaies	7 7
	b) Traitement des plaies	7 7
I. 4. 3. 3.	Mesures des paramètres de progression	7 7
I. 4. 3. 4.	Analyses statistiques	7 8
Partie III : Résultats et Discussion		7 9
Chapitre I : Résultats et Discussion		8 0
I. 1.	Caractérisation organoleptique préliminaire des drogues végétales	8 0
I. 2.	Détermination des taux de protéines, cendres et eau des DV	8 1
I. 3.	Caractérisations physico-chimiques des préparations huileuses	8 2
I. 3. 1.	Rendement d'extraction à l'hexane	8 2
I. 3. 2.	Analyses organoleptiques et physico-chimiques préparations huileuses (EHPL, EHOFI et HAS)	8 2
	i) Densité	8 3
	ii) Indice de réfraction (IR)	8 4

iii) Indice d'acide (IA)	8 4
iv) indice de saponification (IS)	8 5
I. 4. Caractérisations par CPG-SM des acides gras et phytostérols des préparations huileuses	8 5
I. 4. 1. Caractérisations chromatographiques (CPG-SM) des acides gras	8 6
I. 4. 2. Caractérisations chromatographiques (CPG-SM) des phytostérols	8 9
I. 5. Dosage par CLHP de l'alpha-tocophérol des préparations huileuses	9 1
I. 6. Analyse des composés phénoliques des extraits alcooliques (EAPL, EAOFI, EAAS)	9 3
I. 6. 1. Dosage des phénols (PT) et des flavonoïdes totaux (FT)	9 3
I. 6. 2. Caractérisation du profil en composés phénoliques par CL-SM/SM.	9 5
I. 7. Analyses biologiques	1 0 1
I. 7. 1. Etudes toxicologiques	1 0 1
I. 7. 1. 1. Toxicité aiguë	1 0 1
I. 7. 1. 2. Etudes de l'innocuité	1 0 4
a) Irritation oculaire	1 0 4
b) Irritation cutanée	1 0 5
I. 7. 2. Evaluation de l'activité cicatrisante	1 0 6
Conclusion générale	1 1 1
Référence bibliographiques	1 1 6
Annexe	
Publications	
ملخص	
Abstract	
Résumé	

INTRODUCTION

Introduction

Bien que de nos jours la médecine moderne soit bien développée presque partout dans le monde, une proportion non négligeable de la population dans les pays en développement compte encore sur la médecine traditionnelle et les remèdes à base de plantes pour leurs soins de base. De même, l'intérêt du grand public dans les pays industrialisés pour les thérapies naturelles, notamment la phytothérapie, a considérablement augmenté (Iserin, 2001).

On estime que le nombre de plantes dans le monde entier entre 350.000 à 400.000 espèces, dont 10% possèdent des propriétés médicinales et sont utilisées de nos jours dans le cadre de la médecine traditionnelle (OMS, 2000). Parmi les 35.000 à 40.000 espèces médicinales, seul un très faible pourcentage a fait l'objet d'études scientifiques approfondies (phytochimique, pharmaco-toxicologique, clinique). De ce fait, le potentiel de trouver de nouvelles molécules aux propriétés remarquables pour le développement de nouvelles générations de médicaments est énorme (Iserin, 2001).

Aujourd'hui, la thérapeutique continue de recourir aux plantes de deux façons :

- par l'extraction industrielle de molécules naturelles, destinées le plus souvent à des indications thérapeutiques majeures, cas des médicaments anticancéreux (paclitaxel, vinblastine), médicaments antipaludiques (quinine, artémisinine), etc. ;
- par la transformation en formes galéniques (poudres, extraits, etc.), matières premières dans la formulation des médicaments à base de plantes.

Ce second usage correspond aux médicaments de phytothérapie, généralement utilisés dans des indications thérapeutiques mineures (Bruneton, 1999). Ainsi, les plaies et brûlures légères sont classées comme une pathologie mineure. Leur traitement se fait avec beaucoup d'efficacité par les médicaments de phytothérapie (ex. Madecassol®).

La phytopharmacopée Algérienne comporte des potentialités thérapeutiques non ou peu explorés. Plusieurs plantes sont utilisées traditionnellement dans le traitement local des plaies ou des brûlures non infectées (Baba Aissa, 2011 ; Boulos, 1983). C'est le cas du lentisque (*Pistacia lentiscus*), du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*) et de l'arganier (*Argania spinosa*). Ces plantes bien connues en médecine traditionnelle, renferment dans leurs fruits une partie huileuse aux propriétés cicatrisantes étonnantes, particulièrement recherchées par les populations pour traiter les plaies et brûlures et pour soigner toutes autres sortes d'affections cutanées (irritations, eczéma, etc.).

Malgré la reconnaissance de l'efficacité de ces plantes en médecine traditionnelle dans le traitement des plaies et brûlures, les données de validation de cet usage selon la rigueur scientifique demeurent insuffisantes.

Au vue de l'importance de ces plantes médicinales et de leur usage traditionnel bien établi comme cicatrisant, des études de validation scientifique précliniques et cliniques s'imposent, non seulement quant à leur efficacité, mais aussi à leur innocuité.

Dans le cadre de l'axe de recherche du laboratoire de pharmacologie et toxicologie (UC1), « Exploration des Potentialités Thérapeutiques de la Phytopharmacopée Traditionnelle Algérienne », cette étude s'est intéressée aux vertus cicatrisantes du lentisque (*Pistacia lentiscus*), du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*) et de l'arganier (*Argania spinosa*).

L'objectif général de ce travail est de caractériser ces plantes médicinales sur le plan chimique, pharmacologique et toxicologique en relation avec l'usage traditionnel comme cicatrisant.

Les objectifs spécifiques à atteindre sont triples :

- évaluer leur activité cicatrisante sur des plaies d'excision chez l'animal ;
- mesurer leur innocuité (oculaire, cutanée et toxicité aigüe) chez l'animal ;
- caractériser leurs compositions physicochimiques et phytochimiques.

Ce travail a été réalisé conjointement entre le laboratoire de pharmacologie et toxicologie de l'Université des frères Mentouri Constantine (Algérie), et le département de chimie pharmaceutique de la faculté de pharmacie de l'Université de Dicle (Turquie).

Sur le plan organisationnel, le manuscrit est divisé en trois principales parties :

- La première partie concerne une revue bibliographique du thème traité. Elle comprend des généralités sur les plantes médicinales et les principes généraux pour leur évaluation, en plus d'une revue la plus exhaustive possible sur les plantes étudiées, notamment les aspects botaniques, chimiques et pharmaco-toxicologiques. Cette partie traite aussi la peau, son organisation histo-physiologique et le processus de la cicatrisation ;
- La deuxième partie, présente la partie matériel er méthodes ;
- Et la troisième partie, les résultats et leur discussion.

Le manuscrit est finalisé par une conclusion générale et les références bibliographiques. Des documents de référence sont insérés dans la partie des annexes.

Partie I

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES PLANTES MEDICINALES

I.1. Introduction

Pendant des millénaires, l'utilisation des plantes médicinales fut le principal recours pour guérir l'homme. Après un net recul depuis l'avènement de la chimie médicinale de synthèse, les plantes reviennent sous un habillage nouveau et occupent de nos jours une place importante dans nos pharmacies (Gilles, 1976 ; Iserin, 2001).

Plusieurs raisons peuvent être évoquées à l'origine de ce renouveau de la phytothérapie. Les effets secondaires des médicaments classiques ou chimiques de plus en plus nombreux, auxquels il faut ajouter le phénomène de résistance des antibiotiques actuels vis-à-vis des bactéries et des virus sont parmi les causes les plus communes du rejet des médicaments chimiques conventionnels. D'autres raisons peuvent être citées, mais c'est certainement la confiance du consommateur et son retour vers tout ce qui est naturel qui explique cette volteface.

Reconnue depuis de nombreuses années et soumise à des normes strictes, la phytothérapie a fait des progrès importants grâce à de nombreux travaux scientifiques et de recherches. Le développement de ces connaissances a contribué au prestige et à la popularité des médicaments à base de plantes.

Dans ce chapitre 1 seront abordés les fondements pharmacodynamiques des plantes médicinales, ainsi que la méthodologie de la recherche concernant leur innocuité et leur efficacité.

I.2. Définitions réglementaires

Pour des raisons de clarté, un certain nombre de termes usuels utilisés dans la suite du manuscrit doivent être compris dans le sens précis que leur donne actuellement la réglementation internationale (OMS, 1998 ; OMS, 2000).

I.2.1. Médecine traditionnelle (MT)

La médecine traditionnelle peut être définie comme étant l'ensemble de toutes les connaissances, de toutes les compétences et de toutes les pratiques qui reposent, rationnellement ou non, sur les théories, croyances et expériences, transmises de génération en génération, oralement ou par écrit, propres à une culture d'une société humaine et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales ou éliminer un déséquilibre social, moral et spirituel.

Dans certains pays, les appellations médecine parallèle, alternative ou complémentaire sont synonymes de médecine traditionnelle.

Les thérapies traditionnelles sont des thérapies qui utilisent diverses pratiques ne faisant pas appel à des médicaments. Elles comprennent entre autres l'acupuncture et les techniques connexes, la chiropraxie, l'ostéopathie, les thérapies manuelles, le qi gong, le tai-chi, le yoga, la naturopathie, le thermalisme, et d'autres thérapies physiques, mentales, spirituelles et des thérapies impliquant l'esprit et le corps.

I.2.2. Plante médicinale (PM)

Toute plante, spontanée ou cultivée, utilisée dans un but thérapeutique. Les plantes fournissent les substances végétales brutes (drogues végétales), telles que feuilles, fleurs, fruits, etc.

I.2.3. Plantes pharmaceutiques (PP)

Ce sont des plantes présentant un intérêt pour l'industrie pharmaceutique pour ses propriétés médicinales ou comme source de substances d'intérêt (principes actifs, formes galéniques, produits de formulation, etc.).

I.2.4. Substances végétales (SV)

L'ensemble des plantes, parties de plantes, algues, champignons, lichens, principalement entiers, fragmentés ou coupés, utilisés en l'état, le plus souvent desséchés, mais parfois frais.

Certains exsudats n'ayant pas subi de traitements spécifiques sont également considérés comme des substances végétales. Les substances végétales sont précisément définies par la partie de la plante utilisée et la dénomination botanique selon le système à deux mots (genre, espèce, variété et auteur).

I.2.5. Préparation à base de plantes (PBP)

Les préparations obtenues par traitement de substances végétales, tel que l'extraction, la distillation, l'expression, le fractionnement, la purification, la concentration ou la fermentation. Elles comprennent les substances végétales concassées ou pulvérisées, les teintures, les extraits, les huiles essentielles, les jus obtenus par pression et les exsudats traités.

I.2.6. Constituants à effet thérapeutique (CT)

Sont des substances ou groupes de substances, chimiquement définis, dont la contribution à l'effet thérapeutique d'une SV ou d'une PBP est connue.

I.2.7. Principe actif (PA)

Dans le contexte particulier des « médicaments à base de plantes », il désigne des SV ou PBP, que les CT soient connus ou non. En langage, le terme PA se substitue à CT (ex. morphine est l'un des principes actifs du pavot somnifère).

I.2.8. Médicament à base de plantes (MBP)

Tout médicament dont les substances actives sont exclusivement une ou plusieurs substances végétales ou préparations à base de plantes ou une association d'une ou de plusieurs substances végétales ou préparations à base de plantes.

I.2.9. Médicaments traditionnels à base de plantes (MTBP)

Tout MBP ; dont les données sur l'usage traditionnel sont suffisantes en particulier l'innocuité du produit ; est démontrée dans les conditions d'emploi spécifiées et les effets

pharmacologiques ou l'efficacité du médicament sont plausibles du fait de l'ancienneté de l'usage et de l'expérience.

I.3. Particularités des plantes médicinales

L'action des plantes médicinales sur l'organisme dépend de leur composition chimique. Celle-ci est constituée de centaines, voire des milliers de substances chimiques, dont certains sont pourvus d'effets pharmacologiques, voir même toxicologiques. La recherche de ces derniers est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels. Bien qu'il soit utile de connaître les principes actifs d'une plante médicinale, la valeur de cette plante ne peut jamais être limitée à la liste de ses principes actifs. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants (Wagner et al. 2009).

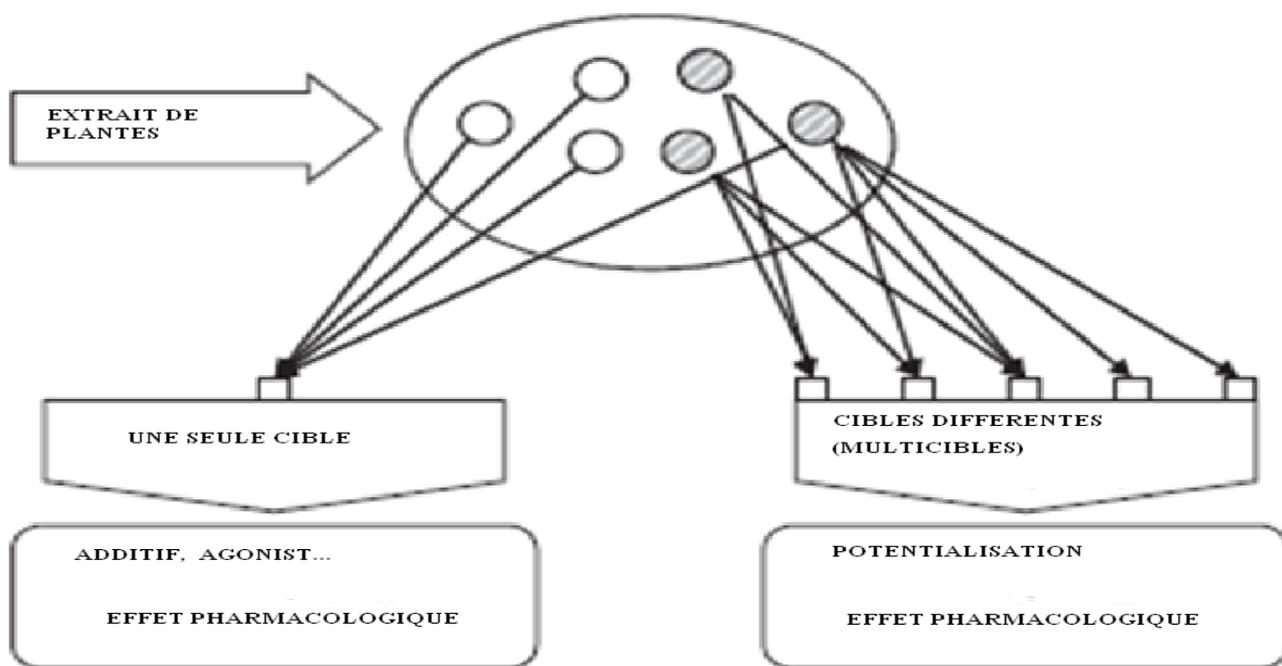


Figure 1 : Schéma simplifié de l'effet des composantes d'un extrait sur une ou plusieurs cibles cellulaires (d'après Wagner et al. 2009).

Ce succès de la plante vs molécule peut être expliqué par des phénomènes complexes de synergisme (figure 1), qui peuvent se traduire par différents effets (Wagner et al. 2009) :

- Effets multi-cibles synergiques ;
- Effets " Pharmacocinétiques " conduisant à une amélioration de la solubilité (biodisponibilité) ;
- Elimination ou neutralisation des effets indésirables d'une molécule par d'autres présents dans l'extrait.

Ainsi, les plantes médicinales ont leurs particularités, et il est très difficile de reproduire l'effet global de la plante entière ou "Totum" à partir de ses principes actifs isolés.

Sur le volet innocuité des plantes médicinales, certaines d'entre elles provoquent des effets secondaires et peuvent interagir avec les médicaments conventionnels (Bruneton 2002 ; Wagner et al. 1984). Comme tous les médicaments, les plantes médicinales doivent être employées avec précaution. Il est recommandé de n'utiliser une plante que sur les conseils d'un spécialiste afin de limiter les effets toxiques et les effets secondaires (Gilles, 1976 ; Iserin, 2001).

I.4. Méthodologie d'évaluation de l'efficacité / innocuité des plantes médicinales

Bien que les plantes médicinales traditionnelles existent depuis des temps immémoriaux, il est nécessaire de procéder à des recherches scientifiques sur leur efficacité et innocuité pour conforter les indications thérapeutiques traditionnelles.

Les activités de recherche et d'évaluation concernant les plantes médicinales doivent se conformer aux principes directeurs concernant la recherche pour évaluer l'innocuité et l'efficacité des médicaments à base de plantes de l'OMS (OMS, 2000).

Quand il s'agit d'évaluation de l'innocuité et de l'efficacité d'un produit, l'effet pharmacologique/toxicologique observé *in vitro* (tests biochimiques ou cellulaires) ou *in vivo* (chez des modèles animaux) n'est pas nécessairement applicable aux humains. Les données *in vitro* doivent être considérées comme des indicateurs d'efficacité / toxicité potentielle, mais non comme des marqueurs absolus. Pour leur part, les données *in vivo* des essais sur les animaux sont plus indicatives de l'efficacité/toxicité et peuvent être considérées comme des

marqueurs relativement plus significatifs. Cependant ces données expérimentales (*in vivo* et *in-vitro*) doivent être étayées par des essais cliniques pour prouver avec certitude l'efficacité / innocuité absolue chez l'homme (OMS, 2000).

Dans cette partie, nous aborderons sommairement les méthodes recommandées pour l'évaluation non cliniques des plantes médicinales (OMS, 1993), ainsi qu'un descriptif des modèles expérimentaux utilisées pour l'évaluation de l'activité cicatrisante et de la toxicité des produits topiques à base de plantes.

I.4.1. Etude de la toxicité potentielle des PM

Les méthodes réglementaires indiquent les études toxicologiques non cliniques pour évaluer l'innocuité des plantes médicinales. Elles ne seront pas toutes requises pour chacun des plantes médicinales destinées à l'homme. Ces méthodes réglementaires concernant l'étude de la toxicité potentielle des plantes médicinales peuvent être classées en deux grandes études : (OMS, 1993) (voir annexe 1).

I.4.1.1. Etude de toxicité aiguë

Concernant l'espèce ; le sexe et le nombre du modèle animal ainsi que la voie d'administration utilisée pour l'étude de la toxicité aiguë, certains organismes de réglementation préconisent l'utilisation d'au moins deux espèces animales différentes, dont l'une appartenant aux rongeurs, et pour au moins une des espèces choisies, il doit y avoir des animaux des deux sexes ; mâle et femelle. Chaque groupe doit comprendre au moins cinq animaux par sexe. D'ordinaire, la voie orale suffit étant donné qu'il s'agit de la voie normale d'administration. Toutefois, certains organismes de réglementation préconisent en outre la voie parentérale pour les essais chez l'animal. Un nombre suffisant de niveaux différents de dose doivent être utilisés le modèle animal pour déterminer la dose létale approximative, ainsi que l'observation de signes manifestés de toxicité. L'administration doit être effectuée en une ou plusieurs fois sur une période de 24 heures. Les signes de toxicité, leur sévérité, apparition, progression et réversibilité doivent être observés et notés en fonction de la posologie et du moment. En règle générale, il convient d'observer les animaux pendant 7 à 14 jours. Les animaux morts et

survivants pendant la période d'observation doivent être autopsiés. Au besoin, on procédera à un examen histopathologique des organes ou tissus lésés.

I.4.1.2. Etude toxicité à long terme

Les organismes de réglementation préconisent l'utilisation d'au moins deux espèces animales, dont l'une appartenant aux rongeurs. D'ordinaire, il convient d'utiliser autant de mâles que de femelles, chaque groupe doit comprendre au moins dix animaux par sexe. . En principe, la substance expérimentale doit être administrée tous les jours, à partir de 14 jours jusqu'à 3 mois. La durée d'administration de l'étude doit être inscrite au regard de chaque résultat. Il faut prévoir des groupes pour au moins trois niveaux de dose différents. Un niveau ne doit pas causer d'effets toxicologiques (dose sans effet) et un autre doit produire des effets toxicologiques manifestés. Dans cette fourchette, l'adjonction d'au moins un autre niveau de dose augmente la possibilité d'observer une relation dose-réaction. Toutes les études doivent inclure un groupe témoin d'animaux d'expérience chez lequel on n'administre que le véhicule. Les points A à E ci-dessous doivent faire l'objet d'observations et d'examens :

- A. Signes généraux, poids corporel et quantité de nourriture et d'eau absorbée.
 - B. Examen hématologique, les échantillons de sang doivent être prélevés à l'autopsie.
 - C. Examen des fonctions rénales et hépatiques : les prélèvements sanguins et urinaires doivent être soumis à un examen biochimique. En outre, dans la mesure du possible, il convient de peser les organes et effectuer des examens histopathologiques pour essayer d'identifier la cause de la mort et la nature (sévérité ou degré) des effets toxiques présents.
 - D. Animaux morts.
 - E. Animaux moribonds : afin de maximiser la quantité d'informations utiles que l'on peut obtenir pendant la période l'administration, il faut sacrifier tous les animaux moribonds plutôt que de les laisser mourir. Il faudra auparavant noter les observations cliniques et prélever des échantillons sanguins pour des analyses hématologiques et de chimie sanguine.
-

Pour étudier la disparition des effets toxiques, il faut examiner les animaux que l'on laisse vivre pendant plus ou moins longtemps après avoir cessé de leur administrer la substance expérimentale.

Une comparaison entre l'exposition (aigue ou chronique) et l'effet toxique (aigu ou chronique) des différents tests de toxicité est présentée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Comparaison entre l'exposition et l'effet des tests de toxicité aigue ou chronique*

Exposition	Fréquence	Durée	Effet toxique	
			Aigu	Chronique
Aigue	Unique	≥ 24 heures	Effet à court terme à la suite d'une exposition à court terme	Effet à long terme à la suite d'une exposition à court terme
Chronique	Réitérée	De 3 mois à ≤ 1 ans	Effet à court terme à la suite d'une exposition à long terme	Effet à long terme à la suite d'une exposition à long terme

*(Derache, 1986 ; Reichl, 2004)

I.4.2. Etude de l'efficacité potentielle des PM

Quand il s'agit d'évaluation de l'efficacité d'un produit à base de plante, l'effet pharmacologique observé *in vitro* (tests biochimiques ou cellulaires) ou *in vivo* (chez des modèles animaux) n'est pas nécessairement applicable aux humains. Ces données expérimentales (*in vivo* et *in-vitro*) doivent être étayées par des essais cliniques pour prouver avec certitude l'efficacité absolue chez l'homme. Les données *in vitro* doivent être considérées comme des indicateurs d'efficacité potentielle, mais non comme des marqueurs absolus, mais plutôt des marqueurs relativement plus significatifs (OMS, 2000).

L'évaluation de l'efficacité des plantes médicinales s'établit sur des études qualitatives et quantitatives appropriées. Il existe plusieurs types d'études qui nous permettent d'évaluer les effets cicatrisants des plantes ayant un grand potentiel thérapeutique dans cet usage, On peut les classer dans quatre catégories :

- Des études Théoriques par modélisation (ex. : structure-activité).
- Des études in vitro, effectuées sur des cultures de tissus ou des cellules;
- Des études expérimentales in vivo, qui utilisent des animaux (ex. : lapin, rat et souris); pour l'évaluation des potentialités thérapeutiques à activité cicatrisantes sur des plaies et brulures expérimentales.
- Des études épidémiologiques ou les études de cas, qui se rapportent à la répartition, la fréquence et la gravité des plaies et brulures, en comparant plusieurs groupes d'individus ;
- Des études ethnobotaniques et ethnopharmacologiques, elle consiste à aller demander à la médecine traditionnelle les méthodes de traitement des plaies et brulures. Les données recueillies font l'objet d'analyse par le recours à des indices quantitatifs, permettant d'évaluer l'importance relative d'une plante médicinale en termes de connaissance et d'utilisations dans une région donnée, de comparer les résultats avec les données relatives à des ouvrages de référence publiés dans le domaine de cicatrisation, et enfin développer de nouveaux médicaments (Bellakhdar, 2008 ; Heinrich, 2000 ; Trindade Medeiros et al., 2011).

I.5. Métabolites secondaires des plantes

Les effets curatifs de certaines plantes sont bien connus. Or, ce n'est que récemment que les éléments actifs à l'origine de ces effets curatifs ont été isolés et étudiés. Il est indispensable de connaître la composition des plantes pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme. (Cuyckens, 2002 ; Iserin, 2001). Les métabolites secondaires sont des molécules synthétisées par des plantes, qui sont responsables de nombreuses activités biologiques, et qui jouent un rôle important dans la santé humaine. Les plantes dites médicinales représentent la principale source de nouvelles molécules bioactives (Ivanova et al., 2005 ; Mandal et al., 2007). Parmi les métabolites secondaires importants fournis par les plantes, on peut les classer dans leurs grandes familles chimiques (Croteau et al., 2000 ; Dewick, 2009) :

I.5.1. Composés phénoliques

I.5.1.1. Phénols

Il existe une grande variété de phénols, de composés simples de structure générale C₆-C₁ (**acide salicylique**), à des substances plus complexes (composés phénoliques C₆-C₂). Les plantes, en les produisant, cherchent à s'assurer contre les infections, et les insectes phytophages. Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et peuvent avoir des propriétés antivirales (Bruneton, 1999 ; Cuyckens, 2002).

Tableau 1: Les phénols les plus abondants dans la nature (Yang et al., 2001).

Composé	R1	R2	R3	R4
acide salicylique	H	H	H	OH
acide protocatechique	OH	OH	H	H
acide vanillique	OCH ₃	OH	H	H
acide gallique	OH	OH	OH	H
Acide syringique	OCH ₃	OH	OCH ₃	H

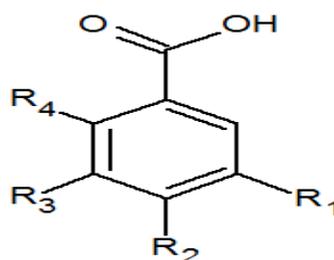
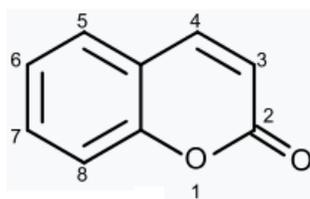


Figure 2 : Structure de base des phénols.

I.5.1.2 Coumarines

Les coumarines de structure générale C₆-C₃, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses, elles contribuent à fluidifier le sang alors que les furanocoumarines comme le bergaptène, contenu dans le cèleri (*Apium graveolens*), soignent les affections cutanées et que la khelline de la khella (*Ammi visnaga*) est un puissant vasodilatateur coronarien. (Bruneton, 1999 ; Iserin, 2001).



Coumarine

Figure 3 : Structure générale des coumarines.

I.5.1.3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques avec un squelette carboné de 15 atomes (C₆-C₃-C₆) sous forme de deux ou trois cycles aromatiques. Ces composés sont la classe la plus fréquente des polyphénols dans les végétaux. En outre, les Flavones, les flavonols, les flavones-3-ol, et les isoflavones (Figure 4) constituent les principales sous-classes de flavonoïdes, tandis que les dihydroflavonols, les flavane-3,4-diol, les chalcones, et dihydrochalcones (Figure 5) sont des flavonoïdes relativement rares. Les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques qui contribuent à colorer les fleurs et les fruits. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus antioxydants, anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie. Des flavonoïdes comme l'hespéridine et la rutine renforcent les parois des capillaires et préviennent l'infiltration dans les tissus voisins. Les isoflavones, à effets oestrogéniques par exemple, sont efficaces dans le traitement des troubles liés à la ménopause (Bruneton, 1999 ; Harborne, 1993).

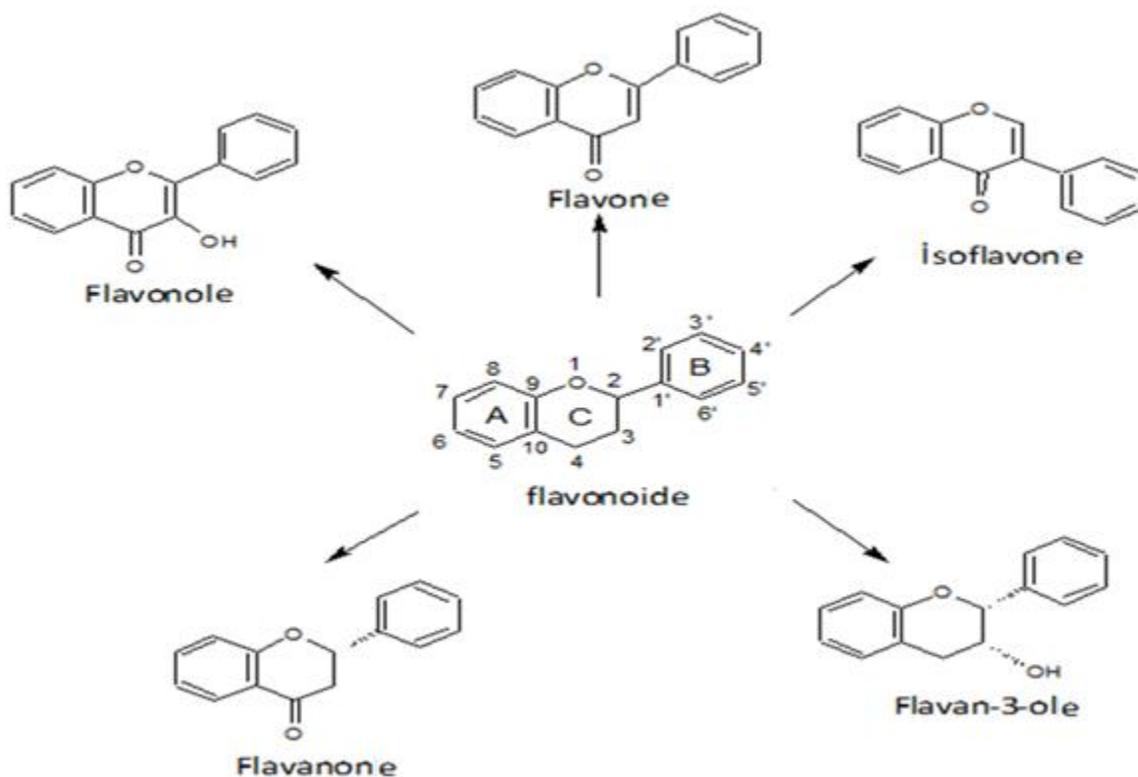


Figure 4 : Squelette général de flavonoïdes abondants

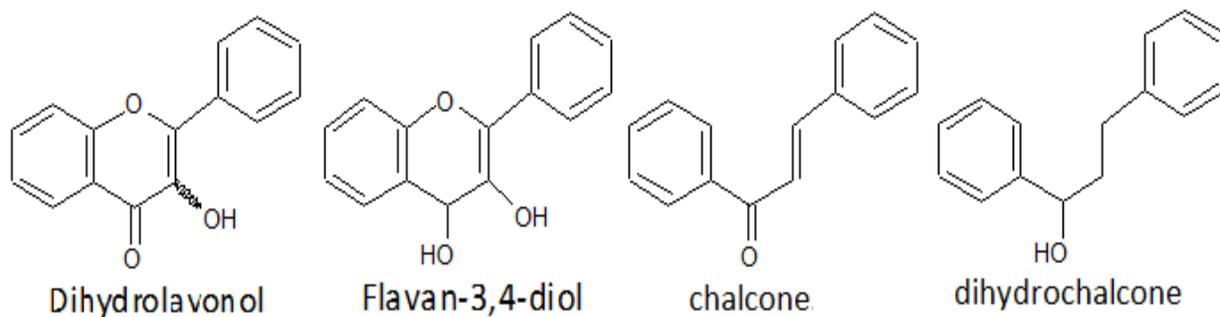


Figure 5 : Squelette général de flavonoïdes rares.

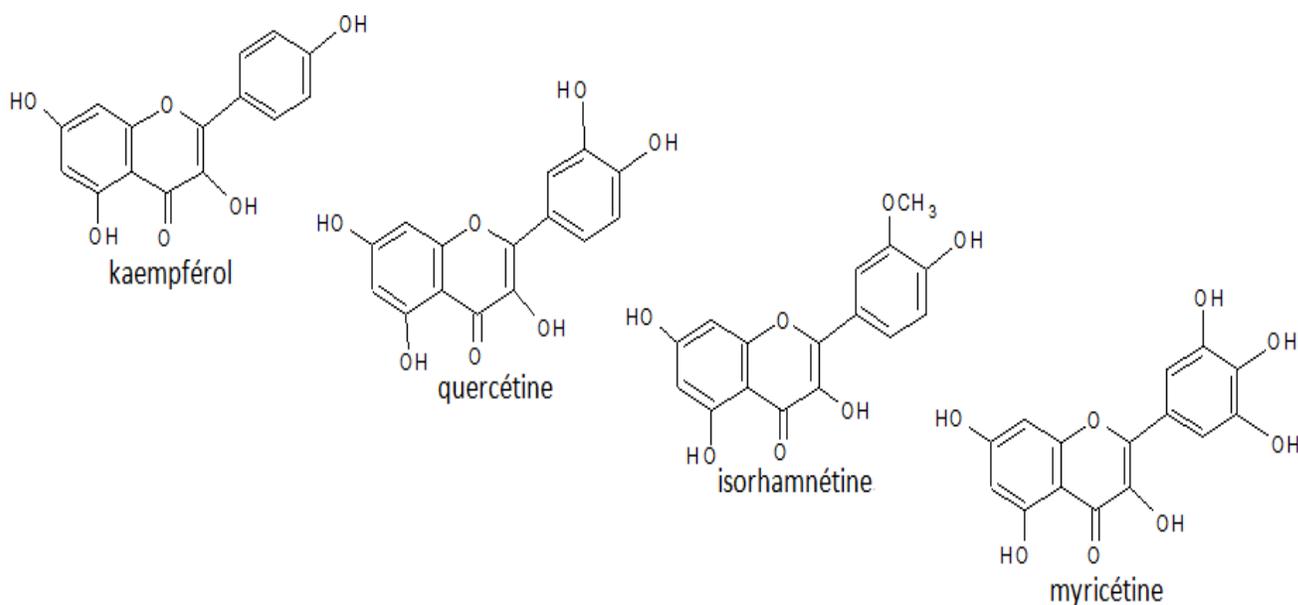


Figure 6 : Quelques flavonols : kaempférol, quercétine, isorhamnétine, myricétine. (Strack et Wray, 1992).

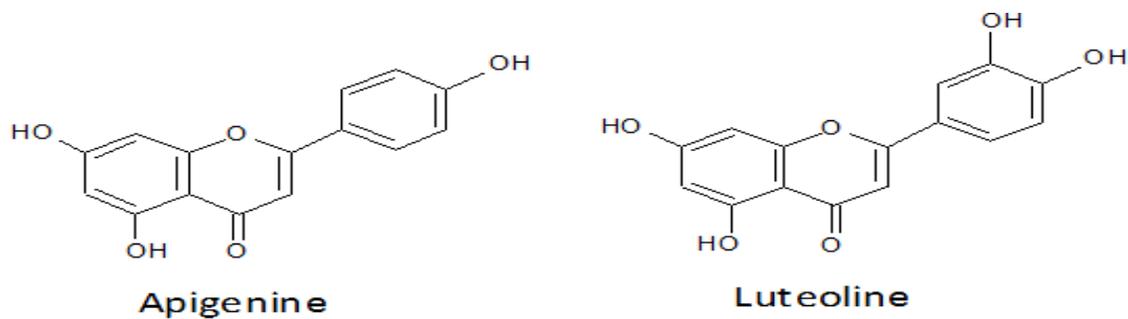


Figure 7 : Flavones apigénine et la lutéoline (Gaitan et al., 1989).

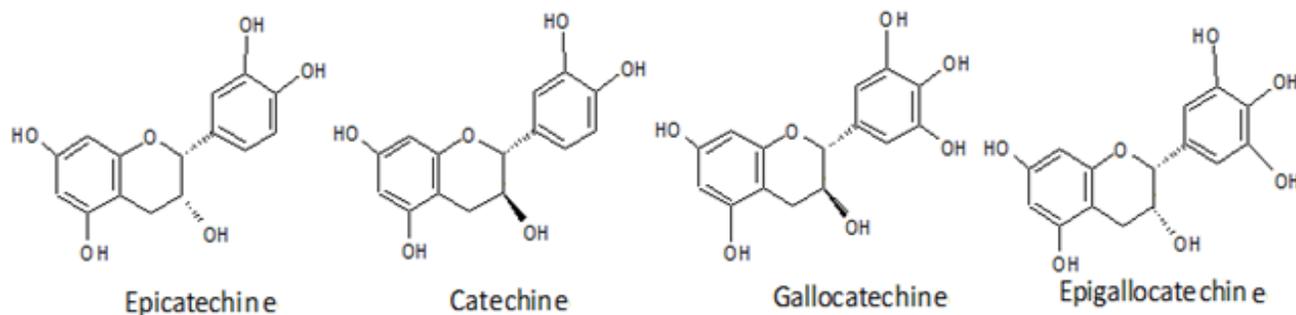


Figure 8 : Une partie de la structure moléculaire de flavan-3-ol (Clifford, 1986).

I.5.1.4. Anthraquinones

Ce sont les principaux constituants de plantes comme le séné (*Cassia senna*) et la rhubarbe de Chine (*Rheum palmatum*), qui agissent sur la constipation par leurs effets irritant et laxatif. (Iserin, 2001).

I.5.1.5. Tanins

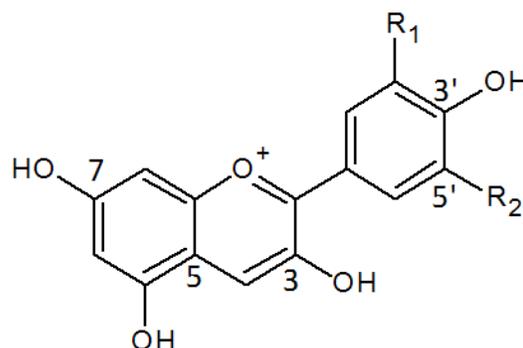
Les tanins donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail. Ils sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant et en précipitant les protéines, d'où leur emploi pour tanner les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (Cuyckens, 2002 ; Iserin, 2001).

I.5.1.6. Anthocyanes

Les anthocyanes, largement distribués dans le monde végétal, sont issus de l'hydrolyse des anthocyanidines (flavonoïdes et flavones), qui donnent aux fleurs et aux fruits leurs teintes bleue, rouge ou pourpre, afin de les protéger contre la lumière excessive, et attirer les insectes pollinisateurs. Ces composés existent sous forme de conjugués de sucre connus comme les anthocyanines dans le tissu végétal. Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres. Ils maintiennent une bonne circulation, notamment dans les régions du cœur, des mains, des pieds et des yeux (Iserin, 2001 ; Oliveira et al., 2010).

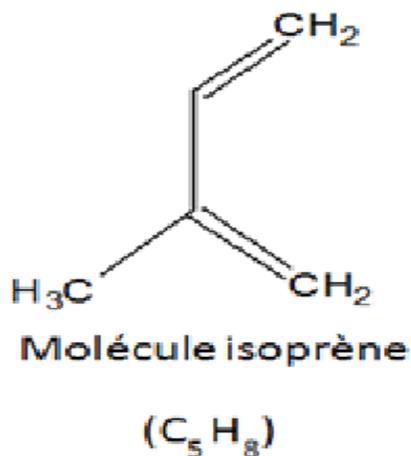
Tableau 2 : Les Anthocyanes les plus abondants (Oliveira et al., 2010)

Anthocyanes	R ₁	R ₂	P.M.
Pélagonidine	H	H	271
Cyanidine	OH	H	287
Delphinidine	OH	OH	303
Péonidine	OCH ₃	H	301
Pétunidine	OCH ₃	OH	317
Malvidine	OCH ₃	OCH ₃	331

**Figure 9:** Structure de base des Anthocyanes

I.5.2. Terpènes et stéroïdes

Les terpènes ou isoprénoïdes formés par condensation de molécules d'isoprène, sont des métabolites secondaires très divers et très communs dans le monde végétal **figure 10**. Composés terpéniques, dans la plupart des tissus végétaux, ils sont trouvés à l'état libre ou associé avec soit des esters organiques ou de protéines (Sönmez, 1995).



n	Nom
10	Monoterpène
15	Sesquiterpène
20	Diterpène
25	Sesterpène
30	Triterpène
40	Tetraperpène
100-	Polyterpène

Figure 10 : Structure et la classification des terpènes par le nombre de carbones de molécules isoprénoïdes (Dewick, 2009).

Les Terpènes peuvent être divisés en deux catégories en fonction de leurs caractéristiques physiques:

- Terpènes volatils, également connus comme les huiles essentielles et les terpènes petites molécules qui peuvent être déplacées avec la vapeur d'eau ;
- Terpènes non volatiles: les terpènes qui ont des sesquiterpènes, des molécules plus grosses, diterpènes, des triterpènes et sesquiterpènes (Devon et Scott, 1972).

I.5.2.1 Huiles essentielles

Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles sont largement employées en parfumerie. Les huiles essentielles contenues telles quelles dans les plantes sont des composés oxygénés, possédant un noyau aromatique. Elles ont de multiples propriétés, par exemple : antioxydant et antiseptique. (Bruneton, 1999 ; Iserin, 2001).

I.5.2.2 Saponines

Les saponines doivent leur nom au fait que, comme le savon, elles produisent de la mousse quand on les plonge dans l'eau. Elles existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpénoïdes. La structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines (Œstrogène, cortisone), et de nombreuses plantes qui en contiennent ont un effet sur l'activité hormonale. Les saponines triterpénoïdes, ont une activité hormonale moindre. Elles sont souvent expectorantes et facilitent l'absorption des aliments (Iserin, 2001).

I.5.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes possèdent une molécule d'azote qui les rend pharmaceutiquement très actifs, en l'occurrence : le papaver, la morphine, la codéine, la caféine, la quinine et la sanguinarine, ...etc. Certains ont des vertus thérapeutiques avérées. C'est le cas d'un dérivé de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*) employé pour traiter certains types de cancer. D'autres alcaloïdes, comme l'atropine, présente dans la belladone (*Atropa belladonna*), ont une action directe sur le corps : activité sédatrice, effets sur les troubles nerveux. En outre, 20 % de la

défense des plantes contre les agents pathogènes et les herbivores est assurée par les alcaloïdes (Brunton, 1999 ; Hartmann, 1991 ; Iserin, 2001 ; Kutchen, 1995).

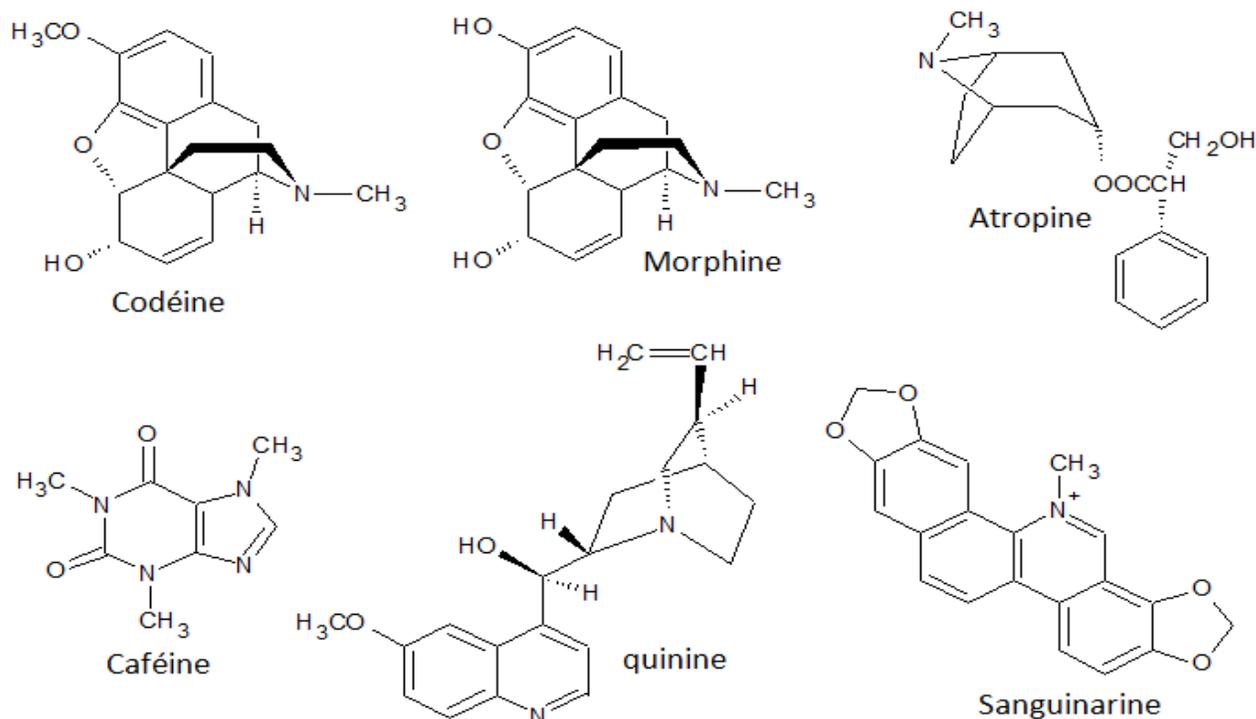


Figure 11 : La structure moléculaire de certains alcaloïdes importants.

I.5.4. Vitamines

Bien qu'elles soient souvent négligées, de nombreuses plantes médicinales sont particulièrement riches en vitamines. Le citronnier notamment (*Citrus limon*) contient des doses élevées de vitamine C, qui protège contre les maladies infectieuses, sa carence entraîne le scorbut, hémorragie de la peau et des gencives. La carotte (*Daucus carota*) est riche en bêta-carotène, pro vitamine A, qui protège la peau et les muqueuses. Sa carence entraîne un besoin oculaire. Le cresson de fontaine (*Nasturtium officinale*), par exemple, contient des doses élevées de vitamines B1, B2, C et E et de bêta-carotène (Cuyckens, 2002 ; Iserin, 2001).

I.5.5. Minéraux et oligoéléments

De nombreuses plantes médicinales sont très riches en minéraux et oligo-éléments. Elles les tirent du sol et les transforment en une structure aisément assimilable par l'organisme. Dans de nombreux cas, les minéraux contenus dans une plante participent activement à son activité

thérapeutique dans l'organisme. Le pissenlit (*Taraxacum officinale*) est un puissant diurétique, effet dû à sa concentration en potassium alors que la prêle (*Equisetum arvense*), grâce à sa forte teneur en silice, est efficace contre l'arthrite, contribuant à réparer le tissu conjonctif. (Iserin, 2001). D'autres minéraux que contiennent les plantes sont aussi très efficaces sur le plan thérapeutique. Ainsi, le calcium est nécessaire à la formation des os et des dents. Sa présence dans le sang aide au fonctionnement des nerfs et des muscles ; il intervient dans la coagulation du sang. On le trouve essentiellement dans les légumes. Le fer est indispensable à la formation du sang. Sa carence cause l'anémie. On le trouve dans les haricots, les lentilles, les légumes. L'iode protège contre le goitre endémique et le crétinisme. Le magnésium, est antistress, il intervient dans la conduction musculaire et nerveuse et participe à la constitution osseuse. Le sodium joue un rôle important dans les échanges d'eau intra et extra cellulaire. Il est capital dans la conduction neuromusculaire. (Cuyckens, 2002).

I.6. Voies de valorisation des plantes et phytothérapie traditionnelle

Il est indéniable que les plantes médicinales constituent une ressource en matières premières, constituées par des plantes ou extraits de plantes, ou des principes actifs isolés qui rentrent dans la formulation de médicaments. Ces médicaments formulés à partir de matières premières locales peuvent apporter une valeur ajoutée non négligeable aux efforts pour promouvoir la production des médicaments pour couvrir les besoins nationaux.

En Algérie, il convient d'élaborer une réflexion globale sur les mesures à entreprendre pour valoriser notre patrimoine phytothérapeutique traditionnel. Il s'agit d'analyser au préalable les aspects juridico-réglementaires, techniques et scientifiques qui devront permettre le développement d'une industrie de transformation et de production des médicaments à base de plantes.

Entre autres, il s'agit de :

- Recueillir les informations fiables sur les plantes médicinales auprès des détenteurs du savoir traditionnel à travers des enquêtes ethnobotaniques ;
- Réaliser une évaluation des potentialités de la phytothérapie et son impact économique, par exemple sur la production et l'importation des médicaments ;
- Elaborer une démarche conforme aux recommandations de l'OMS sur l'évaluation des produits de santé traditionnels ;
- Instituer un cadre juridico-réglementaire pour faciliter la mise en place d'un système d'homologation pour les produits de santé de la médecine traditionnelle;

En conséquence, les méthodes de recherche et d'évaluation de la médecine traditionnelle doivent se fonder sur les principes de base suivants :

- D'une part, elles doivent établir l'innocuité et l'efficacité des médicaments à base de plantes et des thérapies traditionnelles.
- D'autre part, toutefois, elles ne doivent pas faire obstacle à l'application et au développement de la médecine traditionnelle.

Pour la production et la commercialisation des médicaments à base de plantes, il faudra impliquer les tradipraticiens de santé, les herboristes, les chercheurs engagés dans la valorisation des ressources de la médecine traditionnelle, et tenir compte des idées et des expériences des acteurs de la médecine traditionnelle dans tout le processus de préservation et de valorisation des plantes médicinales, et aussi le renforcement d'expériences qui favorisent le développement de la production des phytomédicaments en Algérie et dans le monde entier.

CHAPITRE II- PRESENTATION DES PLANTES ETUDIEES

Cette partie du manuscrit comporte une présentation botanique des plantes étudiées ainsi qu'un état le plus exhaustif possible des travaux antérieurs (données phytochimiques, pharmacologiques et toxicologiques) réalisés sur ces espèces.

Cette présentation s'effectue dans l'ordre suivant :

Arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels) ; Figuier de Barbarie (*Opuntia ficus-indica* L.) et en fin Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.).

II.1. Présentation de l'Arganier (*Argania spinosa*)

Espèce xéro-thermophile (aimant la chaleur et une sècheresse relative), l'arganier est un arbre ne poussant qu'à l'état sauvage, principalement au sud du Maroc où on trouve la plus grande concentration d'arganiers (région de Souss). On signale aussi la présence de cette espèce dans l'ouest Algérien (à 120 km au nord de la ville de Tindouf), le nord-ouest du Sahara Occidental et le nord de la Mauritanie.

Le nom latin *Argania spinosa* emprunte son binôme au mot berbère « argan », qui désigne l'arbre et le fruit, et au latin *spinosa* à cause de ses nombreuses épines.

II.1.1. Classification et description botanique de la plante

II.1.1.1. Classification

La classification classique et phylogénique du taxon *Argania* est décrite dans le tableau 3.

Tableau 3: Classification classique et phylogénique du taxon *Argania*

Classification Cronquist (1981)	Classification APG III (2009)
Règne : <i>Plantae</i> (végétal)	
S/règne : <i>Tracheobionta</i> (pltesvascul.)	Clade : Angiospermes
Embr.: Phanérogame (Spermaphytes)	Clade : Eudicotylédones
Division : Magnoliophyta (Angiospermes)	Clade : Asteridae
Classe : Magnoliopsida (Dicotylédones)	Ordre : Ericales
Sous classe : Gamopétales.	Famille : Sapotaceae
Ordre : Ebenales.	Genre : <i>Argania</i>
Famille : Sapotaceae	Espèce : <i>Argania spinosa</i>
Genre : <i>Argania</i>	
Esp. : <i>Argania spinosa</i> (L.) Skeels (1911)	

Synonyme(s) :

- *Sideroxylon spinosum* L.
- *Argania sideroxylon* Roem. & Schult

Dénominations communes (vernaculaires)

Arganier (*Fr*), Argan (*Ang*), Argan baum (*Allem*),

L'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels), est le seul représentant de la famille tropicale des sapotacées en Algérie. Cette famille renferme environ 600 espèces et 40 genres.

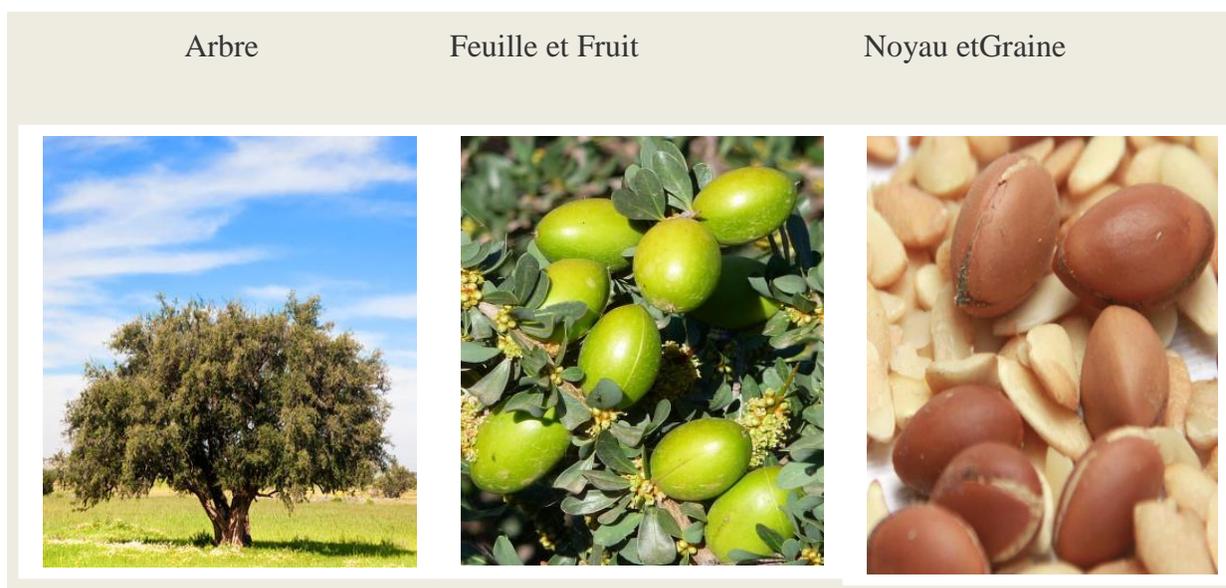
II.1.1.2. Caractères botaniques

L'arganier est un arbre à feuilles vertes persistantes et alternes, de grande taille pouvant atteindre 8 à 10 m de hauteur (figure 12). Les caractéristiques morphologiques de l'arganier sont résumées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Caractéristiques morphologiques de l'Arganier *

	Caractéristique
Taille	8 à 10 m
Tronc	court et tourmenté ayant un suc laiteux, branches et rameaux à extrémités épineuses d'où le nom « <i>spinosa</i> »
Feuilles	vertes persistantes et alternes, atténuées en un court pétiole.
Fleur	blanche à jaune verdâtre, hermaphrodites, gamopétales à tube très court et réunies en glomérules.
Fruit	baie de forme variable, de couleur verte à jaune clair, constituée d'un péricarpe charnu (pulpe) et d'un noyau central dur. Au centre du fruit se trouve une amande qui est constituée de plusieurs graines concrescentes dont l'albumen charnu et oléagineux.
Système racinaire	Profond, dépourvu de poils absorbants (racines magniloïdes).
Floraison	mois de mai et juin.

*(Charrouf, 1998 ; Debbou et Chouana, 2003 ; Radi 2003).

**Figure 12 :** Description botanique d'*Argania spinosa* L. Skeels.

II.1.2. Caractéristiques écologiques et répartition géographique

II.1.2.1. Caractéristiques écologiques

L'arganier joue un rôle vital dans le maintien de l'équilibre écologique et dans la préservation de la biodiversité.

Certains facteurs conditionnent le développement d'arganier, dont on peut citer :

a) Pluviométrie

Une précipitation annuelle moyenne de 230 mm semble être suffisante pour le développement d'arganier. Globalement 150 à 250 mm par an en plaine et 200 à 450 mm par an en montagne. L'arganier préfère les cours d'eau temporaires et les eaux de ruissellements dans les faibles précipitations inférieures ou égales à 100 mm par an (Msanda et al., 2005).

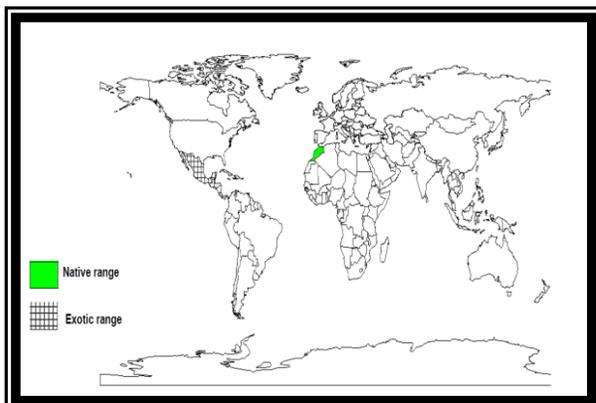
b) Température

Selon Faouzi et al., (2015), l'arganier est une espèce à la fois xérophile et thermophile, qui préfère la sécheresse et une chaleur élevée, voire 50°C. Il ne se développe plus aux basses températures, mais il peut résister jusqu'à 7° C, ce qui limite son extension en altitude. L'arganier aussi une espèce rustique endémique spécifiquement marocaine, de bioclimat aride, semi-aride, tempéré et saharien fortement ensoleillé, en évitant les zones avec des hivers froids.

II.1.2.2. Répartition :

La plus grande concentration d'arganier se trouve dans la région et plaine du Sud-ouest du Maroc où elle couvre près de 800 000 hectares, soit 14,25 % de la forêt du Maroc. En Algérie, à 120 km au nord de la ville de Tindouf, les forêts d'arganier recouvrent une superficie avoisinant les 44 000 hectares (figure 13) (M'herit et al, 1998).

▽ Dans le monde



▽ En Algérie

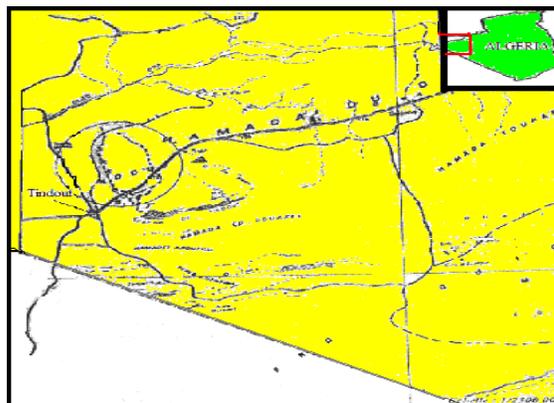


Figure 13 : Aire de répartition de l'arganier (Orwa et al.2009).

II.1. 3. Usages ethnobotaniques de l'arganier

L'arganier joue un rôle socio-économique très important et sa conservation est un placement stratégique pour le Maroc. Toutes les parties de l'arbre peuvent être utilisées : ses fruits et son huile, son bois et ses feuilles.

II.1.3.1. Importances socio-économiques de l'arganier et ses produits

a)Fruits

La pulpe du fruit, appelée encore péricarpe, est la partie la plus externe enveloppant la graine, obtenue après dépulpage de fruit (figure 12), sa couleur change suivant le degré de maturation du fruit ; du vert au jaune veiné, de rouge puis au brun. Cette pulpe est charnue, amère. Elle est utilisée comme aliment pour les caprins. (Charrouf et Guillaume, 1999 ; Radi, 2003).

c) Huile d'argan

L'huile d'argan extraite à partir des amandes constitue le produit principal de l'arganier (Charrouf, 2001). En plus de son utilisation en alimentation humaine, elle rentre dans la préparation des crèmes et d'autres produits à usages dermo-cosmétiques.

Il est utile de souligner que l'huile d'argan alimentaire est produite à partir d'amandons légèrement torréfiés avant d'être pressés. Au contraire, les amandons destinés à l'huile cosmétique/médicinale ne sont pas torréfiés, ce qui évite la dégradation par la chaleur des principes actifs et ainsi de perdre les bienfaits de l'huile.

c) Tourteaux

C'est le résidu de l'extraction des amandes. Il est utilisé comme aliment d'engraissement pour les bovins pour sa richesse en glucides et en protéiques de poids moléculaire élevé. Sa composition lui confère des propriétés pharmaceutiques intéressantes (Charrouf, 2001).

d) Bois

Le bois est résistant et lourd. C'est un excellent charbon utilisé pour le chauffage mais il est impropre à la menuiserie (Debbou et Chouana, 2003). Le bois de l'arganier est utilisé comme combustible (Benziane, 1995 ; Charrouf et Guillaume, 2007).

e) Feuilles

Les feuilles servent de pâturage suspendu pour les caprins, plusieurs flavonoïdes ont été isolés des feuilles de l'arganier: la myricétine, la quercétine et autres dérivés glycosylés (Charrouf et Guillaume, 2007).

II.1.3.2. Utilisations de l'huile de l'argan

L'arganier est surtout utilisé traditionnellement pour l'obtention de l'huile d'argan à forte valeur nutritive, et à propriétés dermo-cosmétique et médicinales (Charrouf et Guillaume , 2014).

Les propriétés bénéfiques de l'huile d'argan sur la santé ou dans les soins corporels des femmes marocaines sont connues depuis longtemps. Dans la tradition marocaine, il est bien établi que l'huile d'argan possède un effet global bénéfique dans les maladies cardiovasculaires et pour le traitement des infections cutanées (tableau 5).

Tableau 5 : Usages traditionnels de l'huile d'argan*

usage	Propriétés/indications
Dermocosmétique	soins corporels : hydratant, assouplissant pour la peau, elle fortifie aussi les ongles et les rend souples et donne une brillance aux cheveux secs, antiâge.
Médicinale	cholérétique, hépatoprotecteur, traitement de l'hypercholestérolémie et l'athérosclérose, la varicelle, l'acné juvénile et les rhumatismes, cicatrisant (brûlures).
Alimentaire	Aromatisant, goût de noisette (salades, soupes, tagines, couscous), nourrissant (mélange huile d'argan-amandes-miel, connu sous le nom d'"Amlou", accompagne le pain du petit déjeuner traditionnel marocain).

*(Bellakhdar, 1997 ; Charrouf et Guillaume ; 2008 ; El Monfalouti et al. 2010 ; Moukal, 2004).

II.1.4. Travaux antérieurs sur l'Arganier

II.1.4.1. Etudes phytochimiques de l'Arganier

Au vue de son importance économique, l'arganier a fait l'objet de nombreuses investigations phytochimiques. En raison de la forte valeur ajoutée de l'huile grasse contenue dans le fruit (amandons), de nombreuses études ont permis d'établir sa composition en détail (tableau 6).

L'huile est particulièrement riche en triglycérides d'acides gras insaturés, majoritairement de l'acide oléique (C18:1) et l'acide linoléique (C18:2). De même, l'huile contient des nombreux agents antioxydants (tocophérols, acides phénols, phénols et flavanols, carotènes), ainsi que des phytostérols spécifiques (Schottenol, Spinasterol) aux propriétés anticholestérolémiantes.

Les principaux constituants de l'huile d'argan sont résumés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Composition de l'huile d'argan.

Produit	Composition	références
Insaponifiable (0,34 - 1 %) :	<i>carotènes</i> [37%], <i>tocophérols</i> [8% : majorit. g-tocophérol entre 81 et 92%], <i>alcools triterpéniques</i> [20% : dont tirucalol (27.9%), β -amyrine (27.3%), butyro-spermol (18.1%), lupeol (7.1%), et 24-méthylène cycloartanol (4.5%)], <i>stérols</i> [29% : majorit.Schottenol (44.0–49 %), Spinasterol (34.0–44 %)], <i>acides phénols</i> [trace ; ac. caffeique, oleuropeine, vanillique, ferulique, syringique], <i>phénols</i> [catechol, tyrosol, resorcinol], <i>Flavonoïdes</i> [(-)-epicatechin, (+)-catechine]. autres composés : <i>hydrocarbones</i> , <i>xanthophylles</i> [5%],	Adlouni, 2010 ; Charouf, 2001 ; Farines, 1981 ; Hilali, et al. 2005. Khallouki, et al. 2003 ; Rahmani, 2005 ; Rojas, 2005 ;
Fraction des acides gras(94,5-97,3 %) :	ac. oléique (43-49 %), linoléique (29-36) , palmitique (11-15 %) , stearique (4-7%), palmitoléique (0.3-3 %) , arachique (<0.5 %) , linoléinique (<0.2%), behénique (<0.2%), myristique (<0.1%).	Charouf et Guillaume, 2008
Partie odorante volatile	(<i>E</i>)-Oct-2-en-1-ol, (<i>E</i>)-Hept-2-enal, Phenylacetaldehyde, (<i>Z</i>)-Non-3-enal, (<i>R</i>)- δ -Decalactone, 1-Carvone, Citronellol, Eugénol	Charouf et Guillaume, 2008
Oligoéléments	Fer, cuivre, manganèse and plomb	Marfil et al. 2008

Dans le tronc de l'arbre, les feuilles et dans la pulpe du fruit, des quantités importantes de xyloglucanes, galacturonanes et pectines sont signalées (Charrouf et Guillaume, 2002 ; El Monfalouti, 2010 ; Habibi et Vignon, 2005). Toutes les parties de l'arganier contiennent une large quantité de saponines (Charrouf et al., 1992 ; El Fakhar et al., 2007; Guillaume et Charrouf, 2005 ; Oulad-Ali et al., 1996). Certaines de ces composés saponosidiques présentent des propriétés antivirales (Gosse et al., 2002) et antioxydantes (Amzal et al., 2008). On reporte aussi dans les feuilles la présence de flavonoïdes, notamment la myricétine, la quercétine et autres dérivés glycosylés (Charrouf et Guillaume, 2007). Ces composés flavonoïques ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes à fort potentiel « antiâge » pouvant servir dans la formulation de préparations dermo- et cosmo-pharmaceutiques (Pauly et al., 2006). Une huile essentielle présente dans la pulpe du fruit a fait l'objet d'une étude de sa composition et ses propriétés répulsives contre les insectes (Harhar et al., 2010).

II.1.4.2. Propriétés pharmacologiques de l'arganier

L'impact de l'huile d'argan sur les maladies cardio-vasculaires a fait l'objet de recherches soutenues depuis plus de deux décennies sur des modèles animaux, des cellules /organes isolés, ou sur la base d'études épidémiologiques (El Monfalouti, 2010). Les études expérimentales réalisées sur l'huile d'argan ont mis en évidence des propriétés antiathérogènes et anti-lipidiques (en cas de dyslipidémie en cas de diabète type II), ainsi que son effet antihypertenseur. Les propriétés antioxydantes de l'huile d'argan ont été aussi évaluées positivement et attribuées à sa fraction phénolique.

Cependant, jusqu'à présent, le peu d'essais cliniques réalisés sur l'huile ne permettent pas une conclusion avec certitude sur l'efficacité et l'effet bénéfique global de l'huile quant aux maladies cardiovasculaires (Adlouni, 2011). Toutefois, ces études soutiennent que l'huile d'argan exerce des effets antiathérogènes chez les patients dyslipidémiques et diabétiques et qu'elle pourrait être proposée dans la prévention nutritionnelle des maladies cardiovasculaires.

Les principales données pharmacologiques sur l'huile d'argan sont résumées dans le tableau 7.

Tableau 7 : Propriétés pharmacologiques de l'huile d'argan.

Propriétés	Modèle	Références
Prévention de l'incidence du cancer	Homme	Khallouki et al., 2003
Antihypertenseur	Rat	Berrougui et al., 2004
Hypocholestérolémique, hypolipidémique	Rat	Berrougui et al., 2003
Antiproliférative (cancer de la prostate)	<i>In-vitro</i>	Bennani et al., 2007 ; Bennani et al., 2009
Inhibition de l'oxydation des LDL	Homme	Berrougui et al., 2006; Berrougui et al., 2003
Antidiabétique	Rat	Samane et al., 2006 ; Bnouham et al., 2008
Antioxydant, hypolipidémique	Homme	Drissi et al., 2004
Hypolipidémique	Homme	Derouiche et al., 2005
Antiathérogène	Homme	Cherki et al., 2005 ; Adlouni, 2011
Antiagrégant plaquettaire	Homme	Mekhfi et al., 2008

II.2. Présentation de l'espèce *Opuntia ficus indica* L.

La famille des Cactacées comporte plus de deux cent genres. Le genre *Opuntia* est représenté par *Opuntia ficus indica*. L., ou communément appelé le figuier de Barbarie ou figuier de l'Inde. Cette espèce dont le fruit est comestible est bien représentée dans notre pays (Bensadón et al., 2010 ; Siriwardhana et You-Jin, 2004).

II.2.1. Classification et description botanique de la plante

II.2.1.1. Classification

La classification classique et phylogénique du taxon *Opuntia* est décrite dans le tableau 8.

Tableau 8 : Classification classique et phylogénique du taxon *Opuntia*

Classification Cronquist (1981)	Classification phylogénétique
Règne : <i>Plantae</i> (végétal)	
S/règne : <i>Tracheobionta</i> Embr. : Phanérogame (Spermaphytes ou plantes à graine) Division : Magnoliophyta (Angiospermes) Classe : Magnoliopsida (Dicotylédones) Sous classe : <i>Caryophyllidae</i> Ordre : <i>Caryophyllales</i> Famille : <i>Cactaceae</i> Genre : <i>Opuntia</i> Esp. : <i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Miller	Clade : Angiospermes Clade : Dicotylédones vraies Clade : Noyau des Dicotylédones vraies Ordre : <i>Caryophyllales</i> Famille : <i>Cactaceae</i> Genre : <i>Opuntia</i> Espèce : <i>Opuntia ficus indica</i>

Synonyme(s) :

- *Cactus ficus-indica* L.
- *Opuntia vulgaris* Miller.

Dénominations communes ou vernaculaires (Schweizer, 1999)

Noms Français - Figuier de barbarie, Figuier d'Inde ;

Noms anglais - Barbary fig, Prickly pear ;

Nom arabe - Hendi.

Le mot Cactus vient du mot grec *kaktos* donné premièrement par Théophraste. Le terme générique *Opuntia* a été donné au figuier de Barbarie par Matthiolo, pour sa ressemblance avec une plante épineuse qui poussait aux alentours d'Opus (Oponce) village grec, aujourd'hui connu sous le nom de Talanta.

II.2.1.2. Caractères botaniques

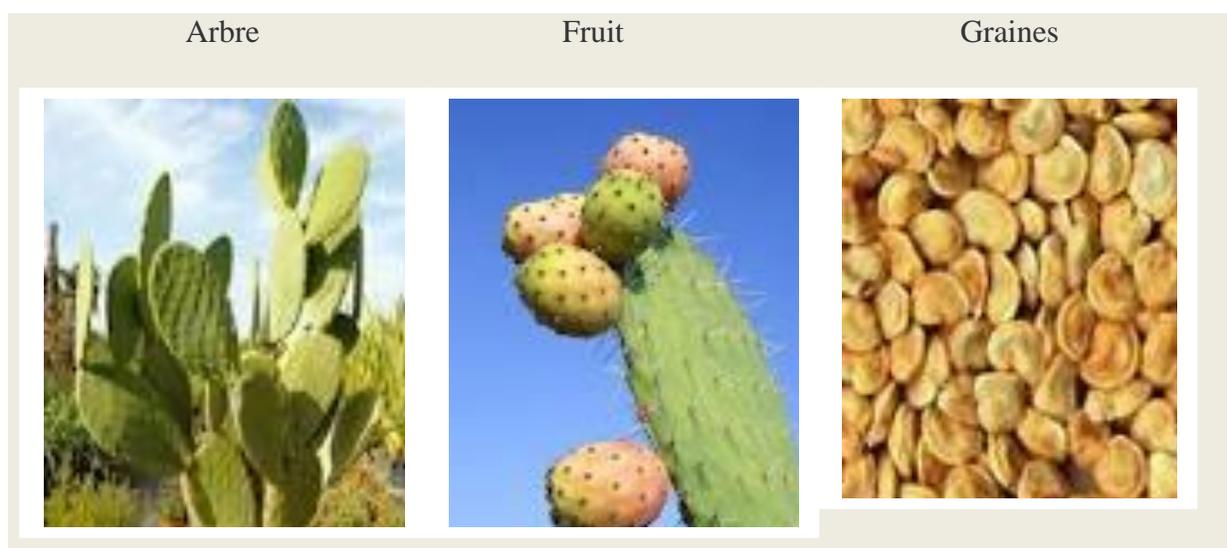
Selon la classification botanique, les cactacées sont des arbustes et des arbres vivaces de 5m de haut, à tiges charnues, épaisses et ligneuses, apparemment aphyllés, de couleur verte-matte. En effet, *Opuntia ficus indica* L, avec ces variétés inerme et l'épineuse, se caractérise par une remarquable adaptation à la sécheresse obtenue au fil du temps par l'évolution de la structure de son organisme (Tableau 9 et figure 14).

Les caractéristiques morphologiques de l'arganier sont résumées dans le tableau 9.

Tableau 9 : Caractéristiques morphologiques du figuier de Barbarie*

Partie végétale	Caractéristique
Espèce	Arbuste de 2 à 6 m de haut.
Tronc	tronc ligneux, formé par les vieux raquettes qui en se desséchant, perdent peu à peu leur forme ovale pour devenir cylindrique.
Cladodes/ raquettes	tiges aphyllées modifiées gonflées et charnues, adaptées au stockage de l'eau, sous forme aplatie, dépourvues de feuilles, érigées et dressées, rameuses et xérophiles, de 30 à 40 cm de long sur 15 à 25 cm de large, et de 1,5 à 3 cm d'épaisseur.
Feuille	Réduite en épine blanchâtre de 1 à 2 cm.
Fleur	jaune orange, grande, rotacée, hermaphrodite à ovaire infère, et uniloculaire.
Fruit	Désigné par la figue de Barbarie, appelé aussi Tuna ; baie charnue, sucré à maturité, uniloculaire à nombreuses graines (polyspermiq) dont le poids peut varier de 150 à 400 g. Sa couleur est variable selon les variétés : jaune, rouge, ou vert.
Système racinaire	réseaux étendus situés en majorité près de la surface du sol, quelques rares plus profondes ayant essentiellement un rôle de fixation.
Floraison	mois de Mai et Juin. Récolte de fruit à partir d'Août et Septembre.

*(Iserin, 2001 ; Schweizer, 1999)

**Figure 14 :** Présentation d'*Opuntia ficus indica* L.

II.2.2. Caractéristiques écologiques et répartition géographique

II.2.2.1. Caractéristiques écologiques

L'figuier de Barbarie est une plante xérophile répandue principalement dans les régions à climats sec aride et semi-aride, caractérisées par des basses températures hivernales (-10°C). En outre, on peut retrouver l'espèce un peu partout, dans les régions côtières ou sur des sites situés à 1800 jusqu'à 2200 m d'altitude avec une pluviosité annuelle de 400-500 mm et des températures de 16 à 30°C. Les sols préférés par le figuier de Barbarie sont les sols calcaires, légers, généralement pauvres en matière organique (0,1-1,8%), et moyennement acides (Ph 5-6,7) (Schweizer, 1999).

II.2.2.2. Répartition

L'espèce *Opuntia ficus-indica* est originaire des régions tropicales et subtropicales d'Amérique centrale ; notamment sur les plateaux du Mexique, caractérisées par un climat chaud et sec (figure 15). Elle a été ramenée en Europe par les Espagnols lors des voyages de Christophe Colomb, et s'est acclimatée dans la péninsule ibérique et naturalisée sur le pourtour de la Méditerranée, y compris l'Afrique du nord (Maroc et Algérie), et d'autres régions du monde au climat propice (figure 15). Naturellement, l'figuier de Barbarie se reproduit par multiplication végétative. Sa diffusion est due autant à l'homme (cladodes comme aliment antiscorbutique sur les bateaux), qu'aux oiseaux qui en consommant les fruits assurent la dispersion des graines. (Bensadón et al., 2010 ; Siriwardhana et You-Jin, 2004).



Native range: Mexico

Exotic range: Algeria, Brazil, Chile, Eritrea, Ethiopia, India, Israel, Italy, Kenya, Libyan Arab Jamahiriya, Morocco, Portugal, South Africa, Spain, Sudan, Tanzania, Tunisia, Uganda, United States of America

Figure 15 : Aire de répartition du figuier de barbarie.

En Algérie, la culture l'*O. ficus-indica* est largement représentée dans le paysage rural en plantations principalement irrégulières, autour des villages, en haies limitant les parcelles de culture ou de vergers. La culture de cactus se trouve parfaitement intégrée dans le système d'exploitation traditionnel. Les plantations de cactus existent dans les régions côtières algériennes depuis El-Kala jusqu'à Maghnia, mais aussi dans plusieurs zones continentales, sahariennes et des montagnes.

II.2.3. Usages ethnobotaniques du Figuier de Barbarie

II.2.3.1. Importances socio-économiques du Figuier de Barbarie et ses produits

La culture du figuier de Barbarie en Algérie représente un objectif à atteindre au vue de son importance socio-économique.

Ses utilisations multiples sont présentées dans le tableau 10. Certaines recherches menées à l'INRA ont montré que l'inclusion du figuier de Barbarie dans l'alimentation des brebis gestantes ou en lactation en remplacement du son et du tourteau de tournesol a permis des productions laitières plus importantes. (Bensadón et al., 2010 ; Bouzoubaâ , 2009)

Tableau 10 : Importances socio-économiques de l'figuier de Barbarie et ses produits.

Partie	Usage	Références
Plante entière	Utilisation agricole : Formation de haies défensives	Bensadón et al., 2010 ; Bouzoubaâ, 2009 ;
	Environnement : Lutte contre l'érosion ; Conquête des sols	
	Usage ornemental : Plante de jardins d'ornement	
Fruits	Usage industriel : Colorants naturels extraits des fruits ; fabrication de confitures, jus, nectar et figues de barbarie confites ; usage de fourrage : l'alimentation animale. Extraction d'un sirop à caractéristiques nutritionnelles similaires à celles du raisin	Fernández-López, 2010 ;
Graines	extraction d'une huile fixe à forte valeur commerciale	El Kossori Lamghari, 1998
Raquette	production de biogaz par fermentation ; alimentation animale ; source de gel aux propriétés anti-inflammatoires et cicatrisantes	
Fleurs	Source d'agent gélifiant substitut de la pectine ; agent épaississant des soupes ; source de minéraux et de fibres de haute valeur alimentaire ; source potentielle de biomolécules (ex. flavonoïdes)	

II.2.4. Travaux antérieurs sur le figuier de Barbarie

II.2.4.1. Etudes phytochimiques du figuier de Barbarie

Au vue de sa valorisation agro-industrielle et son importance économique, le figuier de Barbarie a fait l'objet de nombreuses études phytochimiques (Tableau 11). En effet, il est riche en fibres, en minéraux et en betacyanines, moyen en caroténoïdes (18.75 %), mais relativement faible en protéines, en lipides et en composés phénoliques. La richesse en carbohydrates digestives, qui représentent plus de 50% de pulpe de fruit en fait une

excellente source potentielle d'alcool. En l'occurrence 150 kg de figes fournissent 100 litres de suc qui produisent 7 litres d'alcool à 85° (Bensadón et al., 2010 ; Fernández-López, 2010).

Tableau 11 : Contenu du figuier de Barbarie.

Composition	Fruit (%)	Graine (%)	Pulpe(%)	Cladodes(%)	Références
Eau	89	1,1	83,6	86	Bensadón et al., 2010 ; Fernández-López, 2010 ; El Kossori Lamghari, 1998
Glucide	14,8	2	10,8	28,6	
Cellulose	1,3	/	/	17,5	
Protéines	6,7	9	0,8	6	
Matière grasse	0,7	7,5	0,3	4,6	
Cendres	/	1,4	8,2	19,6	
Fibres brutes	2,3	0,8	3,6	3,6	

En raison de la forte valeur ajoutée de son huile grasse contenue dans les graines du fruit du figuier de Barbarie, de nombreuses études ont permis d'établir sa composition en détail (tableau12). L'huile est particulièrement riche en triglycérides d'acides gras polyinsaturés, majoritairement de l'acide linoléique (C18:2) et de l'acide oléique (C18:1). De même, l'huile contient des nombreux agents antioxydants (tocophérols, acides phénols, phénols et flavanols), ainsi que des phytostérols et tocophérols (Chougui et al., 2013 ; El Mannoubi, 2009).

Tableau 12 : Composition de l'huile de figuier de Barbarie (Chougui et al., 2013 ; El Hachimi, 2015).

Produit	Composition
Insaponifiable	Phytoestrogènes, phytostérols, tocophérol.
Fraction des acides gras (%)	Ac. linoléique (60 ,61), ac. oléique (19.77), ac. Palmitique (13,83) et ac. stéarique (3.16).
Autres composés (trace)	Polyphénols, tanins, flavonoïdes, punicine et granatine (alkaloides).

II.2.4.2. Propriétés pharmacologiques de figuier de Barbarie

Le figuier de Barbarie est doué de propriétés pharmacologiques aussi diversifiées que remarquables, à savoir des activités anti-inflammatoires, antioxydante et neuroprotective (tableau 13). Le gel contenu dans les cladodes est réputé très efficace notamment dans le traitement des plaies et brûlures (Ben Laksira et al., 2013). Plusieurs études démontrent une corrélation positive entre un régime riche en figuier de Barbarie et la réduction des risques des maladies associées au stress oxydatif (cancer de l'estomac, maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, etc.) (Tableau 13).

Tableau 13 : Propriétés pharmacologiques du figuier de Barbarie.

Propriétés	Références
Cicatrisant, anti-âges, antirides, et anti-vergetures.	Schweizer M., 1999
Antidiarrhéique, constipant et régularise le transit. Antioxydant. Hypoglycémiant. Action Anxiolytique et neuroprotectrice (polyphénol),	Bensadón et al., 2010
Activité hépatoprotectrice ; Galactogène et fortifiant. Activité anti ulcéreuse. Activité diurétique (fleur, cladode et fruit)	Bensadón et al., 2010 ; Ncibi et al., 2008
Action diététique (pour l'huile) ; Hypoglycémiant, hypocholestérolémique, hypolipidémique, antiathérosclérotique	Bensadón et al., 2010 ; Ennouri et al., 2007 ; Ramadan et Morsel, 2003

II.3. Présentation de lentisque (*Pistacia lentiscus* L.)

Le *Pistacia lentiscus* est un arbuste du genre *Pistacia*, appartenant à la famille cosmopolite des *Anacardiaceae* (syn. *Pistaciaceae*). Cette famille renferme plus de 600 espèces appartenant à environ 70 genres. En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, en l'occurrence *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica*, cependant, le *Pistacia lentiscus* est le plus commun dans notre pays (Baudière, et al., 2002 ; Mitcheh, 1986 ; Quezel et Santa, 1962).

II.3.1. Classification et description botanique de la plante

II.3.1.1. Classification

Le lentisque connu scientifiquement sous le nom de *Pistacia lentiscus* L. (Linné, 1753), appartient à la famille des *Anacardiaceae*, dont la taxonomie est présentée comme suit (tableau 14):

Tableau 14: Classification classique et phylogénique du taxon *Pistacia* #

Classification Cronquist (2016)	Classification APG III (20116)
Règne : <i>Plantae</i> (végétal)	
S/règne : <i>Tracheobionta</i> Embr. : <i>Spermatophyta</i> (plantes à graine) Division : <i>Magnoliophyta</i> (Angiospermes) Classe : <i>Magnoliopsida</i> (Dicotylédones) Sous classe : <i>Rosidae</i> Ordre : <i>Sapindales</i> Famille : <i>Anacardiaceae</i> Genre : <i>Pistacia</i> Esp. : <i>Pistacia lentiscus</i> L.	Règne : Archéplastides Clade : Angiospermes Clade : Dicotylédones vraies Clade : Noyau des Dicotylédones vraies Clade : Rosidées Clade : Malvidées Ordre : Sapindales Famille : Anacardiaceae Sous-famille : Anacardioidées Genre : <i>Pistacia</i> Espèce : <i>Pistacia lentiscus</i>

(Baudière, et al., 2002 ; Mitcheh, 1986)

□ Synonymes

Lentiscus massiliensis (Mill.) Fourr. ; *Lentiscus vulgaris* Fourr. ; *Pistacia brevifolia* Gand.

Pistacia chia Desf. ; *Pistacia gummifera* Salisb. ; *Pistacia narbonensis* Mill.; *Terebinthus lentiscus* (L.) Moench; *Terebinthus vulgaris* Fourr. (Feidemann, 2005 ; Torkelson, 1996).

□ Noms vernaculaires

(Anglais) : Chios, mastic tree

(Allemand) : Mastixbaum

(Français) : Arbre au mastic, Lentisque

(Espagnol) : Lentisco

(Afrique du nord) : Derw, darw (arabe) et Tidekt, Tidekst,(Berb.)

Le lentisque est également appelé arbre à mastic en référence à la résine appelée mastic qui coule des troncs et branches de la plante. Le nom pistachier vient du grec « pistakê », tandis que le nom lentisque vient du latin « lentus » qui signifie visqueux (Seigue, 1985).

II.3.1.2. Caractères botaniques

Selon la classification botanique, le lentisque est un arbrisseau vivace ; très aromatique et résineux ; à croissance très lente et à feuilles vertes persistantes et alternes, de moyenne taille pouvant atteindre 3 à 6 m de hauteur (figure 16). Les caractéristiques morphologiques de lentisque sont résumées dans le tableau 15.

Tableau 15 : Caractéristiques morphologiques de lentisque *

<i>P. lentiscus</i>	Caractéristique
Taille	3 à 6 m
Tronc	Tortueux, ramifié, vivace, thermophile, et dioïque présentant des pieds mâles et femelles distincts. écorce rougeâtre puis grisâtre et écailleuse. branches tortueuses et pressées en masse serrée.
Feuille	feuillage Vert persistant, composé 4 à 10 folioles, alterne, paripenné, à contour entier, en nervure pennée et à pétiole court, bordé, et d'une aile verte, oblongues ; ovales à elliptiques, obtuses, étroites, coriaces, glabres ; luisantes en dessus ; mâtes et pâle en dessous.
Fleur	3mm de large sont en grappes spiciformes denses, formant des petits racèmes axillaires courts et cylindriques à l'aisselle des feuilles. Elles sont aromatiques, dioïque unisexuées. Les mâles ont cinq petits sépales dont émergent 5 étamines rougeâtres reposant sur un disque nectarifère. Les femelles sont vert jaunâtres, à 3 ou 4 sépales, ont un ovaire supère, avec un style court à 3 stigmates.

Suite du **Tableau 15** : Caractéristiques morphologiques de lentisque *

<i>P. lentiscus</i>	Caractéristique
Fruit	petite drupe comestible ; arrondie (2 à 5 mm de diam.) ; sub-globuleuse ; monosperme, contenant un nucléole de la même forme. Réunis en grappes axillaires, d'abord rouge, puis noire à maturité. pendant l'automne (Octobre- Novembre), Son odeur de térébenthine est forte, et sa saveur est amère, camphrée.
Graine	La graine est identique aux pistaches, mais beaucoup trop petite.
Resine	Mastic aromatique qui suinte du tronc et des branches suite à des éraflures, séché au soleil pour les faire durcir en gouttes translucides.
Floraison	Le Lentisque est une plante dioïque qui fleurit le printemps entre mars et mai.
Multiplication	Semis des graines au printemps, Bouturage de tiges en été.

*(Bock, 2009; Boullard, 2001 ; Delille, 2007 ; Hichey et King, 1988 ; Iserin, 2001; More et White, 2005; Seigue, 1985 ; Yahya, 1992)



Figure 16 : Description botanique de *Pistacia lentiscus* L.

II.3.2. Caractéristiques écologiques et répartition géographique

II.3.2.1. Caractéristiques écologiques

Le lentisque est un arbre à feuilles persistantes, dont l'aire chevauche à la fois entre le climat sub-humide et tempéré. Physiologiquement et morphologiquement, le lentisque est adapté aux conditions rigoureuses de son habitat : stockage d'eau dans les feuilles ; développement du système racinaire ; adaptation de leur cycle de vie. (Seigue, 1985). Cependant certains facteurs conditionnent son développement, parmi ces facteurs ; on peut citer :

a) Humidité

La présence de lentisque exige un climat relativement humide. En hiver il se forme des zones de hautes pressions qui donnent un renforcement des vents frais et humides, et en été le temps est sec, cette alternance saisonnière répond aux besoins de la végétation à la fois de la chaleur et de l'humidité. (Seigue, 1985)

b) Pluviométrie

Les pluies sont assez régulièrement réparties, très fréquentes, et nettement hivernales. Une précipitation moyenne de 731 mm par an semble être suffisante pour le développement de lentisque dans certaines régions méditerranéennes (Seigue, 1985).

c) Température

Selon More et White, (2005) le lentisque est une plante thermophile, notamment caractéristique des milieux les plus chauds du climat méditerranéen avec une exposition continue au soleil et aux hautes températures, que l'on retrouve exactement en affiliation avec l'olivier (*Olea europaea*). En général, le lentisque supporte des températures extrêmes de 4°C et 40° C. En terme de rusticité ou autrement dite : la tolérance aux basses températures, qui correspond aux températures minimales estimées, incluant le froid ressenti, du au vent, qu'un arbre peut supporter, sans subir de dommage durable, le lentisque présente une rusticité de l'ordre de : - 4°C à - 8°C (More et White, 2005).

d) Altitude

Sur le plan altitudinal, *Pistacia lentiscus* se développe dans les maquis et les garrigues de basse altitude, les versants rocailloux secs, les clairières et bois clairs fortement ensoleillés, en évitant les zones avec des hivers froids (More et White, 2005).

II.3.2.2. Répartition géographique

Le pistachier lentisque est un arbrisseau dioïque thermophile très commun dans le bassin méditerranéen, il se trouve à l'état spontané et sauvage, dans les maquis et les garrigues dans tout type de sols, bien qu'il préfère les terrains siliceux pauvres en potassium et en phosphore. Généralement, il se trouve dans les lieux arides de la région méditerranéenne de Europe, de l'Asie, de l'Afrique jusqu'au Canaries (Bock, 2009 ; Bonnier et Douin, 1990; Seigue, 1985). En Algérie, le lentisque occupe l'espace thermo-méditerranéen et se trouve sur le long du tell et dans les zones forestières (More et White, 2005) (fig.17). Selon Dogan et al. (2003), cette espèce est adaptée au stress consécutif au manque hydrique, et nutritifs, et elle est capable de lutter contre l'érosion qui représente un facteur primordial de désertification de l'écosystème des régions méditerranéennes semi arides (Dogan et al., 2003).

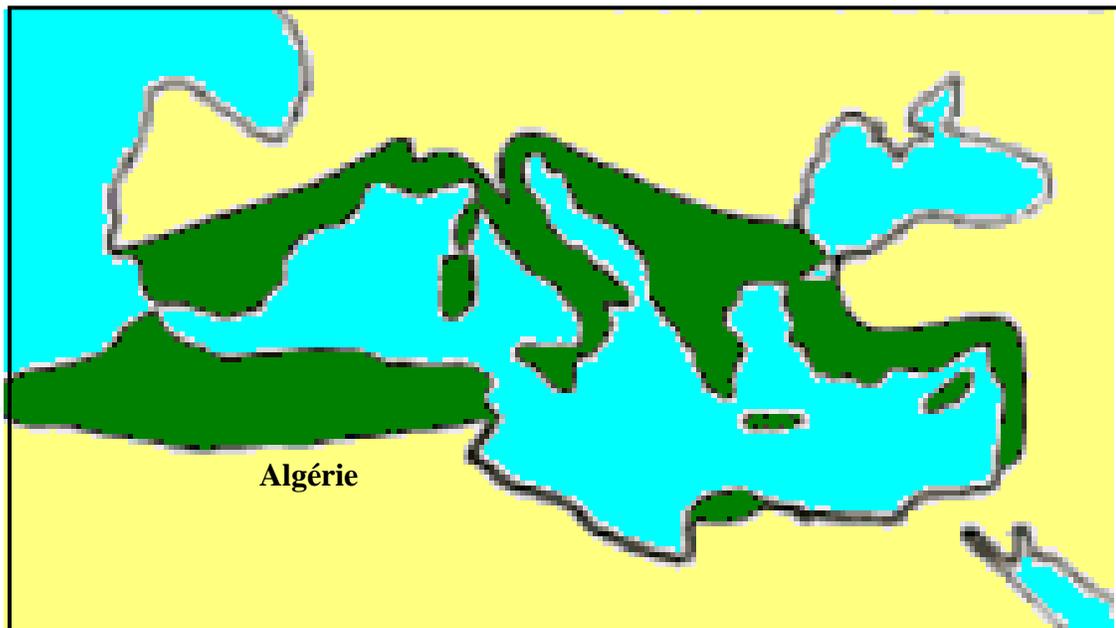


Figure 17 ■ Aire de répartition de *Pistacia lentiscus* L. (Seigue, 1985)

II.3.3. Usages ethnobotaniques du lentisque

II.3.3.1. Importances socio-économiques de lentisque et ses produits

D'après Seigue (1985), les principaux produits dérivés du *P. lentiscus* et leurs utilisations socio-économiques importantes sont décrites dans le tableau 16.

Tableau 16 : Usages traditionnels de lentisque (Seigue, 1985)

Partie de plante	Usage, propriétés/indications
Résine "mastic de Chio",	composition (laques, vernis, mastics et colles des pansements, pâtes à mâcher, liqueurs d'eau-de-vie etc). Après distillation du mastic est récupérée une essence qui entre dans la confection de parfums, produits cosmétologiques et pharmaceutiques, de vernis de grande qualité recherché par les peintres œuvrant à la peinture à l'huile et aussi dans l'industrie photographique.
Fruit (baie)	De ce fruit (baie à maturité) on extrait, surtout en Italie, une huile très utile pour l'éclairage, la savonnerie l'alimentation et même la médication (cicatrisante).
Bois	de couleur rose ou ocre. Il est employé en menuiserie et en ébénisterie pour sa robustesse et la finesse de sa texture, aussi comme excellent combustible.
Feuille	Source d'une huile essentielle utilisée en aromathérapie pour ses propriétés décongestionnantes, veinotonique.

II.3.3.2 Utilisations de l'huile de lentisque

L'huile de lentisque extraite du fruit comestible qui autrefois était couramment utilisée pour l'alimentation, l'éclairage et elle entrait aussi dans la confection de savons. L'huile est produite à l'Est de l'Algérie, dans les zones notamment côtière (El Milia, Skikda), où l'espèce abonde. Un procédé traditionnel est utilisé à cet effet : Les fruits atteignent leur maturité vers la fin d'été début de l'automne. Les baies prennent alors une coloration noire au lieu du rouge. Les baies sont récoltées à la main, macérées dans de l'eau chaude et puis écrasées à l'aide d'une presse. Des baies s'exultent un liquide épais de couleur jaune vert. L'huile est récupérée par décantation (Seigue, 1985).

II.3.4. Travaux antérieurs sur le lentisque

II.3.4.1. Etudes phytochimiques de lentisque

Les principaux constituants de l'huile de lentisque sont résumés dans le tableau 17.

Tableau 17 : Composition de l'huile de lentisque

Produit	Composition	références
Insaponifiable	phytostérols, dont le stigmastérol, qui a été isolé par chromatographie préparée sur couche mince. L'analyse HPLC en phase inverse a confirmé la présence de l'alph-tocophérol.	Belfadel, 2009
Fraction des acides gras, huile grasse	La teneur en matières grasses brutes : fruits 20 à 32,8% essentiellement d'acides gras libres, à plus de 80 % insaturés : acide oléique 55 à 56%, linoléique 14-47% et linoléique 2-16%, Undecylphénol 18,86%, acide palmitique 15-27%, 3-pentadecylphénol 14,11%, stéarique à 2 % La teneur en acides gras saturés 16-20% essentiellement : oléique, l'acide linoléique et l'acide palmitoléique représentent plus de 70% du total des acides gras. Le rapport entre acides gras saturés / insaturés était presque 0,4.	Charef et al, 2008 ; Mekni, 2011 ; Mezni et al., 2014 ; Mezni et al., 2012 ; Tej Yaakoubi et Dhaou, 2007 ; Trabelsi et al., 2012
Huiles essentielles	La résine présente cinq constituants majeurs solubles dans l'éthanol : α -pinène (40%), β -pinène (1,5%), β -myrcène (9%), le limonène (1,0%), et β -caryophyllène (5%) Pour les feuilles rameaux : Longifolène (12,8 -16,4%), α -pinène (19-63% %), γ -cadinène (6,2%), trans- β -terpinéol (5-15,6%), α -acorneol (4,6%), terpinen-4-ol (7-19,3%), γ -muurolène (2,9-5,7%), sabinène (12,6%), β -pinène (3,3-6,5%), β -myrcène (25-39,2%), limonène (1,5-10,3%) gurjunène (7,8%), germacrène (4,3%), humulène (2,6%), β -caryophyllène epibicyclosesquiphellandrène (2,5%). Les fruits : huiles essentielles sont composées de 90 à 96% d'hydrocarbures monoterpéniques et 3,2% de sesquiterpènes. α -pinène 11-22%, β -myrcène 54-72%. N.B : d'autres constituants représentent 6,2% de la concentration totale. D'autres chémotypes ont également signalé la présence de : longifolène ; limonène ; caryophlène ; Sabinène 1.0-6.7% ; Germacrene 2.7-13.5%, terpinène 3.1-3.6% et le beta-3-carène.	Amhamdi et al., 2009 ; Arab et al., 2014 Barazani et al, 2003 ; Baudoux, 2003 ; Boelens et Jimenez, 1991 ; Doba et al. 2006 ; Duru et al, 2003 ; Grosjean, 2007 ; Koutsoudaki Leonti et al, 2001 ; et al., 2005 ;
Tanins Polyphénols Flavonoïdes Triterpènes Alcaloïdes	tannins totaux: feuilles 33%, fruits 20%, proanthocyanidiques, galliques, glycosides flavonoïdes, anthocyanes, des tanins condensés et hydrolysables, et dérivés à noyau gallique et quinique, catéchétiques. des glycosides flavonoïques, des anthocyanes (<i>cyanidine 3-O-glucoside</i> , <i>Delphinidine 3-O-glucoside</i> , <i>cyanidine 3-O-arabinoside</i>), leucoanthocyanes, galliques, flavonoïdes, glucosides et amidon. Mucilages, leucoanthocyanes, saponosides, sénosides, acide gallique et <i>1.2.3.4.6-pentagolloylylucose</i> . <i>Quercetine</i> , <i>myricetine</i>	Arab et al., 2014 Atmani et al, 2002 ; Longo et al, 2007 ; Vaya et Mahmood, 2006 ;

II.3.4.2. Propriétés pharmacologiques de lentisque

L'utilisation des dérivés de *Pistacia lentiscus L.* en médecine traditionnelle a fait l'objet de plusieurs travaux. Toutes les parties de cette plante ont présenté des vertus thérapeutiques, y compris les parties aériennes ; Les feuilles ; les fleurs ; les rameaux ; la résine ; et le fruit, et aussi les racines (tableau 18).

Tableau 18 : Propriétés pharmacologiques de l'huile de lentisque.

Propriétés	Partie	Références
Hypertension artérielle, Antifongique Antioxydant. Contre l'eczéma, la paralysie, la diarrhée, les infections de la gorge, les calculs rénaux, jaunisse, l'asthme et les maux d'estomac	Partie aérienne	Ali-Shtayeh <i>et al.</i> , 1999 ; Duru <i>et al.</i> , 2003 ; Kordali <i>et al.</i> , 2003 ; Turchetti <i>et al.</i> , 2005 ; Barra <i>et al.</i> , 2007 ; Mansour-Djaalab <i>et al.</i> , 2012
analgésique, tonique, antibactérien, antiathérogénique, anti-inflammatoire, astringente, carminative, diurétique, spasmolytique, expectorant, antiseptique du système respiratoire, anticancéreux, et anti- proliférateur, en particulier contre les tumeurs du sein, du foie, de la rate, du côlon et de l'utérus.	résine	Aksoy <i>et al.</i> , 2006 ; Al-Said <i>et al.</i> , 1986 ; Balan <i>et al.</i> , 2005 et 2007 ; Bellakhdar, 1997 ; Boullard, 2001 ; Dabos <i>et al.</i> , 2010 ; Dedoussis <i>et al.</i> , 2004 ; Dimas <i>et al.</i> , 2009 ; Gioxari <i>et al.</i> , 2011 ; Hmimza, 2004 ; Kim <i>et al.</i> , 2009 ; Koutsoudaki <i>et al.</i> , 2005 ; Loutrari <i>et al.</i> , 2006 ; Mahmoudi <i>et al.</i> , 2010 ; Magiatis <i>et al.</i> , 1999 ; Marone <i>et al.</i> , 2001 ; Moulos <i>et al.</i> , 2009 ; Paraschos <i>et al.</i> , 2007 ; Qiao <i>et al.</i> , 2011 ; Sharifi <i>et al.</i> , 2009 ; Triantafyllou <i>et al.</i> , 2011 ;
l'inflammation intestinale, le traitement de l'ulcère gastroduodénal contre <i>Helicobacter pylori</i>	racines	Ouelmouhoub, 2005

Suite du **Tableau 18** : Propriétés pharmacologiques de l'huile de lentisque.

décongestionnant veineux, Nasal, lymphatique, prostatique. (Varices et jambes lourdes, congestions et stases veineuses, hémorroïdes externes et internes), thrombophlébite, escarres, plaies de lit, Troubles cardio-vasculaires, Endocardite rhumatismale, Aérophagie, aérocolie, colite, diabète, Antispasmodique, antalgique	Huile	Ali-Shtayeh and Abu Ghdeib, 1999; Baudoux, 2003 ; Duru et al, 2003; Iauk et al, 1996; Iserin, 2001; Grosjean, 2007 ; Magiatis et al, 1999;
antipyrétique, hépatoprotecteur, expectorant stimulant, anthelminthique, emménagogue, les infections buccales, les lithiases rénales,, les maux de tête,	feuilles	Ali-Shtayeh et al, 1998 ; Ali-Shtayeh et al, 2000 ; Ali-Shtayeh and Abu Ghdeib, 1999; Baudoux, 2003 ; Duru et al, 2003; Grosjean, 2007 ;Iauk et al, 1996; Iserin, 2001; Magiatis et al, 1999;
Cicatrisant, onguent pour soigner les brûlures, et liniment en cas de douleurs dorsales, conseillée pour les diabétiques, et en cas de circoncision.	Fruits et / ou huile	Bellakhdar, 1997 ; Bensegueni, 2007 ; Bhourri et al., 2010 ; Boulebda et al., 2009, Djerrou et al. 2010 ; Hmimza, 2004 ;

III. 1. Histologie de la peau

En étant l'organe le plus gros de l'organisme ; la peau est une membrane externe qui recouvre entièrement la surface du corps. C'est une barrière anatomique et physiologique entre le milieu intérieur caractérisé par son homéostasie remarquable et le milieu extérieur particulièrement agressif. Chez l'adulte moyen sa superficie varie entre 1,2 et 2,2 m² et elle pèse 7% de la masse corporelle totale. La peau est constituée de trois couches superposées de la surface vers la profondeur du corps : l'épiderme, le derme et l'hypoderme (figure 18). (Marieb, 2005 ; Schaffer et Mednche, 2004).

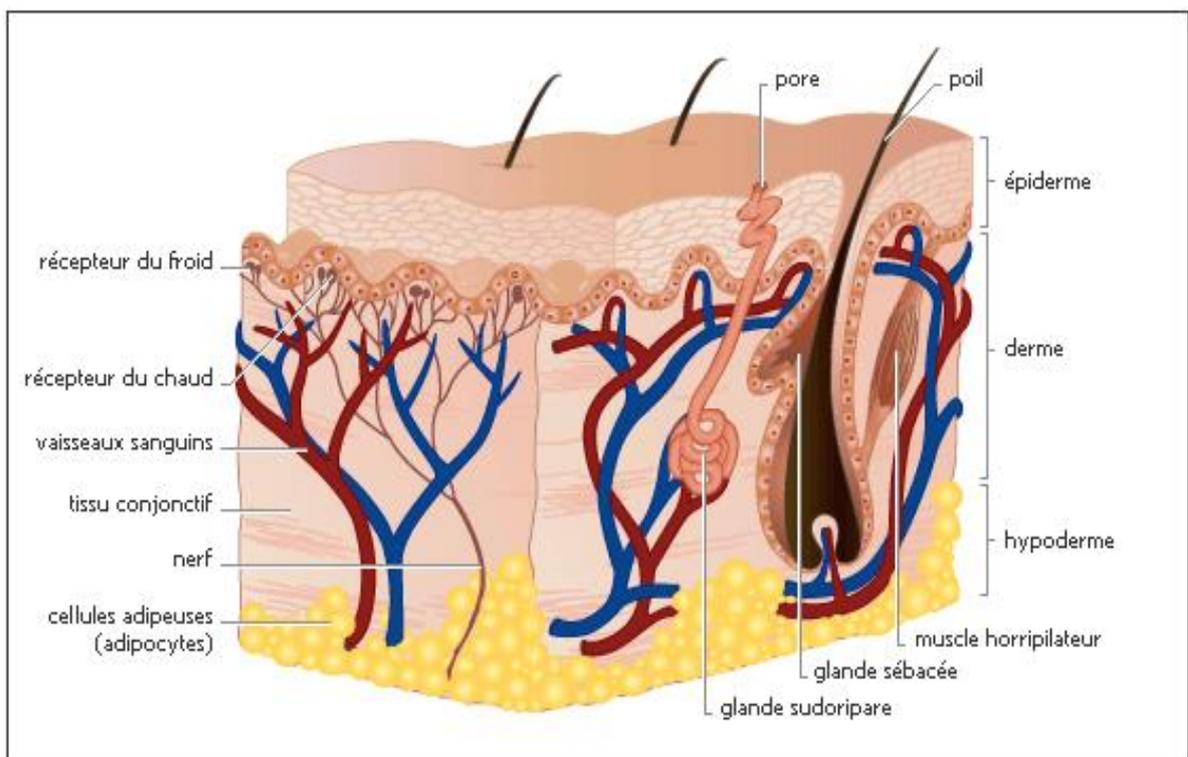


Figure 18 : Structure de la peau.

Chez les mammifères, la peau est constituée d'une couche protectrice externe, l'épiderme, et d'une couche profonde, le derme. La couche la plus superficielle de l'épiderme contient de la kératine, qui est aussi un constituant des cheveux et des ongles.

III. 1.1. Épiderme

L'épiderme est un épithélium superficiel externe de la peau, qui joue un rôle protecteur et qui repose sur un tissu conjonctif assurant sa nutrition est assurée par diffusion. La couche la plus superficielle de l'épiderme contient de la kératine, qui est aussi un constituant des cheveux et des ongles. L'épiderme ne contient aucun vaisseau sanguin, et est formée d'un épithélium squameux, kératinisé épais de 25 à 40 microns, et stratifié en multicouche : le stratum germinatum, le stratum granulosum, le stratum spinosum, et le stratum corneum; principalement composées de kératinocytes et de mélanocytes. L'épaisseur de l'épiderme varie entre 0,07 et 1.4 mm (Dadoune et al., 2000 ; Schaffer et Mednche, 2004).

III. 1. 2. Derme

Le derme ; richement innervé et vascularisé ; représente la couche interne essentielle de la peau, son rôle est prépondérant dans le processus cicatriciel. Il est constitué de tissu conjonctif résistant flexible et riche en neurofibres élastiques, en vaisseaux sanguins, en vaisseaux lymphatiques ; en collagène ; et en lobules graisseux. C'est dans le derme que se trouve la base des follicules pileux et des glandes sudoripares. Le derme est formé de deux couches : papillaire et réticulaire, son épaisseur varie selon la zone du corps, le sexe et l'âge.) (Dadoune et al., 2000 ; Fawcett et Jensch, 2002 ; Marieb, 2005)

III. 1.3. Hypoderme

Sous le derme s'étend l'hypoderme, qui est un tissu lâche richement vascularisé ; constitué de tissu conjonctivo-adipeux qui relie la peau aux organes sous-jacents en leur assurant une certaine mobilité, son rôle prépondérant est l'isolation thermique. Il contient des cellules adipeuses qui forment le pannicule adipeux ; tissu graisseux, divisé en lobules par des travées conjonctives, dont l'importance varie selon la région du corps, le sexe, l'âge et les habitudes alimentaires du sujet (Dadoune et al., 2000).

III. 1. 4. Annexes cutanées

Les annexes cutanées sont représentées par les glandes sébacées, les glandes sudoripares, les follicules pileux, les phanères (poils et ongles), les glandes exocrines. Toutes ces annexes sont issues de derme et se développent dans la couche réticulaire ou derme profond (Marieb, 2005).

III. 2. Physiologie de la peau

Selon Wheater et al., (1995); la peau dont l'épaisseur varie entre 1,5 et 4mm est responsable de certaines fonctions essentielles :

- **Protection** : contre les rayons ultraviolets et les agressions mécaniques, chimiques et thermiques grâce à l'épaisseur de la couche cornée et à la pigmentation de la peau et la présence des poils.
- **Sensation** : c'est l'organe sensoriel le plus étendu du corps car elle renferme des récepteurs des différents types de sensations : tactile, thermique ou douloureuse.
- **Thermorégulation** : c'est le principal organe responsable de la thermorégulation et l'homéothermie. Elle met en jeu : les poils, les tissus conjonctifs sous-cutanés, les adipocytes et la sueur.
- **Fonctions métaboliques** : la peau peut servir d'organe de stockage qui renferme une réserve importante d'énergie essentiellement sous la forme de triglycérides, de glucides, de protéines et d'eau. La peau a un rôle de sécrétion, d'excrétion et de synthèse. La richesse de la peau en glandes en fait un organe sécrétoire. Aussi, la peau synthétise de la vitamine D par le biais des rayons ultraviolets en transformant les stérols en cholécalciférol. Elle produit les phanères (poils et ongles) et la couche cornée.

III. 3. Altération pathologique de la peau

L'étude des maladies de la peau et de ses annexes constitue la dermatologie. La peau normale est lisse et sèche, elle devient altérée lorsqu'elle est rugueuse, squameuse ou suintante. Une description précise des altérations de la surface de la peau permet de prévoir

une partie des modifications histologiques sous-jacentes. Ces altérations indiquent que le processus pathologique a lieu dans le derme et/ou l'hypoderme (Lipsker, 2007).

Quant aux lésions traumatiques de la peau, les arrachements ou avulsions sont des pertes plus ou moins importantes et complètes de peau et posent de délicats problèmes de chirurgie réparatrice. Les contusions sont des atteintes d'écrasement dues à des pressions exagérées. Les plaies des parties molles se répartissent en plaies ouvertes et fermées. Les premières s'accompagnent d'un écoulement de sang plus ou moins important, tandis que les secondes s'accompagnent d'une hémorragie interne dont le degré est variable suivant la nature du traumatisme (Marieb, 2005).

Les brûlures sont des lésions tissulaires provoquées par la chaleur ou par d'autres agents physiques ou chimiques. Selon l'étendu, on distingue des brûlures bénignes ; atteignant moins de 15 % de la surface corporelle, des brûlures graves de 15 à 60 %, et des brûlures au-dessus des ressources thérapeutiques ; touchant plus de 60 % de la surface corporelle. Selon la profondeur, on distingue des brûlures de 1^{ier} degré ; caractérisées par une rougeur diffuse avec un gonflement local et douleur ; exemple d'un coup de soleil. Dans les brûlures du 2^{ième} degré, la douleur est très vive, le derme est mis à nu, parsemé de phlyctène ; si la couche basale du derme est atteinte, il n'y a pas de régénérescence spontanée. Les brûlures du 3^{ième} degré constituent une atteinte cutanée totale ; perte complète de sensibilité, aspect parcheminé, chamois, de la peau. (Marieb, 2008). Dans tous les cas, l'infection doit être évitée par l'application locale d'antiseptiques et la vaccination contre le tétanos.

III. 4. Cicatrisation de la peau

La cicatrisation cutanée est le phénomène physiologique complexe de réparation tissulaire. La cicatrice en est le résultat final et souvent sujet de préoccupation du patient. La plupart des plaies cutanées cicatrisent rapidement en une semaine ou deux lorsqu'elles ne sont ni trop profondes, ni trop étendues. Elles guérissent spontanément, mais nécessitent la coopération entre des facteurs de croissance, des cytokines, la mise en jeu de différents types cellulaires et les interactions avec le milieu extracellulaire (Martin, 1997 ; Singer et Clark, 1999).

L'épithélium et le tissu conjonctif sont capables de se régénérer structurellement et fonctionnellement, tandis que le derme ; les glandes et le follicule pileux sont remplacés par un tissu cicatriciel.

Ainsi, on distingue trois phases successives pour le déroulement de la cicatrisation:

- 1) Phase préparatoire ; formation du caillot et réaction inflammatoire
- 2) La phase proliférative ; prolifération et formation de tissu
- 3) La phase de remodelage tissulaire. (Ferraq, 2007 ; Gambichler et al., 2005).

Au cours de la réparation d'une plaie cutanée, les mélanocytes, comme les kératinocytes, présentent d'abord une phase de migration puis une phase de prolifération mitotique. On observe toutefois des cicatrices pigmentées ou dépigmentées. (Senet, 2007)

Les plaies et les brûlures simples sont soulagées par des crèmes adoucissantes, tandis que les lésions plus profondes doivent être désinfectées avec une solution antiseptique et pansées de façon aseptique. Les lésions graves doivent être traitées en milieu chirurgical.

III. 4.1. Phase préparatoire

La coagulation sanguine au niveau de la plaie oblitère les vaisseaux par la formation d'un caillot qui rétablit l'hémostase. Les plaquettes libèrent plusieurs médiateurs sous forme de cytokines ou facteurs de croissance qui activent les macrophages et les fibroblastes (Boykin, 1996 ; Singer et Clarck, 1999).

Les neutrophiles se fixent aux cellules endothéliales de la paroi des vaisseaux autour de la plaie, puis elles changent de forme pour passer à travers les jonctions cellulaires (diapédèse) et migrent vers le site de la plaie : C'est le début de la phase inflammatoire marquée par : La perte de fonction, la chaleur, la rougeur, l'œdème et la douleur (Diegelmann, 2004).

L'importance et la durée de la phase inflammatoire sont variables selon l'agent agresseur et l'intensité des dégâts tissulaires. Elle associe : vasodilatation, œdème et exsudat fibrineux et leucodiapédèse. La libération des différents médiateurs vasoactifs et facteurs chimiotactiques par les plaquettes et les cellules épithéliales activées, permettent la motivation des cellules immunitaires inflammatoires au niveau du site de la lésion (Singer et Clarck, 1999).

L'implication de ces cellules commence par l'expression et la sécrétion de certaines molécules (cytokines et interleukines). D'autres cytokines importantes sont sécrétées par les monocytes et macrophages en réponses chimiotactiques spécifiques. Des facteurs de décroissance et des macrophages semblent nécessaires à la mise en place et la propagation du processus de la formation du tissu dans la lésion. Ainsi, il apparaît que les macrophages jouent un rôle central dans la transition entre la phase inflammatoire et la formation tissulaire.

III. 4.2. Phase de prolifération

La prolifération cellulaire est un phénomène biologique du processus cicatriciel responsable de la ré-épithélialisation, la formation du tissu de granulation, la réparation dermique et épidermique grâce à la synthèse de collagène, de glycoprotéines et de protéoglycannes ; La formation de nouveaux vaisseaux sanguins (angiogénèse) et à la prolifération de kératinocytes, de fibroblastes et de néo-vaisseaux (Allas, 1997 ; Goliger et Paul, 1995 ; Maurin, 2005 ; Paladini et al., 1996).

Un mécanisme de réduction de la surface de la plaie par le mouvement centripète du tissu cutané entourant la plaie, Il s'agit du processus de contraction.

III. 4. 3. Phase de remodelage

Une longue phase finale de la cicatrisation désignée par la phase de remodelage de la cicatrice débute ; après fermeture totale de la plaie ; par une synthèse de collagène qui se poursuit essentiellement par remplacement du collagène de type I à la place du collagène de type III, et une régression du tissu granuleux qui peut persister pendant des mois, voire des années après la cicatrisation de la plaie. Une rupture de cette phase entraîne des gros problèmes de cicatrisation, en l'occurrence : la cicatrice hypertrophique, la chéloïde, la cicatrice atrophique. Cette phase se poursuit pendant (Coulibaly, 2007 ; Moulin, 2001). La contraction des plaies est achevée vers le 21^e jour associé à un contenu maximal en collagène. Différents éléments interviennent dans ce phénomène, des cellules, tels que les polynucléaires et les macrophages, et des enzymes tel que les protéases synthétisées par les fibroblastes. L'âge, les forces de tension et la pression influencent la synthèse et l'organisation des molécules de collagène (Ferraq, 2007).

III.5. Plantes à activité cicatrisante

L'usage des plantes médicinales pour traiter les infections cutanées et les blessures est très ancien. En fait, toute altération de la peau est directement et rapidement appréciable, et par conséquent, les plaies et brûlures constituent des motifs de recours les plus fréquents à l'efficacité des plantes médicinales et à leurs utilisations traditionnelles dans les différentes régions du monde. L'activité cicatrisante des plantes médicinales a toujours pris de l'intérêt croissant ces dernières décennies, et elle a constamment fait l'objet de nombreuses recherches scientifiques pour sa valorisation en dermo-cosmétologie contemporaine (tableau 19).

Tableau 19 : Quelques plantes médicinales à activité cicatrisante *

Plantes	Famille	Parties utilisées	Mode d'action
<i>Pentas lanceolata</i>	<i>Rubiaceae</i>	Fruits , feuilles, écorces	Plaies d'incision et d'excision nature du tissu de granulation
<i>Musa paradisiaca</i>	<i>Musaceae</i>	Fruits	Plaies de brûlures chez la souris diabétique
<i>Vernonia scorpioides</i>	<i>Asteraceae</i>	Graines	Régularise l'oxydation les kératinocytes
<i>Thespesia populnea</i>	<i>Malvaceae</i>	Fruit	Intervient en phases : inflammatoire et réparation
<i>Hypericum hookerianum</i>	<i>Hyperaceae</i>	Graines	Plaies d'incision et d'excision
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Cactaceae	Graines, Fruits , cladodes (raquettes)	Activité cicatrisante Plaies d'incision et d'excision
<i>Pistacia lentiscus</i>	<i>Anacardiaceae</i>	Baies	Plaies d'incision et d'excision Améliore la vitesse de contraction de la plaie et la période d'épithélialisation
<i>Argania spinosa</i>	<i>Sapotaceae</i>	Amondons	L'huile améliore la prolifération épithéliale dans les plaies cutanées
<i>Eruca sativa</i> Mill.	<i>Brassicaceae</i>	Graine	Graines écrasés appliquées en pansement sur les plaies.
<i>Curbita</i> spp. L.	<i>Ephorbaceae</i>	Graine	Huile extraite des pépins de courge
<i>Linum usitatissimum</i> L.	<i>linaceae</i>	Graine	L'huile extraite des graines

*(Abdeldjalil, 2016 ; Djerrou, 2011)

III. 6. Quelques médicaments conventionnels cicatrisants

Les médicaments conventionnels à effet cicatrisant sur les plaies et brûlures sont très variables et largement prescrits par les dermatologues en dermopharmacie contemporaine ainsi qu'en cosmétologie, en l'occurrence la Biafine® (Trolamine) [une émulsion en flacon pompe de 50 ou 150 mL, Johnson & Johnson Consumer France, prix 6,02 euros] et Flammazine® (Sulfadiazine argentique) [une crème en tube de 50 g, Solvay Pharma, prix 3,86 euros]. Ces produits présentent l'inconvénient de laisser des cicatrices sur la peau après une longue période d'application topique. De même leur prix élevé les rend inaccessibles pour les patients aux revenus modestes. Plusieurs médicaments conventionnels à base de plantes ont fait leur apparition sur le marché comme traitement alternatif aux médicaments conventionnels. Le tableau 20 regroupe quelques médicaments conventionnels à base de plantes pour traiter les plaies et brûlures.

Tableau 20 : Quelques médicaments conventionnels à base de plantes pour traiter les plaies et brûlures.

Nom	Forme galénique	Composition	Labo
Nisacalm	Crème en tube de 50 mL	Thymol, salol, lévomenthol	Mayoli Spindler
Cicaderma	Pommade en tube de 30 g	Calendula, millepertuis, millefeuille...	Boiron-Dolisos
Madecassol	Crème, poudre	Asiaticoside (<i>Centella asiatica</i>)	Merk
Root Care	Crème en tube de 30 mL	A base d'huiles végétales	KenaRoots

Partie II

MATERIEL ET METHODES

I.1. Matériel végétal

Les plantes médicinales objet de la présente étude ont été sélectionnées sur la base d'une enquête ethnopharmacologique réalisée dans notre laboratoire, et ceci indépendamment de ce travail. Les données recueillies sur les plantes utilisées traditionnellement en Algérie comme cicatrisant ont été traitées pour dégager une liste d'une trentaine d'espèces végétales susceptibles d'être potentiellement cicatrisantes. De cette liste, 03 plantes candidates ont été retenues comme prioritaires pour cette étude.

Il s'agit de :

<i>Nom latin</i>	Non commun	Nom local	Abréviation*
1) <i>Pistacia lentiscus</i> L. [<i>Pistaciaceae</i>]	Lentisque	(Derw)	PL
2) <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller [<i>Cactaceae</i>]	Figuier de Barbarie	(Hendi)	OFI
3) <i>Argania spinosa</i> (L.) Skeels [<i>Sapotaceae</i>]	Argan	(Arkan)	AS

* abréviation désignant ci-après les espèces.

Ces 03 drogues végétales (**PL**, **OFI** et **AS**) ont été choisies essentiellement sur la base de leur fréquence importante d'emploi dans la tradition comme cicatrisant, et l'absence ou le peu d'études probantes concernant leur activité cicatrisante.

I.1.1. Récolte du matériel végétal

Les lieux, périodes et modalités de récolte du matériel végétal sont décrites comme suit :

- *Pistacia lentiscus* (plante fleurie et graines) a fait l'objet d'une récolte en Novembre 2008, 2010 et 2011 dans la région immédiate du village de Tahouna, Daïra de Tamalous (Skikda) ;
- *Opuntia ficus-indica* (Racettes et fruits) a été récolté en Aout 2009 et 2011, dans la région de Constantine sur les hauteurs au voisinage de CHUC Ben Badis, Constantine ;
- *Argania spinosa* (fruits) a été fourni gracieusement par le Pr. Cheriti Abdelkarim (Université de Béchar). Il s'agit d'une récolte datant de 2013, faite dans la région de

Tindouf. L'huile d'argan a fait l'objet d'un achat de produit certifié (*Ecocert*[®]) au niveau d'une coopérative agréée au Maroc.

Le matériel végétal propre à chaque espèce est séché à l'ombre à température ambiante ($18^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}$), puis stocké dans des sachets en papier Kraft en attendant les analyses.

I.1.2. Identification du matériel végétal

Les 03 drogues végétales retenues ont fait l'objet d'une reconnaissance préalable au niveau du lab. de pharmacognosie et de botanique médicale (Département de pharmacie, UC3). L'identité de (*Pistacia lentiscus* L.) a été formellement établie par Mr. le Dr. H. Laouer, professeur au département de biologie, Université de Sétif.

Les vouchers spécimens (VS) de *P. lentiscus* (tiges aux stades florifères et fructifères), *O. ficus-indica* (fruits + graines) et *Argania spinosa* (fruits) ont été déposés comme futures références au niveau du Droguiier médical du laboratoire de pharmacognosie, département de pharmacie, Université de Constantine 3, sous les numéros **PL-1108AB**, **OFI-0909AB** et **AS-1310AB**, respectivement.

I.2. Méthodes d'extraction des drogues végétales

Pour les besoins de notre étude, deux solvants d'extraction ont été utilisés.

» Extraction à l'hexane :

Les fruits de *Pistacia lentiscus* et les graines d'*Opuntia ficus-indica* ont fait l'objet d'une extraction à l'hexane pour extraire leurs composantes lipophiles. Les préparations huileuses obtenues, auxquelles se joint l'huile commerciale d'*Argania spinosa*, feront l'objet de deux études ;

- volet analyse chimique : une détermination de leurs paramètres physico-chimiques et caractérisation de leurs composantes en acides gras, en phytostérols et en tocophérols ;
- volet activité biologique : une évaluation de leur activité cicatrisante et de leur innocuité (DL50, test d'irritation oculaire et cutanée) chez l'animal.

» Extraction à l'éthanol :

Les trois drogues végétales (fruits de *Pistacia lentiscus*, graines d'*Opuntia ficus-indica* et amandons d'*Argania spinosa*) ont été soumises à une extraction utilisant de l'alcool (éthanol) pour récupérer leurs extraits polaires. Ceux-ci feront l'objet de deux analyses :

- » une détermination de leurs taux en phénols totaux (PT) et flavonoïdes totaux (FT) ;
- » analyse par CL-MS/MS pour caractériser leurs profils en composés phénoliques.

I.2.1. Extraction à l'hexane

Les graines d'**OFI** et les baies séchées du **PL** ont été broyées à l'aide d'un appareil électrique à couteaux jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et homogène. L'opération d'extraction s'est faite immédiatement avec de l'hexane dans un extracteur type *Soxhlet* jusqu'à épuisement (3x8h). L'extrait de l'hexane obtenu de chacune des drogues végétales est ensuite filtré, puis évaporé complètement sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif type *Heidolph®G3*, pour fournir des résidus jaunes à consistance huileuse. Les extraits huileux de **PL** et **OFI** seront désignés ci-après par **EHPL** et **EHOFI**, respectivement. La teneur en extrait exprimée en pourcentage de matière sèche (MS) est calculée selon la formule suivante (AFNOR, 1998) :

$$\text{matière grasse \%} = \frac{m1}{m2} \times 100$$

m1 = masse de l'extrait huileux (g)
m2 = masse de la prise d'essai de la poudre (g)

Les huiles extraites sont conservées dans des flacons bruns à basse température (approx. 6°C) jusqu'à analyse.

I.2.2. Extraction à l'éthanol du contenu phénolique

Les extraits alcooliques sont préparés à partir de chacune des drogues végétales (DV), comme suit. Le matériel végétal préalablement broyé (**OFI** : graine, **PL** : fruit « baie », **AS** : « amandons ») a été macéré sous agitation continue dans un volume d'éthanol (1:5, m/v), pendant 24 heures. Après filtration du mélange, le solvant est éliminé complètement sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif type *Heidolph®G3* et à une température ne dépassant pas 40°C. Les trois extraits alcooliques résiduels (dénotés **EAOFI**, **EAPL** et **EAAS**), sont pesés et conservés à basse température (approx. 6°C) dans des flacons bruns jusqu'à analyse.

I.2.3. Extraction del' insaponifiable et des acides gras libres

I.2.3.1. Préparation de la fraction des acides gras libres

Le dosage des acides gras dans les deux extraits hexaniques (**EHPL**, **EHOFI**) et huile d'AS (**HAS**) est effectué après leur libération par acidification et leur estérification, selon une méthodologie décrite précédemment (Norme AFNOR, 1998).

En pratique, chacune des 03 préparations (**EHPL**, **EHOFI**, **HAS**) est acidifié à pH = 1 par l'addition d'une solution d'acide chlorhydrique (0.1 M) diluée. Les acides gras libérés sont alors extraits par un aliquot (3x 100 mL) d'éther éthylique dans une ampoule à décanter. Après filtration et évaporation sous vide du solvant dans un évaporateur rotatif à une faible température (< 40 °C), un résidu pâteux est obtenu. La fraction contenant les acides gras libres sera désignée, ci-après, par (**AGL**).

I.2.3.2. Préparation de la fraction insaponifiable

La saponification des deux extraits hexaniques (**EHPL**, **EHOFI**) et huile d'AS (**HAS**) a été réalisée selon la méthode standard (Lagarda, 2006). Un prélèvement de 20 g de chaque préparation est versé dans un ballon de capacité 500 mL, contenant 250 mL d'une solution alcoolique de potasse (1N). La réaction est réalisée sous reflux pendant une période de 2h. Après refroidissement, le mélange réactionnel est concentré sous vide pour éliminer le maximum d'alcool, puis extraite par un aliquote (3x100 mL) d'éther éthylique dans une ampoule à décanter. Les trois extraits de l'éther sont combinés, et la solution éthérée obtenue est traitée par du sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄ anhydre). Après filtration, le filtrat est concentré à sec sous vide dans un évaporateur rotatif pour fournir un résidu sec, désigné ci-après par l'insaponifiable (**INSAP**).

I.3. Méthodes d'analyses

I.3.1. Analyses physico-chimiques

Les drogues végétales (DV) et leurs préparations huileuses (EHPL, EHOFI, HAS) obtenues dans la section précédente ont fait l'objet d'une détermination des paramètres suivants :

- Paramètres mesurés des 3 DV : Teneur en eau, Protéines totales, Taux des cendres (tableau 21).

Teneur en protéines totales :

Le taux des protéines totales des fruits de chaque drogue a été déterminé sur la base de la teneur en nitrogène, corrigé par un coefficient de conversion multiplié par $5,68 \pm 0,3$ (Sosulski et Imafidonx ; 1990). Le dosage de l'azote total (N_{total}) se fait selon la méthode suivante : En pratique, une prise de $5\mu\text{g}$ de la matière végétale sèche et broyée, et soumise à une combustion totale dans un analyseur élémentaire.

Dosage de l'eau :

La teneur en eau est la proportion effective, totale et dosable d'eau dans l'échantillon. Celle-ci est déterminée par la perte de poids à la dessiccation (105°C) à l'étuve pendant plusieurs heures. Balance analytique de précision, Four, Dessiccateur. 5 prises d'essais de masse variant entre 1 et 2g de poudre sont introduites dans 5 creusets tarés et sont placés dans le four à la température de 105°C pendant 24 heures. Après refroidissement dans un dessiccateur nous les avons pesés et la perte de masse observée correspond à la quantité d'eau perdue. La moyenne est calculée et rapportée à 100 g.

Dosage des cendres :

-Dosage des cendres totales : les prises d'essais du dosage de l'eau ont été réintroduites dans le four et calcinées à 600°C pendant 6 heures. Après refroidissement dans un dessiccateur nous les avons pesés. La quantité de Cendre obtenue est pesée et la moyenne rapportée à 100g de prise d'essai.

Les déterminations de ces 3 paramètres ont été effectuées selon les références en vigueur (tableau 21).

- Paramètres mesurés pour les trois préparations huileuses (EHPL, EHOFI) et (HAS):
Densité relative ; Indice de réfraction ; Indice d'acide ; Indice de saponification ; Indice d'iode (tableau 21).

Les déterminations de ces paramètres ont été effectuées selon les normes en vigueur (tableau 21), au niveau du laboratoire régional de contrôle de qualité à Constantine (C.A.C.Q.E).

Tableau 21 : Paramètres physico-chimiques.

Type d'analyse [‡]	Références
Teneur en eau	Sidibe, 2006
Protéines totales	Sosulski et Imafidonx, 1990
Taux des cendres	Sidibe, 2006
densité relative à 20°C	NA [§] 271/1992
Indice de réfraction à 20°C	NA [§] 278/1992
Indice d'acide	NA [§] 273/1992
Indice de saponification	NA [§] 274/1992
Indice d'iode	NA [§] 277/1992

[‡] Protocoles de détermination des divers paramètres sont détaillés en annexe II.

[§] NA-Normes Algériennes

I.3.2. Analyses des acides gras et phytostérols

Les extraits huileux de **PL** et **OFI** (EHPL, EHOFI), ainsi que l'huile d'AS (**HAS**) ont été analysés pour déterminer leur composition en acides gras et en stérols.

I.3.2.1. Analyse des acides gras par CPG-MS

a) Description de l'appareillage

L'analyse des acides gras a été effectuée par une chromatographie phase gazeuse (CPG-FID, *Perkin El[®], Waltam*) couplée à un détecteur spectrométrie de masse à électro-ionisation *Jeol-MS*. La CPG est munie d'un détecteur à ionisation de flamme (CPG-FID), et d'une colonne capillaire de silice *Restek[®] DB-5* (L30m x DI 0.25 mm, EP 0.25 µm). Le gaz azote (N₂) est utilisé comme vecteur, avec un débit de 1 mL/min. L'injecteur et le détecteur SM de ligne de transfert sont maintenus à des températures de 220 et 290 °C respectivement. Un volume d'injection de 2,0 µL de l'échantillon dissous dans l'hexane est utilisé. L'énergie d'ionisation de CPG-SM, est de 70 eV. Le four CPG est programmé avec un de température allant de 60 °C pour les cinq premières minutes, puis augmente par

palier 4 °C /min jusqu'à 240 °C. Cette température sera maintenue pour 10 dernières minutes. La scanographie du temps est de 0,5 s avec un retard de 0,1s.

b) Préparation et analyse des acides gras libres

Les fractions en acides gras libres (AGL) ont été obtenues à partir des préparations huileuses (EHPL, EHOFI, HAS) selon la procédure décrite dans la section (I.2.3.1.).

Les acides gras libres (4 g) ont été estérifiés par 10 mL d'une solution à 2% d'acide sulfurique (H₂SO₄) dans le méthanol absolu (v/v) sous reflux durant 6 h de temps. Ensuite, 20 mL de solution aqueuse saturée de chlorure de sodium (NaCl) est ajoutée au milieu réactionnel. La solution est extraite avec un aliquote (3x15mL) d'hexane, et la fraction organique est d'abord séchée par le sulfate de sodium anhydre, puis filtrée avant d'être évaporée à sec sous pression et température réduites. Le résidu contenant les esters méthyliques d'acides gras est désigné ci-après par **AGME**.

L'identification des AGME est basée sur la comparaison de leurs temps de rétention et leurs spectres de masses avec ceux des standards utilisant une base de données internes (*LabSolution*®). La teneur des AGME est exprimée en pourcent par rapport au total des acides gras (Trabelsi et al., 2012).

I.3.2.2. Analyses des phytostérols

a) Description de l'appareillage

L'analyse des phytostérols a été effectuée par un appareil de chromatographie en phase gazeuse (CPG-MS; *Schimadzu* TQ8030), couplé à un détecteur spectromètre de masse (*thermo-électron*® DSQ-MS). L'énergie d'ionisation de CPG-SM, est de 70 eV. L'injecteur CPG et le détecteur SM de ligne de transfert sont maintenus à une température de 240 C°. Une colonne capillaire nanopolaire *Phenomenex*® DB-5 (L30 m × DI 0,32 mm, EP 0.25 µm), a été utilisée. L'hélium est utilisé comme gaz vecteur avec un débit de 1 mL/min. Le four CPG est programmé avec un gradient de température allant de 60 °C pour les dix premières minutes, puis augmente par palier 4 °C /min jusqu'à 280 °C. Cette

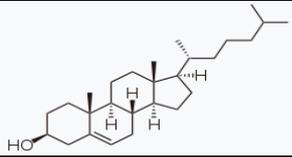
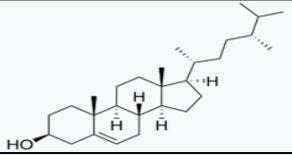
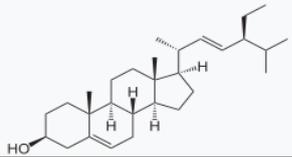
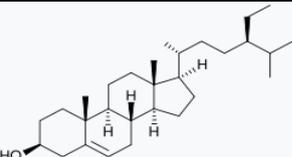
température sera maintenue pour 10 dernières minutes. Un volume d'injection de 0,1 μL de l'échantillon dissous dans l'hexane est utilisé.

b) Préparation et analyse des phytostérols

Les fractions INSAP des préparations huileuses obtenues précédemment (**I.2.3.2.**) ont été traitées par une solution de : [N, O-bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA) + 1% trimethylchlorosilane (TMCS)] en présence de la pyridine (Piironen et al., 2003). Un prélèvement de la solution est analysé directement par CPG-MS (tableau 22).

L'identification des phytostérols-TMS de la fraction INSAP des préparations huileuses est basée sur la comparaison de leurs temps relatifs de rétention et leurs spectres de masse avec ceux obtenus par les standards utilisant une base de données internes (*LabSolution*®) (tableau 22).

Tableau 22: Phytostérols standards (*Sigma-Aldrichl*, Germany) utilisés dans l'analyse chromatographique (CPG-MS).

Phytostérols standards		
Nom commun	Nom systématique	Structure chimique
Cholestérol	Cholest-5-èn-3 β -ol	
Campestérol	Campest-5-én-3 β -ol	
Stigmastérol	(22 E)-stigmasta-5,22-dièn-3 β -ol	
Beta-Sitostérol	Stigmast-5-èn-3 β -ol	

I.3.3. Analyse par HPLC de l'alpha-tocophérol

Les extraits huileux de **PL** et **OFI** (EHPL, EHOFI), ainsi que l'huile d'AS (**HAS**) ont été analysés par CLHP pour leur contenu en alpha-tocophérol ou vitamine E.

I.3.3.1. Description de l'appareillage

L'analyse a été effectuée sur un appareil HPLC (*Analytical instrument-908*) muni de deux détecteurs, l'un à barrettes de diode (DAD : diode array detector, 280,325, and 365nm) et l'autre spectrophotomètre à fluorescence (Excitation =295nm ; Emission=330nm ; temp: 40° C). L'équipement comprend aussi une pompe de marque *Perkin Elmer®200* de faible pression, et un intégrateur *PE NELSON®1022S*. Le dégazage est effectué par l'ultrason. Une colonne en phase inverse, C-18 ODS-M80 (L 100mm, DI 25mm). Débit : 1 mL/min.

Un gradient d'éluant est utilisé pour l'analyse de l'alpha tocophérol (tableau 23)

Tableau 23 : Composition de la phase mobile, analyse de l'alpha-tocophérol.

Temps (min)	Pompe B %	Pompe A %
0.01	0%	100%
9.01	4%	96%
30.01	8%	92%
45.01	22%	78%
50.01	28%	72%
65.01	45%	55%
66.01	0%	100%
108.00	0%	100%

Solvant A = Eau, acide acétique, acetonitrile (94,5/0,5/5); Solvant B = Acetonitrile

I.3.3.2. Préparation et analyse de l'échantillon

Un volume (250 µL) de chacune des préparations huileuses (**EHPL**, **EHOFI**, **HAS**) a été dilué dans 250µL hexane (HPLC grade). Un volume d'injection de 1µL est effectué dans l'appareil. De l'alpha tocophérol (Sigma-Aldrich ≥97 %) est utilisé comme standard. Un volume d'injection de 10 µL est effectué dans l'appareil. La concentration (mg/100g) en alpha-tocophérol a été déterminée selon l'équation obtenue à partir de la courbe de calibration suivante : Absorbance $y = 0,223 \times (\text{mg}) + 0,061$; (R2: 0,981).

I.3.4. Dosages des phénols totaux et flavonoïdes totaux

Les dosages des phénols totaux (PT) et flavonoïdes totaux (FT) sont pratiqués sur les extraits alcooliques (**EAPL**, **EAAS** et **EAOFI** obtenues précédemment (**I.2.2.**)) selon les procédures suivantes :

I.3.4.1. Dosage des phénols totaux (PT)

La concentration des phénols totaux (PT) a été déterminée par spectrophotométrie munie d'un lecteur Elisa (*Eon BiotekInstr*[®]), selon la méthode précédemment décrite (Slinkard et Singleton, 1977), et adaptée à des microplaques 96 puits. Le pyrocatechol (*Merck*[®]) est utilisé comme standard et les résultats sont exprimés en termes d'acide pyrocatechol équivalents ($\mu\text{g PC equiv/mg d'extrait sec}$).

En pratique, Le mélange réactionnel est préparé par addition de 4 μL de chaque extrait alcoolique (1mg/mL) à 180 μL d'eau distillée, auxquels est ajouté 4 μL de réactif de *Folin-Ciocalteu* (10%) dans l'eau. Après un temps de 3 mn, 12 μL d'une solution de carbonate de sodium à 2% (m/v) est additionnée. Le mélange réactionnel est alors incubé pendant 2h à température ambiante et sous obscurité. L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à 760 nm contre le blanc. Les essais sont effectués en triplicata (n=3) pour chaque analyse, et la valeur moyenne de l'absorbance \pm ET est déduite. La même procédure est répétée pour la solution standard du pyrocatechol, permettant d'établir la courbe de calibration (figure 19).

Ainsi, la teneur en phénols totaux (exprimé en $\mu\text{g PC equiv/mg extrait}$) est déduite de l'équation suivante :

$$Y (\text{abs}) = 0,0316 x + 0,0422 ; (R^2=0,9952).$$

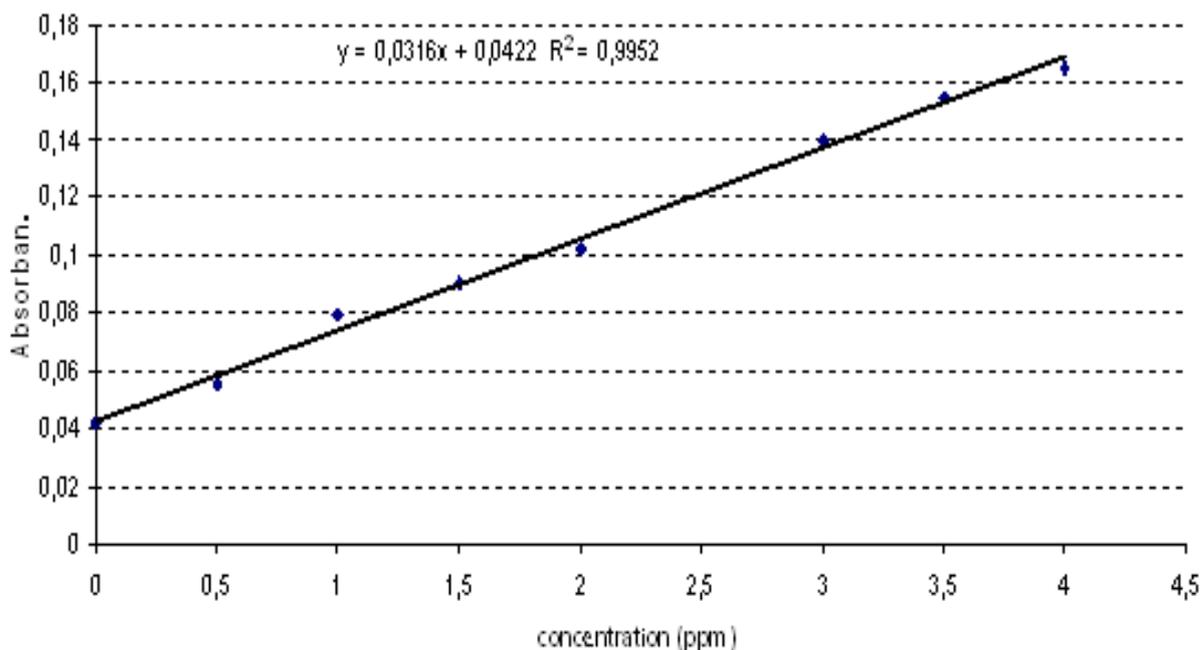


Figure 19 : Courbe de calibration de pyrocatechol pour le dosage des phénols totaux.

I.3.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FT)

La concentration des flavonoïdes totaux (FT) a été déterminée par spectrophotomètre munie d'un lecteur Elisa (*Eon BiotekInstr*[®]), selon la méthode précédemment décrite (Slinkard et Singleton, 1977), et adaptée à des microplaques 96 puits. La quercétine (*Merck*[®]) est utilisée comme standard et les résultats sont exprimés en quercétine équivalents ($\mu\text{g Q equiv/ mg d'extract sec}$).

En pratique le mélange réactionnel est préparé par addition de 20 μL de chaque extrait alcoolique (1 mg/mL) à 172 μL d'éthanol à 80%, auxquels sont ajoutés 4 μL d'acétate de potassium 1M. Après un temps de 1 mn, 4 μL d'une solution $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ à 10% sont additionnés. Le mélange réactionnel est alors incubé pendant 40 mn à température ambiante et sous obscurité. Après incubation, la valeur de l'absorbance est lue à 415 nm contre le blanc. Les essais sont effectués en triplicata ($n=3$) pour chaque analyse, et la valeur moyenne de l'absorbance \pm ET est obtenue. La même procédure est répétée pour la solution standard de quercétine, permettant d'établir la courbe de calibration (figure 20).

Ainsi, la teneur en flavonoïdes totaux (exprimé en $\mu\text{g Q equiv/ mg extract}$) est déduite de l'équation suivante :

$$Y (\text{Abs}) = 0,0269 x + 0,0393 ; (R^2=0,9989).$$

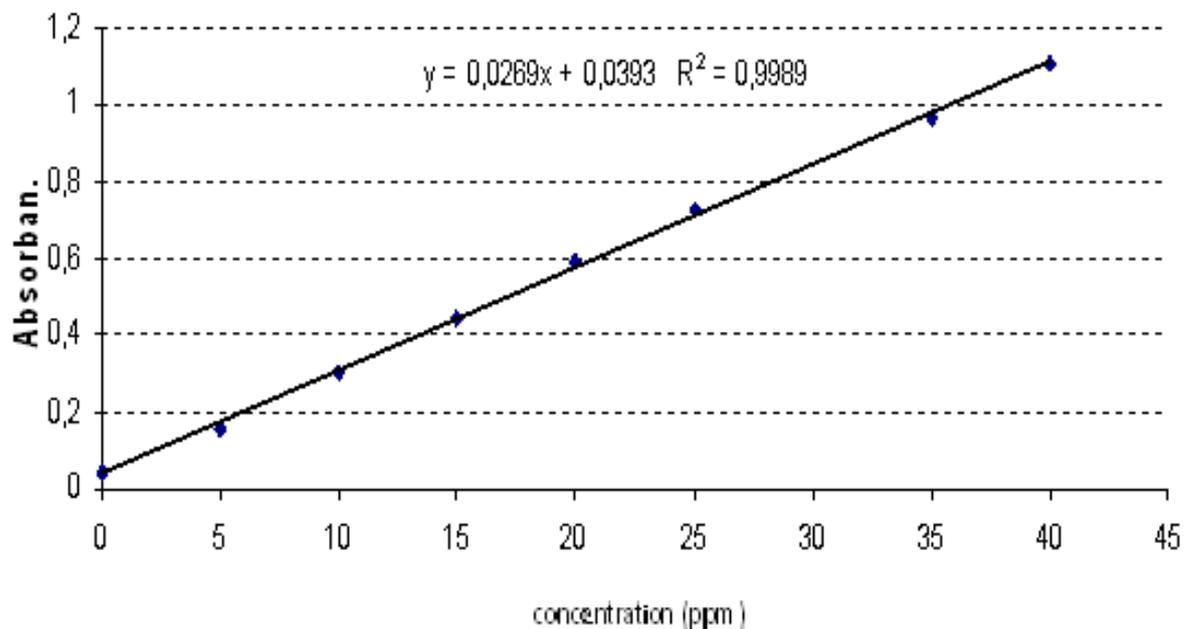


Figure20 : Courbe de calibration de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

I.3.5. Analyse chromatographique (CLHP-SM/SM) des composés phénoliques

Les extraits alcooliques de chacune des drogues végétales (EAPL, EAAS et EAOFI) obtenues précédemment (I.2.2.) ont été analysés pour leur contenu en composés phénoliques. L'analyse a été effectuée par CLHP-ESI-SM/SM, selon une méthode préalablement validée (Ertas et al., 2014).

I.3.5.1. Equipement et conditions opératoires

L'équipement et les modalités d'analyse pour la détermination du contenu en composés phénoliques sont décrits dans le tableau 24.

Tableau 24: Description du matériel d'analyse (CLHP-MS/MS).

Equipement/matériel	spécifications
Shimadzu LC-ESI-MS/MS	» Equipement <i>Shimadzu</i> [®] UHPLC : - pompe binaire à gradient modèles LC-30 AD ; - dégazeur modèle DGU-20A3R ; - lecteur d'onde XS (BioTek, USA), $\lambda_{\text{max}}=280$ nm; - four à colonne modèles CTO-10ASvp ; - échantillonneur automatique modèle SIL-30AC ; » Instrument MS (<i>Shimadzu</i> MS 8040) - modèle triple quadripole, équipé ESI mode négatif Temp. Interf = 350°C, DL temp. = 250°C, Temp du bloc = 400°C, gaz nébul. (N ₂), débit 3 l/mn, gaz séchage (N ₂)=15 L/mn. Traitement par Logiciel <i>LabSolutions</i> [®] (<i>Shimadzu</i>)
Colonne	C18, phase inverse ODS-4 [100 mm (L) x 2,1 mm (ϕ), 2 μ m(ep.)]
Système éluant Ertas et al (2014)	Gradient d'éluant* : - Solution (A) : Eau avec 0,1% acide formique formique - Solution (B) : CH ₃ CN, additionnée de 10 mM de formiate d'ammonium et 0.1% acide formique *) S _B : 5-20% (0 à 10mn) → S _B : 20% (10 à 22mn) → S _B : 20% à 50% (22 à 36mn) → S _B : 95% (36 à 40mn) → S _B : 5% (40 à 50mn) → S _B : 20% (50 à 65mn).
Volume d'injection	10 μ L
Débit	0,25 mL/mn.
Préparation de l'échantillon	Extrait dilué obtenu à partir de la solution mère (1000 ppm), puis filtré à travers un filtre à microfibrilles (0,2 μ m).

I.3.5.2. Identification et quantification des composés phénoliques des extraits alcooliques

La composition qualitative/quantitative en composés phénoliques des extraits alcooliques de PL, OFI et AS a été établie par HPLC-ESI-MS/MS à l'aide de composés phénoliques standards par une méthode standardisée dans le laboratoire turc associé (Eras et al., 2014). Pour les besoins de l'analyse 27 composés standards ont été utilisés, principalement des composés phénoliques et flavonoïdiques (tableau 25).

Tableau 25: liste des standards utilisés dans l'analyse chromatographique (CL-SM/SM).

Type de composés phénoliques	Nom (<i>Sigma-Aldrich</i> [®] , Germany et <i>Merk</i> [®] , USA)	
Acides-phénols	Acide chlorogénique (95%) A. tr-caféique (98%) A. tr-aconique (98 %)	A. rosmarinique (96%) A. protocatechique(97%)
Aldéhyde phénolique	vanilline (99%)	
Acides hydroxybenzoïques	A. 4-hydroxybenzoïque (≥99 %), A. quinique (98 %),	A. gallique (≥99 %), A. salicylique (≥99 %)
Acide cinnamiques	a. p- coumarique (98%) (ou a. hydroxycinnamique),	
Polyphénol : tanins	acide tannique (95%)	
acides non phénoliques	a. malique (97%),	
Xanthocyanes	Lutéoline (≥97 %)	
flavonoïdes	Rutine (94%) myricétine (≥96 %) Fiséline (≥98 %) hespérétine (95%) quercétine (95%) naringénine (95%)	kaempférol (≥97 %) apigénine (≥99 %) rhamnitéine (≥99 %) chrysin (97%) hespéridine (≥97%) hyperoside (≥97 %)
autres	Coumarine (≥99 %)	

L'identification des composés des extraits a été faite par rapport aux temps de rétention (RT) de standards et à l'aide des séquences de fragmentation de spectres de masse utilisant une base de données internes (*LabSolution*[®]). L'estimation quantitative des composés phénoliques est obtenue à partir des courbes de calibration.

L'ensemble des données référant à la calibration de la méthode sont regroupées en annexe III.

I.4. Tests biologiques

Une description complète des protocoles utilisés pour chacun des tests biologiques sont détaillés en annexe IV.

I.4.1. Evaluation de l'innocuité cutanée

Dans cette évaluation, deux essais sont réalisés : un test d'irritation oculaire et un test d'irritation cutané primaire.

I.4.1.1. Test d'irritation oculaire

Cette méthode est utilisée pour déterminer de manière objective le degré de l'irritation oculaire provoquée par une substance lorsqu'elle est introduite dans l'œil du lapin (J. O. R. F. du 24/10/84, Hamdi Pacha Y. 1993). L'irritation oculaire est observée par un examen direct, selon une échelle quantitative numérique de 0 à 4. Cette observation est effectuée dans l'ordre suivant :

- Pour la conjonctive, l'examen se fait comme suit :
 - Chémosis (A), évalué par son gonflement
 - Larmoiement (B), évalué par son humidification
 - Rougissement (C), évalué par l'état et la couleur des vaisseaux

L'évaluation de la conjonctive est déterminée par l'équation : $(A+B+C) \times 2$, avec un maximum de 20.

- Pour l'Iris (D), l'examen indique son état de congestion et gonflement, ainsi que sa réaction à la lumière. La note obtenue (échelle de 0 à 4), désignée par (D) est multipliée par 5, avec un maximum de 10.
- Pour la Cornée, on évalue son degré (E) et sa surface (F) d'opacification.
Le produit des deux notes ($E \times F$) obtenu est multiplié par 5, avec un maximum de 80.

Le calcul de l'indice d'irritation oculaire individuelle (I.O.I.) est effectué comme suit :

$$\text{Indice I.O.I} = [(A+B+C) \times 2] + [D \times 5] + [(E \times F) \times 5]$$

L'indice d'irritation oculaire moyen (I.O.M.) représente la moyenne de la somme des I.O.I (n=6).

L'indice d'irritation oculaire maximale correspond à la valeur d'I.O.I la plus élevée. Le temps d'apparition de celui-ci sera précisé.

1.4.1.2. Test d'irritation primaire cutanée

La méthode s'applique aux produits ne colorant pas la peau d'une manière indélébile. Elle consiste à l'observation des réactions cutanées provoquées par l'application unique d'un produit. (J. O. de la république française du 21 /01/82, Hamdi Pacha Y. 1993)

Les observations sont faites sur les deux zones, scarifiées et non scarifiées, selon une échelle numérique de 0 à 4. Ces observations sont effectuées dans l'ordre suivant :

- Érythème et formation d'escarres ;
- Formation d'œdème.

Les chiffres obtenus chez les six lapins sont additionnés, pour l'érythème et pour l'œdème après 24 heures et 72 heures sur les zones non scarifiées et scarifiées. Les chiffres ainsi obtenus (Ery + Œd) sont additionnés, et la moyenne est déduite en divisant le total par 24. Cette moyenne représente l'indice d'irritation primaire cutanée (I.P.C), sa valeur nous renseigne sur le degré d'irritation selon l'ordre suivant :

$I.P.C \leq 0,5$	→ Non irritant
$0,5 \leq I.P.C \leq 2$	→ Légèrement irritant
$2 \leq I.P.C \leq 5$	→ Irritant
$5 \leq I.P.C \leq 8$	→ Très irritant

I.4.2. Test de toxicité aigüe

Cette étude consiste à déterminer la toxicité aigüe des préparations huileuses administrées par voies orale et intrapéritonéale. Le but recherché est de déterminer leur éventuelle toxicité sur les souris en fonction de la dose administrée (exprimée en mL/kg).

Cette toxicité aigüe est matérialisée par la dose létale (DL50) qui correspond à la dose qui provoque 50% de mortalité des souris traitées.

I.4. 2.1. Animaux

Des souris blanches (*Mus Msculus*) albinos de souche suisse provenant du département de pharmacie (Faculté de médecine, Constantine), âgées de 6 à 10 semaines, pesant entre 18 et 30g.

I.4. 2.2. Protocole

Des souris sont réparties en lots de 10 chacun, répartis dans des cages en plastique avec un accès libre à l'eau et à la nourriture (mélange standard en granulées pour souris). Les animaux sont privés de nourriture 24h avant le début de l'expérimentation. Les souris sont traitées par une prise unique de la préparation huileuse par voies orale et intrapéritonéale, avec des doses variant de 10, 20, 30, 40, 50, 60 et 70 mL / kg (*per os*) et 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, et 6 mL / kg (*v.i.p*) comme précédemment reportées (Zaoui et al, 2002). Le lot contrôle est mis dans les mêmes conditions, mais ne reçoit par le traitement par la préparation huileuse. Après administration de l'huile, les souris sont observées le premier jour toutes les 60 minutes pendant 08 premières heures, et tous les jours une seule fois à la même heure pour une durée de 14 jours. Pendant cette période d'observation, le nombre de morts ainsi que les troubles symptomatologiques (diarrhée, vomissement, immobilité, etc.) observés sont documentés. Ce suivi des signes cliniques de la toxicité inclue l'observation de l'évolution de poids chez les souris des différents lots expérimentaux tout au long de la période de l'évaluation de la toxicité aigüe (Adjoungoua, et al, 2008).

Dans notre cas, nous avons adopté la méthode de KABBER et BERHENS (Adjoungoua, et al, 2008) pour le calcul de la DL50.

$$DL_{50} = DL_{100} - \frac{\Sigma a \times b}{n}$$

DL₅₀ : dose donnant 50% de morts.

DL₁₀₀ : dose donnant 100% de morts.

a : moyenne des morts entre deux doses successives.

b : différence entre deux doses successives.

n : moyenne des animaux utilisés.

I.4.3. Evaluation de l'activité cicatrisante

L'évaluation de l'activité cicatrisante est faite sur des plaies d'excision réalisées sur des lapins albinos, selon un protocole précédemment décrit (Boulebda et al. 2010).

Cette étude a concerné l'évaluation du potentiel cicatrisant *in vivo* des trois préparations huileuses (EHPL, EHOFI, HAS).

I.4.3.1. Animaux

Des lapins (albinos *New-Zealand*) de sexe male, adultes et en bonne santé, proviennent d'un achat auprès d'un éleveur conventionné de la région d'Ain M'lila (O. E.B.). Les animaux âgés de 6 à 10 mois et d'un poids variant entre 1,8 kg et 2,4 kg ont été sélectionnés pour cette étude. Les lapins ont été acclimatés dans un environnement standardisé (température ambiante de 22±2°C, cycle de lumière de 12 h lumière-obscure, etc.) pendant une période de deux semaines avant l'essai. L'accès des animaux à l'eau et l'aliment standard (granulés pour lapins) à volonté. Le transfert des animaux dans des cages individuelles s'est fait 48 heures avant le début de l'expérience dans les mêmes conditions que précédemment. Des lots de 06 animaux sont constitués.

Toutes les procédures expérimentales ont été adoptées en conformité avec les directives internationales de protection des animaux (voir déclaration en annexe V).

I.4.3.2. Protocole

La procédure utilisée dans cette étude est celle décrite par Boulebda et al., 2010.

a) Modèle de plaie d'excision :

i. Mode opératoire

Tous les lapins choisis aléatoirement pour cette évaluation ont été tondu préalablement sur toute la surface dorsale à l'aide d'une tondeuse électrique.

ii. Préparation et anesthésie générale

Le jour du début de l'expérience, les petits poils restant sur le dos de l'animal ont été ensuite rasés avec une lame de rasoir stérilisé. Les lapins reçoivent une anesthésie générale au chlorhydrate de kétamine à la posologie de 20 mg/kg, associé à 2 mg/kg d'Acépromazine, injectés par voie intramusculaire (IM).

iii. Excision chirurgicale des plaies

Des plaies d'excision rectangulaires de dimension (2 x 1 cm), ont été pratiquées au niveau de la colonne dorsolombaire de la même façon pour tous les lapins.

b) Traitement des plaies :

Les différents lots, chacun constitué de 06 animaux, ont reçu les traitements suivants :

Un (1) LOT #CONT# : animaux opérés non traités ;

Trois (3) LOT #EHPL#, #EHOFI# et #HAS# : animaux opérés recevant les 3 préparations huileuses.

Les traitements par voie topique ont débuté juste après l'excision des lapins, à raison de 0,5 mL par plaie, ceci quotidiennement jusqu'à ce que l'épithélialisation complète ait eu lieu.

I.4.3.3. Mesures des paramètres de progression:

La progression de la régression des plaies est suivie à travers leur surface. Celle-ci est déterminée par le biais d'une prise de vue par un appareil photographique (Canon EOS 1000D), suivi d'un traitement de la surface par un logiciel informatique (AUTOCAD®).Le

pourcentage de régression de la plaie d'excision est déterminé, à J₁(100% de surface excisée). Le pourcentage de régression de la plaie au jour x est déterminé à partir de l'équation suivante (Srivastava et Durgaparasad ; 2008) :

$$\% \text{ de la contraction de la plaie} = [(surface J_1 - surface J_x) / surface J_1] \times 100.$$

J₁ : le premier jour de l'expérimentation

J_x : le jour J de la mesure de la surface de contraction

La prise de poids corporelle des animaux est effectuée chaque semaine à l'aide d'une balance pour animaux.

I.4.3.4. Analyses statistiques :

Les résultats des mesures de la progression de la cicatrisation (régression de la surface de la plaie en fonction du temps) ont été effectuées périodiquement (J =1, 3, 6, 9, 12 et 15 jours) jusqu'à la fin de l'expérience. Les % de la contraction de la plaie sont exprimés en (moyenne ± ET) pour chaque lot de lapins. Les résultats sont statistiquement analysés par le test *t-Student* pour identifier les différences entre les groupes de traitement. Les valeurs sont considérées significativement différentes pour (P<0,05).

Parti III

RESULTATS ET DISCUSSION

I.1. Caractérisation organoleptique préliminaire des drogues végétales

Dans le but de caractériser au mieux le matériel d'étude (figure 21), nous avons procédé à la mesure des paramètres organoleptiques suivants : la taille, le poids et la couleur. Les valeurs moyennes (n=100) sont rapportées dans le tableau 26.

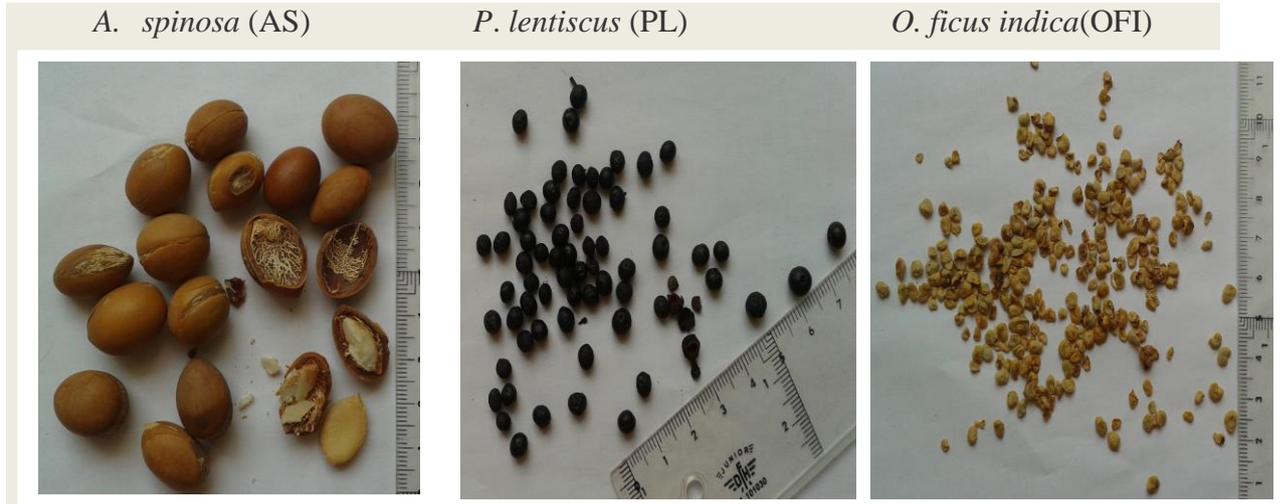


Figure 21: Morphologie des amandes, des baies et des graines.

Tableau 26 : les caractéristiques organoleptiques des différents échantillons.

Paramètres organoleptiques	Échantillons		
	AS (amandon)(n=100)	OFI (graine)(n=100)	PL (baie)(n=100)
Dimension (diam. /long, exprimés en mm)	17,6±1,8	4,0 ± 1,5	6,0 ±2,0
Poids (exprimés en g)	41,95±3,33	8,47±1,95	15,22±0,43
couleur	Jaune pâle	Marron claire	Noir
Forme	ovale	Haricot, rein	ronde

Les paramètres organoleptiques mesurés ainsi que les descriptions botaniques des trois échantillons étudiés sont cohérent avec ceux rapportés par d'autres auteurs (Baba Aissa, 1999 ; El Monfalouti et al., 2010 ; Hichey et King, 1988 ; Iserin, 2001).

I.2. Détermination des taux de protéines, cendres et eau des DV

Le matériel végétal (fruits de **PL** et **AS**, graine **OFI**) a fait l'objet d'une détermination des taux en eau, en protéines, et en cendres. Les valeurs trouvées sont exprimées dans le tableau 27.

Tableau 27 : Les propriétés physico-chimiques du matériel végétal.

Teneur (%)	AS*	OFI*	PL*
<i>Eau</i>	7,82±0.5	6,2±0,1	11,6±0,1
<i>Protéines</i>	26,21±1,07	28,39±0,92	23,85 ± 1,26
<i>Cendres</i>	10,52±0,06	3,23±0,02	1,46±0,02

* valeur du pourcentage exprimée en moyenne ± ET. (n=3).

Plusieurs constatations peuvent être faites à partir des valeurs des taux de protéines :

- Globalement, les 03 échantillons de **AS**, **OFI** et **PL** sont considérés riche en matières en protéines (Iserin, 2001 ; Karleskind, 1992) ;
- L'échantillon **OFI** analysé montre une valeur en protéines totales (28,39±0,92) significativement plus élevée que celle de **PL** (23,85±1,26) et **AS** (26,21±1,07).
- Aucune étude n'est signalée sur le contenu en protéines totaux de **PL**;
- Des valeurs de taux de protéines nettement inférieures sont rapportées par d'autres auteurs pour **AS** (Charrouf et Guillaume, 2014) et **OFI** (El Kossori, 1998). Cette différence peut être expliquée par la méthode moins précise utilisée par ces auteurs, basée sur la digestion acide par rapport à la méthode d'analyse élémentaire utilisée dans notre étude.

I.3. Caractérisations physico-chimiques des préparations huileuses

I.3.1. Rendement d'extraction à l'hexane

Les rendements d'extraction à l'hexane (regroupant les matières lipophiliques) des différentes plantes sont représentés dans le tableau 28.

Tableau 28: Rendement d'extraction à l'hexane.

Echantillon	Rendement d'extraction %
<i>P. lentiscus L.</i> (EHPL)	25,67± 0,85
<i>A. spinosa L.</i> (HAS)	- ✕
<i>O. ficus indica L.</i> (EHOFI)	10,45±0,10
✕ non concerné (i.e. huile grasse)	

Les baies de **PL** ont donné un résidu des matières extractibles à l'hexane plus important en masse comparé à celui obtenu à partir des graines d'**OFI**. Cette différence peut être expliquée par la nature de la partie végétative extraite (baie/graine).

I.3.2. Analyses organoleptiques et physico-chimiques préparations huileuses (EHPL, EHOFI et HAS)

Les résultats des mesures effectuées sur les paramètres organoleptiques (couleur, Etat physique, odeur et saveur, etc.) et physico-chimiques généraux (densité, indice d'acides, indice de réfraction, etc.) sont illustrés dans le tableau 29.

Tableau 29 : Propriétés organoleptiques et paramètres physico-chimiques des différentes préparations huileuses.

Paramètres	HAS	EHOFI	EHPL
Couleur	jaune	jaune claire	verte
Etat liquide la T° ambiante	visqueux	visqueux	Très visqueux
Saveur	aromatique	sans saveur	acre astringent
Odeur	inodore	inodore	piquante
Densité à 20 °C (g / mL)*	0,901±0,03	0,909±0,01	0,918 ±0,02
Indice de réfraction (20°C)*	1,495±0,03	1,476±0,01	1,465±0,03
Indice d'acide (mg KOH / g)*	1,95±0,04	1,82±0,1	2,27±0,03
Indice de saponification (mg KOH / g d'huile)*	187,95±0,03	177,10±0,05	193,30±0,05
Indice d'iode (I ₂ g / 100g)*	91,06±0,09	93,45±0,22	87,38±0,31

* valeur moyenne de plusieurs mesures ± ET (n=3).

Plusieurs constatations peuvent être faites à partir de l'examen des résultats du tableau 29.

i) Densité : la densité ou masse volumique dépend de la température et de la composition chimique de l'huile. Elle nous renseigne sur la nature de la composante en acides gras, notamment de la longueur de la chaîne, de la présence d'insaturation et de fonctionnalité sur la chaîne carbonée (Bruneton, 1999).

Les huiles grasses à forte proportion d'acides gras insaturés, comme celles des huiles d'olive et d'avocat (tableau 30), ont des densités élevées, au-delà de 0,900 (Karleskind, 1992). Par ailleurs, les huiles à forte proportion d'acides gras saturés, cas de l'huile de palme, ont des densités relativement plus faibles, inférieur à 0,900 (Boudjira, 2002 ; Farines et al., 1984 ; Maurin, 1992).

Les valeurs de densité des préparations huileuses (**HAS**, **EHOFI**, et **EHPL**) sont comparées à celles d'autres huiles grasses insaturées et saturées de référence (tableau 30).

Tableau 30 : valeurs de la densité de quelques huiles grasses (Boudjira, 2002 ; Farines et al., 1984 ; Maurin, 1992).

Désignation de l'huile	densité	Acides gras dominant
Huile d'olive	0,910 à 0,916	AG insaturés
Huile d'avocat	0,910 à 0,920	AG insaturés
Huile de palme	0,895 à 0,900	AG saturés

Les valeurs obtenues pour les préparations huileuses **HAS**, **EHOFI** et **EHPL** sont (0,901±0,03), (0,909±0,01) et (0,918 ±0,02), respectivement. Ceci démontre que les valeurs obtenues pour les trois préparations sont en faveur d'huiles grasses à dominance insaturée. Des études faites directement sur l'huile de lentisque et l'huile d'argane rapporte des valeurs de densité de 0,919 ±0,01 (Djerrou, 2014) et 0,912±0,065 (Charrouf et Guillaume, 2014), respectivement.

ii) Indice de réfraction (IR) : l'indice de réfraction dépend, comme la densité, de la composition chimique de l'huile et de la température. Il croît avec l'insaturation et la présence sur les chaînes grasses de fonctions secondaires (Bruneton, 1999).

Les valeurs obtenues pour **HAS**, **EHOFI** et **EHPL** sont (1,495±0,03), (1,476±0,01) et (1,465±0,03), respectivement. Pour **HAS**, une étude relativement récente rapporte un IR entre 1,463 à 1,472 mesuré à 20°C pour l'huile d'argane (Charrouf et Guillaume, 2014). En outre, d'autres études sur les IR donnent des valeurs de 1,471 pour l'extrait à l'hexane d'**EHOFI** (El Mannoubi et al., 2009), et 1,446 à 1,468 pour l'huile végétale d'**EHPL** (Djerrou, 2014). Ces valeurs sont aussi proches de celles rapportées par Karleskind (1992), concernant d'autres huiles végétales, à savoir les huiles d'olive, de palme, et d'avocat, qui sont respectivement (1,468-1,470) et (1,453-1,458) et (1,465-1,474).

iii) Indice d'acide (IA): Ce paramètre nous informe sur le taux d'acides gras libres existant dans l'huile (Bruneton, 1999). Les valeurs obtenues pour les préparations huileuses (**HAS**, **EHOFI** et **EHPL**) sont (1,95±0,04 mg KOH/g), (1,82±0,1 mg KOH/g) et (2,27±0,03mg

KOH/g), respectivement. Concernant l'extrait huileux (EHPL), une étude précédente signale que la valeur d'IA varie selon le stade de maturité de la plante (Charef et al., 2008). Des valeurs d'IA de $7,7 \pm 0,3$ et $24 \pm 0,5$ mg KOH/g sont obtenues respectivement des baies de couleur noire et rouge (Charef et al., 2008). Notre valeur d'IA trouvé est de $2,27 \pm 0,03$ mg KOH/g, obtenue à partir de baies noires mûres, est plus faible que le minima rapporté par l'étude précédente. D'autres études réalisées directement sur l'huile de lentisque et l'huile d'argane rapportent une valeur d'IA de $7,0 \pm 0,3$ mg KOH/g (Djerrou, 2014) et $\leq 2,5$ mg KOH/g (Charrouf et guillaume, 2008) respectivement. Pour EHOFI, EL Mannoubi a rapporté une valeur de IA de l'extrait à l'hexane des gaines d'OFI de $1,27 \pm 0,005$ mg KOH / g (El Mannoubi et al., 2009). Cette valeur est plus faible que celle trouvée dans notre étude ($1,82 \pm 0,1$ mg KOH/g). Une valeur élevée d'IA signifie une mauvaise conservation des fruits avant extraction ou de l'huile, ou une récolte faite à partir de fruit non mûres (Djerrou, 2014).

iv) indice de saponification (IS) : Les valeurs obtenues pour les préparations huileuses (HAS, EHOFI et EHPL) sont ($187,95 \pm 0,03$ mg KOH/g), ($177,10 \pm 0,05$ mg KOH/g) et ($193,30 \pm 0,05$ mg KOH/g), respectivement.

Pour AS, une étude ultérieure faite sur l'huile d'argane rapporte une valeur d'IS de $194,0 \pm 5,0$ (Charrouf et Guillaume, 2014). Cette valeur est plus élevée que celle trouvée dans notre étude ($187,95 \pm 0,03$ mg KOH/g).

Pour EHPL, la valeur de l'IS semble relativement élevée de celle obtenue par une précédente étude (Charef, 2008), qui rapporte comme un IS de $147,8 \pm 0,2$ pour l'extrait à l'hexane des fruits noirs de *Pistacia lentiscus*, tandis que pour les fruits rouge, donne un IS de $154,6 \pm 0,1$.

I.4. Caractérisations par CPG-SM des acides gras et phytostérols des préparations huileuses :

Les préparations huileuses ont fait l'objet d'une analyse par CPG-SM de leur contenu en acides gras et phytostérols. Les résultats de ces analyses sont exposés dans la partie qui suit.

I.4.1. Caractérisations chromatographiques (CPG-MS) des acides gras

Les résultats obtenus à partir de l'analyse des préparations huileuses HAS, EHOFI et EHPL sont rapportés dans le tableau 31.

Tableau 31 : Composition des acides gras des trois préparations EHPL, HAS et EHOFI.

Acides gras	Composition en acides gras esters éthyliques, exprimée en (% AG totaux)		
	EHPL	HAS	EHOFI
A. myristique (C14:0)	ND	0,11	0,05
A.pentadécanoïque (C15:0)	ND	0,02	ND
A. palmitique (C16:0)	20,83	11,18	10,83
A. palmitoléique (C16:1)	2,91	0,07	0,69
A. héptadécanoïque (C17:0)	0,04	0,05	0,06
A. cis-10-Héptadécanoïque (C17:1)	0,06	ND	ND
A. stéarique (C18:0)	1,00	ND	ND
A. élaidique (C18:1n9t)	ND	6,09	3,51
A. oléique (C18:1n9c)	48,91	44,40	18,59
A. linolélaïdique (C1 :2n6t)	ND	ND	0,22
A. γ-linoléniq ue (C18:3n6)	ND	ND	57,60
A. linoléique (C18:2n6c)	21,86	36,69	ND
A. linoléniq ue (C18:3n6)	0,30	0,11	0,32
A. arachidique (C20:0)	0,10	0,42	0,41
A. cis-11-Eicoseniq ue(C20:1)	0,11	0,40	0,22
A. beheniq ue (C22:0)	ND	0,12	0,24
A. érucique (C22:1n9)	ND	ND	0,05
Cis-13,16-docosadieniq ue (C22 :2)	ND	0,24	ND
A. tricosaniq ue (C23:0)	ND	ND	0,03
A. lignocériq ue (C24:0)	0,04	0,04	0,14

ND : non détecté

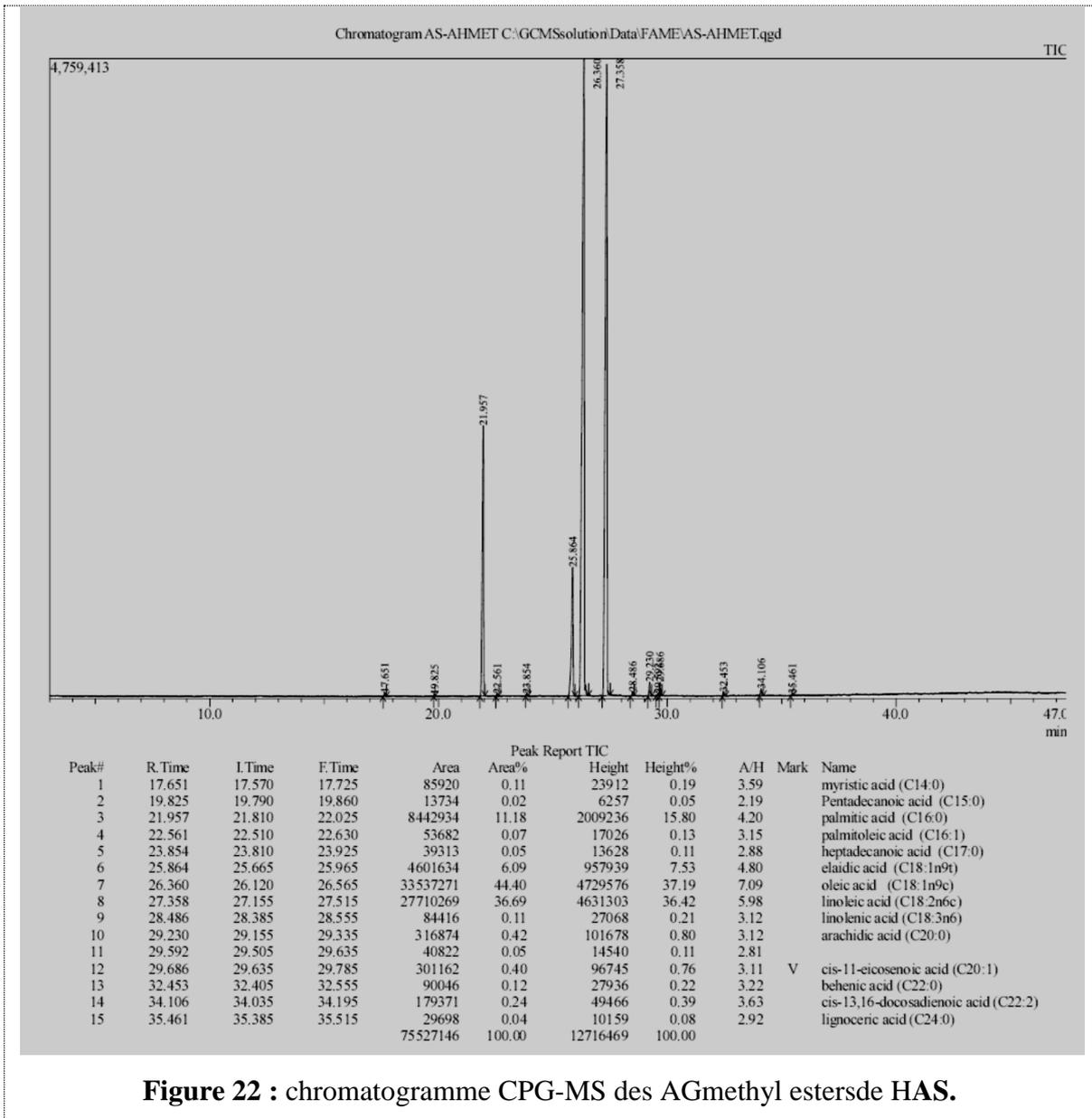


Figure 22 : chromatogramme CPG-MS des AGmethyl esters de HAS.

Les tracés chromatographiques des AGME des préparations huileuses analysées sont regroupés dans l'annexe VI.

Pour HAS (tableau 31, figure 22), les principaux acides gras sont l'acide oléique (44,40%), ac. linoléique (36,69%), ac. palmitique (11,18%) et ac. élaidique (6,09%). D'autres acides gras sont présents avec des quantités moindres (0,42%), dont certains restent non identifiés.

Pour EHOFI (tableau 31), les principaux acides gras sont l'acide γ -linoléique (57,60%), ac. oléique (18,59%), ac. palmitique (10,83%), ac. de structure non identifiée (6,08%) à

RT=26,43 mn) et ac. élaidique (3,51%). D'autres acides gras sont présents avec des quantités moindres (0,69<%), dont certains restent non identifiés.

Pour EHPL (tableau 31), les principaux acides gras sont l'acide oléique (48,91%), ac. linoléique (21,86%), ac. palmitique (20,83%), ac. palmitoléique (2,91%), ac. non identifié (2,85% à RT=26,38 mn) et l'ac. stéarique (1,0%). D'autres acides gras sont présents avec des quantités moindres (<0,30 %), dont certains restent non identifiés.

A ce stade les résultats montrent que les acides gras insaturés (mono- et polyinsaturés confondus) sont dominants dans la composition des trois préparations huileuses (HAS, EHPL, EHOFI) (tableau 32). Par ailleurs, les rapports de (AGPI/AGS) pour EHPL, HAS et EHOFI montrent des valeurs allant de 1,00 à 4,94. EHOFI et HAS présentent des valeurs de rapport (AGPI/AGS) supérieures à 1,5. Ces valeurs dénotent de leur bonne qualité nutritionnelle. Selon les recommandations diététiques reconnues un rapport (AGPI/AGS) > à 1,5 est une indication de la bonne valeur nutritionnelle de l'huile (Ribarova et al., 2003).

Tableau 32 : Contenu en Acides gras saturés vs insaturés (mono et polyinsaturés).

	EHPL	HAS	EHOFI
Σ AGS (sat.)	22,01	11,94	11,76
Σ AGMI (mono insat.)	51,99	50,96	23,06
Σ AGPI (poly insat.)	22,16	37,04	58,14
Σ AGPI/ Σ AGS	1,00	3,10	4,94

Des études ultérieures faites sur la composition de l'extrait apolaire du fruit de PL signalent comme acides gras dominants, l'ac.oléique, ac. linoléique, et l'ac. palmitique (Charef et al., 2008 ; Trabelsi et al., 2012). Une autre étude plus récente réalisée sur l'huile de lentisque rapporte le même profil des acides gras majoritaires (Djerrou, 2014). Notre étude sur le profil des acides gras des fruits de PL est cohérente avec les précédents travaux (Charef et al., 2008 ; Trabelsi et al., 2012 ; Djerrou, 2014).

Des travaux précédents réalisés sur l'huile de AS rapportent la présence comme acides gras majoritaires, l'acide oléique, ac. linoléique et ac. palmitique (Charouf et Guillaume, 2002). Deux autres études utilisant l'extrait de l'hexane du fruit (amandons) rapporte la présence

des mêmes acides gras majoritaires (Kouidri et al. 2014 ; Yousfi et al., 2009). Nos résultats sur le profil des acides gras de l'huile de AS sont en accord avec les précédents rapports (Charouf et Guillaume, 2002 ; Kouidri et al. 2014 ; Yousfi et al., 2009).

Deux précédentes études ont examiné le contenu de l'extrait de l'hexane des graines d'**OFI** et signalent la présence notable de l'ac. linoléique, suivi de l'ac.oléique et l'ac. palmitique (Chougui et al. , 2013 ; El-Mannoubi et al., 2009). L'analyse de notre extrait hexanoïque des graines d'**OFI** montre d'une part l'absence de l'ac. linoléique, et d'autre part la présence d'une quantité importante de l'ac. γ -linoléique (57,60%), accompagné d'ac. oléique et ac. palmitique. Cette différence pourrait être expliquée par les fluctuations qui peuvent être observées dans la composition des acides gras durant le développement de la plante (Trabelsi et al., 2012).

I.4.2. Caractérisations chromatographiques (CPG-MS) des phytostérols

Les résultats de l'analyse CPG/SM de la fraction des phytostérols réalisée sur les trois échantillons sont indiqués dans le tableau 33.

Tableau 33:Composition en phytostérols (mg/100g) pour les trois extraits huileux.

Rt	Stérols	Composition en phytostérols (exprimé en mg/100g) \bar{x}		
		HAS	EHOFI	EHPL
0.77	Cholestérol	ND	ND	0.92 \pm 0.04
0.89	Campestérol	8.34 \pm 0.07	11.04 \pm 0.61	39.15 \pm 1.03
0.95	Stigmastérol	6.39 \pm 0.27	9.08 \pm 0.58	14.25 \pm 1.09
1.04	<i>beta</i> -Sitostérol	119.32 \pm 1.45	125.94 \pm 0.97	206.75 \pm 0.55
	Total	134.05 \pm 1.76	146.06 \pm 2.13	261.07 \pm 2.62

\bar{x} valeur moyenne +/- ET (n=3).

Les résultats exprimés dans le tableau 33, montrent :

- que l'EHPL a montré le taux le plus élevé en phytostérols totaux égal à 261,07 \pm 2,62 mg/100g, comparé aux deux autres préparations examinées ; la valeur trouvée pour EHPL est presque le double de la valeur trouvée pour HAS ;
- que le bêta-sitostérol est le stérol le plus important pour les trois préparations examinées ;

- que la présence du cholestérol n'est confirmée que dans l'échantillon EHPL avec une faible concentration ($0.92 \pm 0.04 \text{ mg/100g}$) ;

Une étude précédente faite sur l'extrait de l'éther de pétrole des fruits de **PL** signale la présence de 430 mg/100g en stérols totaux, repartis en β -sitostérol (380 mg/100g), stigmasterol (30 mg/100g), campesterol (7 mg/100g) et cholestérol (3 mg/100g) (Trabelsi et al, 2012). Nos résultats sont en parfaite accord avec cette étude, en terme de présence des quatre phytostérols avec le β -sitostérol comme composé majoritaire. Cependant, la quantité de phytostérols totaux rapportée par l'étude de Trabelsi et al. dans les fruits du PL récoltés en Tunisie est presque le double. Cette différence peut être expliquée par les fluctuations dans la composition qualitative/quantitative des phytostérols qui peuvent être observées durant les étapes de développement du fruit jusqu'à sa maturation (Trabelsi et al., 2012). Il a été rapporté qu'à la fin de la maturation du fruit, l'activité enzymatique de la biosynthèse des phytostérols est arrêtée. Durant cette période, les phytostérols ne sont plus synthétisés, mais sont convertis vers d'autres formes (Venkatramesh et al., 2002).

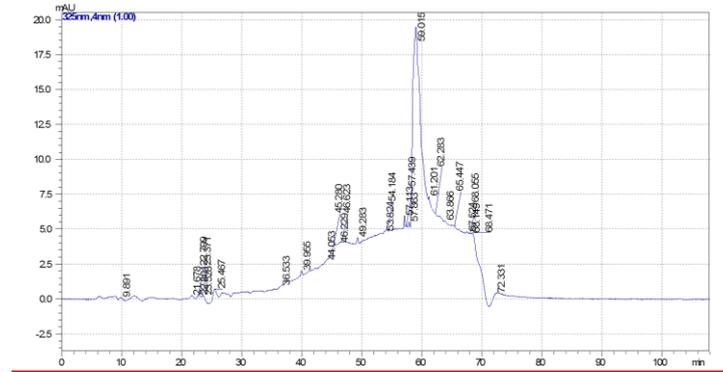
L'insaponifiable de la fraction lipidique des graines d'**OFI** extraite à l'hexane, et analysé par CPG-MS s'est révélé contenir une quantité en phytostérols totaux égale à 1606 mg/100g, avec le β -sitostérol (1150 mg/100g), campesterol (217 mg/100g), Δ^5 -avenastérol (82 mg/100g), stigmasterol (76 mg/100g), sitostanol (57 mg/100g) et d'autres phytostérols mineurs (El-Mannoubi, 2009). La présence de sitostanol, Δ^5 -avenastérol et d'autres phytostérols signalée dans cette précédente étude, et non rapportée dans notre analyse peut être expliquée par l'utilisation de El-Mannoubi et al. d'une base de données (MS/NIST 2002 data base) plus performante.

Selon des études faites sur l'insaponifiable des graines d'**AS**, la fraction des stérols est caractérisée par la présence de quatre composés majoritaires, dans l'ordre décroissant de leur importance le β -sitostérol, stigmasterol, campesterol et le stigmasterol-7-en-3 β -ol (Farines et al., 1981 ; Heinrich, 2000).

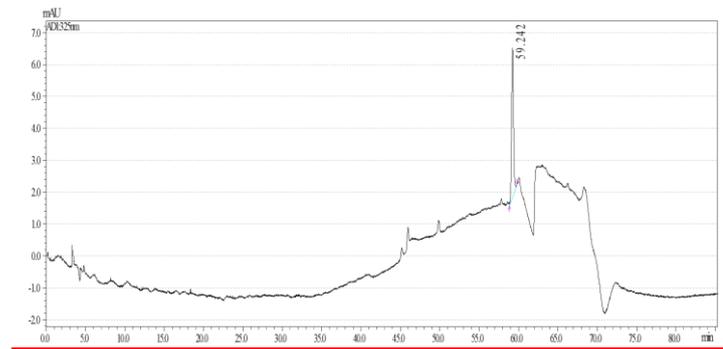
I.5. Dosage par CLHP de l'alpha tocophérols des préparations huileuses

Les tracés chromatographiques de l'analyse directe de α -tocophérol obtenus par HPLC et réalisée sur les trois préparations huileuses (EHOFI, HAS, EHPL) sont montrés dans la figure 23 (A à C).

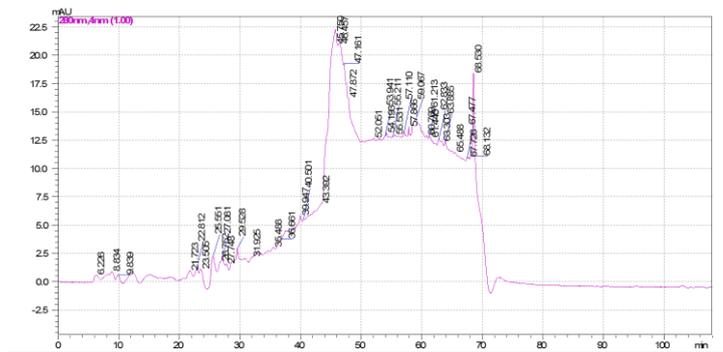
A - EHOFI



B - HAS



C - EHPL



L'absorbance des échantillons a été lue à 460 nm. La concentration en α -tocophérol ($C_{\alpha-T}$) a été déduite de l'équation suivante : $\text{abs.} Y = 0,223 X (\text{mg}) + 0,061$ (R2: 0,981)

»Pour **EHOFI** :

Absorbance (A= 10,43 %), donc $C_{\alpha-T} = 0,194 \text{ mg/mL}$, soit 21,34 mg/100 g extrait ;

»Pour **HAS** :

Absorbance (A= 7,59 %), donc $C_{\alpha-T} = 0,067 \text{ mg/mL}$, soit 7,44 mg/100 g l'huile ;

»Pour **EHPL** :

Absorbance (A= 9,33 %), donc $C_{\alpha-T} = 0,145 \text{ mg/mL}$, soit 15,80 mg/100 g extrait.

Les analyses montrent des concentrations en α -tocophérol pour les préparations huileuses **EHOFI**, **HAS** et **EHPL** de l'ordre de 0,194 mg/mL, 0,067 mg/mL et 0,145 mg/mL, respectivement. L'**HAS** a montré une concentration faible par rapport aux préparations **EHOFI** et **EHPL**.

Une précédente analyse par HPLC faite sur l'extrait de l'hexane des fruits de **PL** donne des valeurs en α -tocophérol de $759 \pm 61 \text{ mg/100g}$ (Dhifi et al., 2013). Cette différence dans la concentration avec la faible valeur rapportée par notre analyse (15,80 mg/100g extrait) peut être expliquée par l'utilisation dans notre travail d'une extraction par Soxhlet au lieu d'une simple macération dans l'hexane utilisée dans cette étude (Dhifi et al., 2013). Il est bien établi que la chaleur générée durant l'extraction par Soxhlet peut altérer les tocophérols connus pour leur thermo-fragilité.

Une étude sur de l'extrait de l'hexane du fruit de **AS** se développant en Algérie, rapporte des valeurs de α -tocophérol de $32,5 \pm 0,22 \text{ mg/100 g}$ (Yousfi et al., 2013). Une valeur de 3,5 mg/100 g pour le α -tocophérol est rapportée par une étude marocaine, effectuée directement sur l'huile extraite par expression (Khelloufi et al., 2003). La concentration de α -tocophérol trouvée dans notre huile (de provenance Marocaine) est de 7,44 mg/100g, valeur jugée intermédiaire entre les deux valeurs rapportées par les précédentes études.

Dans une étude rapportée par une équipe tunisienne, une valeur de 1,1 mg/100 g en α -tocophérol dans l'extrait sec à l'hexane des graines d'**OFI** est rapportée (El-Mannoubi et al., 2009). Notre étude révèle une concentration supérieure en α -tocophérol égale à 21,34

mg/100 g d'extrait sec. Ce résultat suggère que par les 03 espèces étudiées (**AS**, **PL** et **OFI**), la dernière espèce est une bonne source de Vitamine E (α -tocophérol).

I.6. Analyse des composés phénoliques des extraits alcooliques (EAPL, EAOFI, EAAS)

Les rendements de l'extraction à l'éthanol des drogues végétales [**AS** (amande), **OFI** (graine) et **PL** (fruit)] sont exprimés dans le tableau 34.

Tableau 34 : rendement d'extraction à l'éthanol.

Echantillon	Rendement d'extraction %
EAPL : <i>extrait de P. lentiscus</i>	3,29± 0,85
EAAS : <i>extrait d'A. spinosa</i>	3,86±0,31
EAOFI : <i>extrait d'O. ficus indica</i>	1,76±0,25

Les résultats présentés dans le tableau 34 montrent des taux comparables d'extraction à l'éthanol pour (EAPL) et (EAAS), avec un rendement plus faible pour (EAOFI).

Les extraits alcooliques (EAPL, EAOFI, EAAS) ont fait l'objet de deux analyses :

- i) dosage spectrophotométrique des phénols totaux (PT) et flavonoïdes totaux (FT) ;
- ii) une caractérisation du profile en composés phénolique par CL-SM/SM.

I.6.1. Dosage des phénols (PT) et des flavonoïdes totaux (FT)

Les phénols totaux (PT) et les flavonoïdes totaux (FT) des extraits alcooliques de nos échantillons (EAAS, EAOFI et EAPL) ont été déterminés par spectrophotométrie, utilisant la méthode des microplaques à 96 puits et un lecteur *Elisa*.

Les déterminations des PT et FT sont faites par rapport à leurs équivalents de pyrocatechol (PC) et de quercétine (Q), respectivement.

Les résultats obtenus à partir de l'analyse des extraits alcooliques (EAAS, EAOFI et EAPL) sont rapportés dans le tableau 35.

Tableau 35 : Teneurs en phénols totaux (PT) et flavonoïdes totaux (FT) des extraits.

Extrait alcoolique	Contenu en Phénols Totaux ($\mu\text{g PC equiv/mg}$) ^b	Contenu en Flavonoïde Totaux ($\mu\text{g Q equiv/mg}$) ^c
EAAS	35,57 \pm 1,06	31,90 \pm 0,72
EAPL	26,09 \pm 0,15	31,51 \pm 1,00
EAOFI	27,55 \pm 0,40	32,45 \pm 1,26

^a Valeur représente la moyenne \pm ET (n = 3);

^bPC equiv/mg : pyrocatechol équivalent par mg d'extrait [Absorbance: $y = 0,0316 x (\text{mg}) + 0,0422$ (R2: 0,9952)];

^c Q equiv/mg : quercétine équivalent par mg d'extrait [Absorbance : $y = 0,0269 x (\text{mg}) + 0,0393$ (R2: 0,9989)].

La lecture des résultats en tableau 35 amène à certains nombres de commentaires :

- Aucune différence significative n'est observée pour les valeurs de FT trouvées pour EAAS, EAPL et EAOFI ;
- Une différence significative est constatée pour les valeurs de PT des échantillons analysés, où on constate qu'EAAS contient le taux le plus élevé en PT (35,57 \pm 1,06 $\mu\text{g PC equiv/mg}$), avec des valeurs moindres pour OFI (27,55 \pm 0,4 $\mu\text{g PC equiv/mg ext}$) et PL (26,09 \pm 0,15 $\mu\text{g PC equiv/mg ext}$).
- Les valeurs de PT pour EAPL et EAOFI rapportées par notre étude sont de loin inférieures à celles décrites par d'autres travaux, qui signalent des taux en PT pour EAPL (Remila et al., 2015) et EAOFI (Guevara-Figueroa et al., 2010 ; Méndez et al., 2015) égales à (205,79 \pm 6,51 mg Cat equiv/g ext) et (128.8 \pm 29.4 mg Cat equiv/100 g), respectivement. De même, un travail précédent sur le contenu en FT pour EAPL a rapporté une valeur de (6,28 \pm 1,04 mg Rut equiv/gext) inférieure à la valeur trouvée dans le cas de notre étude (31,51 \pm 1,0 $\mu\text{g Q. equiv/g ext}$) (Remila et al., 2015).

Pour le contenu en PT et FT de EAAS, une étude faite par d'autres auteurs (Belarbi et al., 2009) sur l'extrait acétone/eau des amandes préalablement délipidées a rapporté une valeur des polyphénols totaux (50,01mg/kg) nettement inférieure à celles trouvées par notre travail (Tableau 35).

Ces différences entre les valeurs rapportées de PT et FT pourraient être expliquées par l'emploi de standards différents, à savoir : le pyrocatechol et la quercétine pour notre étude, contre la catéchine et la rutine pour les autres études (Remila et al., 2015 ; Guevara-Figueroa et al., 2010 ; Méndez et al., 2015). D'autres facteurs peuvent être également invoqués, plus particulièrement la variabilité naturelle (Bruneton J. 1999).

I.6.2. Caractérisation du profil en composés phénoliques par CL-MS/MS

Dans cette partie, les profils phénoliques des extraits alcooliques des espèces étudiées ont été déterminés par CL-SM/SM. Cette analyse a été réalisée selon une méthode standardisée et validée (Ertas A., et al., 2014), utilisant 27 témoins standards représentant divers composés phénoliques (tableau 25 , section I.3.5.2.)

Les paramètres analytiques de la validation de la méthode d'analyse de CL-SM / SM sont rapportés dans le tableau 36.

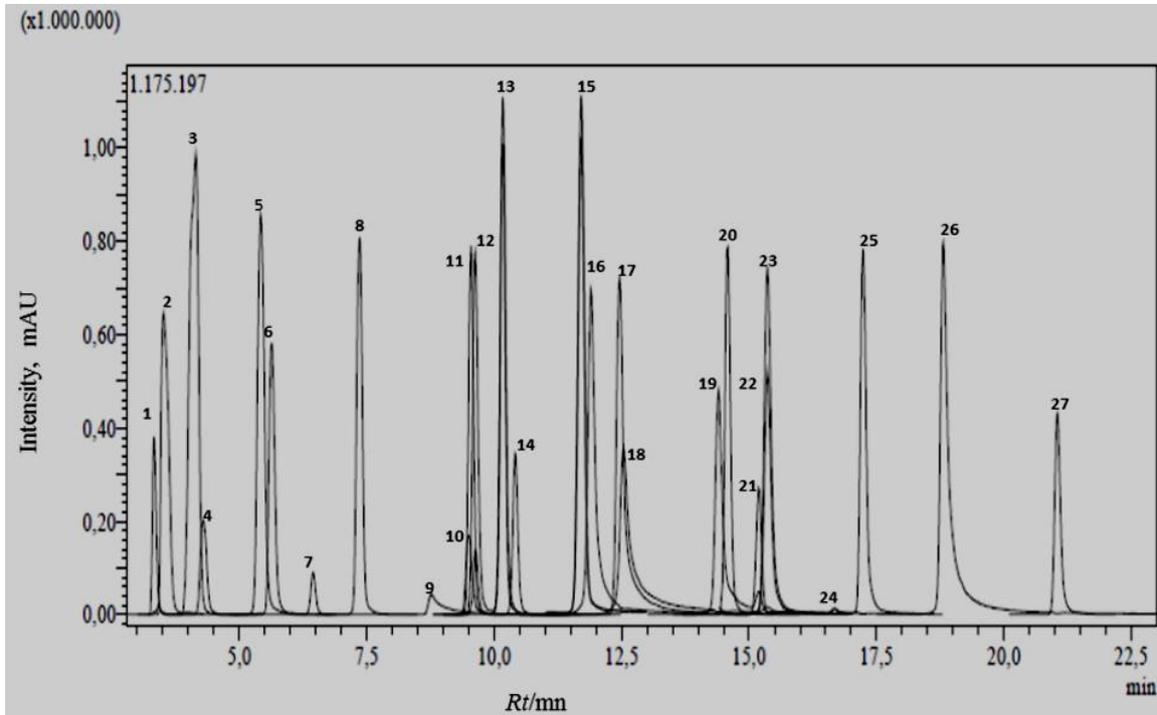
Tableau 36: Temps de rétention (RT) des standards et paramètres de validation de la méthode d'analyse de CL-SM / SM.

Analyte no.	Analytes	RT ^a	Equation	r ^{2b}	RSD% ^c	Linearity range (mg/L)	LOD/LOQ (µg/L) ^d	Recovery (%)	U ^e
1	Quinic acid	3.36	f(x) = 25133 + 33.6x	0.9927	0.0388	250-10000	22.3/74.5	103.3	4.8
2	Malic acid	3.60	f(x) = -5674 + 93.6x	0.9975	0.1214	250-10000	19.2/64.1	101.4	5.3
3	tr-Aconitic acid	4.13	f(x) = -28416 + 79.3x	0.9933	0.3908	250-10000	15.6/51.9	102.8	4.9
4	Gallic acid	4.25	f(x) = 26417 + 358.1x	0.9901	0.4734	25-1000	4.8/15.9	102.3	5.1
5	Chlorogenic acid	5.29	f(x) = 26780 + 49.0x	0.9932	0.1882	250-10000	7.3/24.3	99.7	4.9
6	Protocatechuic acid	5.51	f(x) = 6197 + 36.9x	0.9991	0.5958	100-4000	25.8/85.9	100.2	5.1
7	Tannic acid	6.30	f(x) = 30233 + 90.3x	0.9955	0.9075	100-4000	10.2/34.2	97.8	5.1
8	tr-Caffeic acid	7.11	f(x) = 83958 + 1585.2x	0.9942	1.0080	25-1000	4.4/14.7	98.6	5.2
9	Vanillin	8.57	f(x) = -575 + 44.5x	0.9995	0.4094	250-10000	10.1/33.7	99.2	4.9
10	p-Coumaric acid	9.17	f(x) = 27064 + 73.5x	0.9909	1.1358	100-4000	15.2/50.8	98.4	5.1
11	Rosmarinic acid	9.19	f(x) = -1150 + 18.0x	0.9992	0.5220	250-10000	10.4/34.8	101.7	4.9
12	Rutin	9.67	f(x) = 3842 + 51.9x	0.9971	0.8146	250-10000	17.0/56.6	102.2	5.0
13	Hesperidin	9.69	f(x) = 105641 + 195.8x	0.9973	0.1363	250-10000	21.6/71.9	100.2	4.9
14	Hyperoside	9.96	f(x) = 827 + 1.0x	0.9549	0.2135	100-4000	12.4/41.4	98.5	4.9
15	4-OH Benzoic acid	11.38	f(x) = 54285 + 635.0x	0.9925	1.4013	25-1000	3.0/10.0	106.2	5.2
16	Salicylic acid	11.39	f(x) = 72571 + 915.2x	0.9904	0.6619	25-1000	4/13.3	106.2	5.0
17	Myricetin	11.42	f(x) = 5415 + 54.3x	0.9991	2.8247	100-4000	9.9/32.9	106.0	5.9
18	Fisetin	12.10	f(x) = 34409 + 331.9x	0.9988	2.4262	100-4000	10.7/35.6	96.9	5.5
19	Coumarin	12.18	f(x) = 34370 + 236.6x	0.9924	0.4203	100-4000	9.1/30.4	104.4	4.9
20	Quercetin	13.93	f(x) = 1693 + 206.1x	0.9995	4.3149	25-1000	2.0/6.8	98.9	7.1
21	Naringenin	14.15	f(x) = 39056 + 1100.6x	0.9956	2.0200	25-1000	2.6/8.8	97.0	5.5
22	Hesperetin	14.80	f(x) = 6545 + 160.3x	0.9961	1.0164	25-1000	3.3/11.0	102.4	5.3
23	Luteolin	14.84	f(x) = 3057 + 111.5x	0.9992	3.9487	25-1000	5.8/19.4	105.4	6.9
24	Kaempferol	14.85	f(x) = 571 + 21.0x	0.9917	0.5885	25-1000	2.0/6.6	99.1	5.2
25	Apigenin	16.73	f(x) = 18526 + 543.8x	0.9954	0.6782	25-1000	0.1/0.3	98.9	5.3
26	Rhamnetin	18.41	f(x) = 632 + 110.1x	0.9994	2.5678	25-1000	0.2/0.7	100.8	6.1
27	Chrysin	20.60	f(x) = 23532 + 698.8x	0.9965	1.5530	25-1000	0.05/0.17	102.2	5.3

^a RT: retention time.^b r²: coefficient of determination.^c RSD: relative standard deviation.^d LOD/LOQ (µg/L): limit of detection/limit of quantification.^e U(%): percent relative uncertainty at 95% confidence level (k=2).

Le tracé chromatographique témoin des standards est représenté dans la figure 24.

Figure24 : Tracé chromatographique témoin des standards.



1: Acide Quinique, 2: ac. Malique, 3: ac. t-Aconitique, 4: ac. Gallique, 5: ac. Chlorogénique, 6: ac. Protocatechique, 7: ac. Tannique, 8: ac. Tr-cafféique, 9: Vanilline, 10: ac. p-coumarique, 11: ac. Rosmarinique, 12: Rutine, 13: Hésperidine, 14: Hyperoside, 15: ac. 4-OH Benzoïque, 16: ac. Salicylique, 17: Myricétine, 18: Fisétine, 19: Coumarine, 20: Quercétine, 21: Naringénine, 22: Hesperétine, 23: Luteoline, 24: Kaempferol, 25: Apigénine, 26: Rhamnétine 27: Chrysin.

Les composés contenus dans les extraits alcooliques (EAAS, EAOFI et EAPL) sont identifiés par comparaison de leurs temps de rétention (RT) avec ceux des standards utilisés (tableau 36). Leur quantité respective est exprimée en $\mu\text{g/g}$ d'extrait.

L'ensemble des résultats sont représentés dans le tableau 37.

Tableau 37 : Identification et quantification par CL–SM/SM des composés phénoliques des 03 extraits alcooliques de **PL**, **OFI** et **AS**

N°	Analytes	Quantification (μg analyte/g extract) ^a		
		PL	OFI	AS
1	Quinic acid	1519.84 \pm 72.95	83.57 \pm 1.74	4.09 \pm 9.05
2	Malic acid	87.59 \pm 4.64	3.18 \pm 2.21	3.34 \pm 3.36
3	tr-Aconitic acid	2.11 \pm 0.10	0.3 \pm 0.11	0.50 \pm 0.02
4	Gallic acid	2092.39 \pm 106.72	1.0 \pm 0.05	0.20 \pm 0.01
5	Chlorogenic acid	8.67 \pm 0.42	16.37 \pm 1.89	ND
6	Protocatechuic acid	323.60 \pm 16.50	ND	0.40 \pm 0.01
7	Tannic acid	959.48 \pm 48.93	1.4 \pm 0.07	0.90 \pm 0.04
8	tr-caffeic acid	0.51 \pm 0.02	0.1 \pm 0.05	0.05 \pm 0.02
9	Vanillin	2.04 \pm 0.1	7.27 \pm 1.53	ND
10	p-Coumaric acid	0.874 \pm 0.04	ND	0.20 \pm 0.01
11	Rosmarinic acid	0.352 \pm 0.017	ND	0.10 \pm 0.01
12	Rutin	0.394 \pm 0.02	0.5 \pm 0.02	ND
13	Hesperidin	18.78 \pm 0.92	ND	0.50 \pm 0.02
14	Hyperoside	287.08 \pm 14.07	9.44 \pm 0.19	ND
15	4-OH Benzoic acid	0.524 \pm 0.03	0.2 \pm 0.01	0.10 \pm 0.01
16	Salicylic acid	0.37 \pm 0.02	0.5 \pm 0.02	0.20 \pm 0.01
17	Myricetin	77.74 \pm 4.59	0.001 \pm 0.00	ND
18	Fisetin	23.54 \pm 1.3	ND	0.10 \pm 0.01
19	Coumarin	0.925 \pm 0.04	1.8 \pm 0.08	1.60 \pm 0.07
20	Quercetin	54.71 \pm 3.88	ND	0.10 \pm 0.01
21	Naringenin	18.58 \pm 1.02	0.08 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01
22	Hesperetin	0.26 \pm 0.01	ND	ND
23	Luteolin	34.07 \pm 2.35	0.2 \pm 0.01	ND
24	Kaempferol	45.06 \pm 2.34	0.03 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01
25	Apigenin	3.18 \pm 0.17	0.06 \pm 0.02	ND
26	Rhamnetin	ND	ND	0.05 \pm 0.01
27	Chrysin	0.63 \pm 0.03	ND	ND

^a Concentration en $\mu\text{g/g}$ d'extrait sec (w/w) ; * valeur moyenne \pm ET (n=3).

Les résultats de l'analyse CL-SM/SM des trois préparations alcooliques (EAPL, EAOFI, EAAS) montrent :

i) *En ce qui concerne l'extrait (EAPL) :* le tracé chromatographique de l'extrait (EAPL) est montré dans la figure 25.

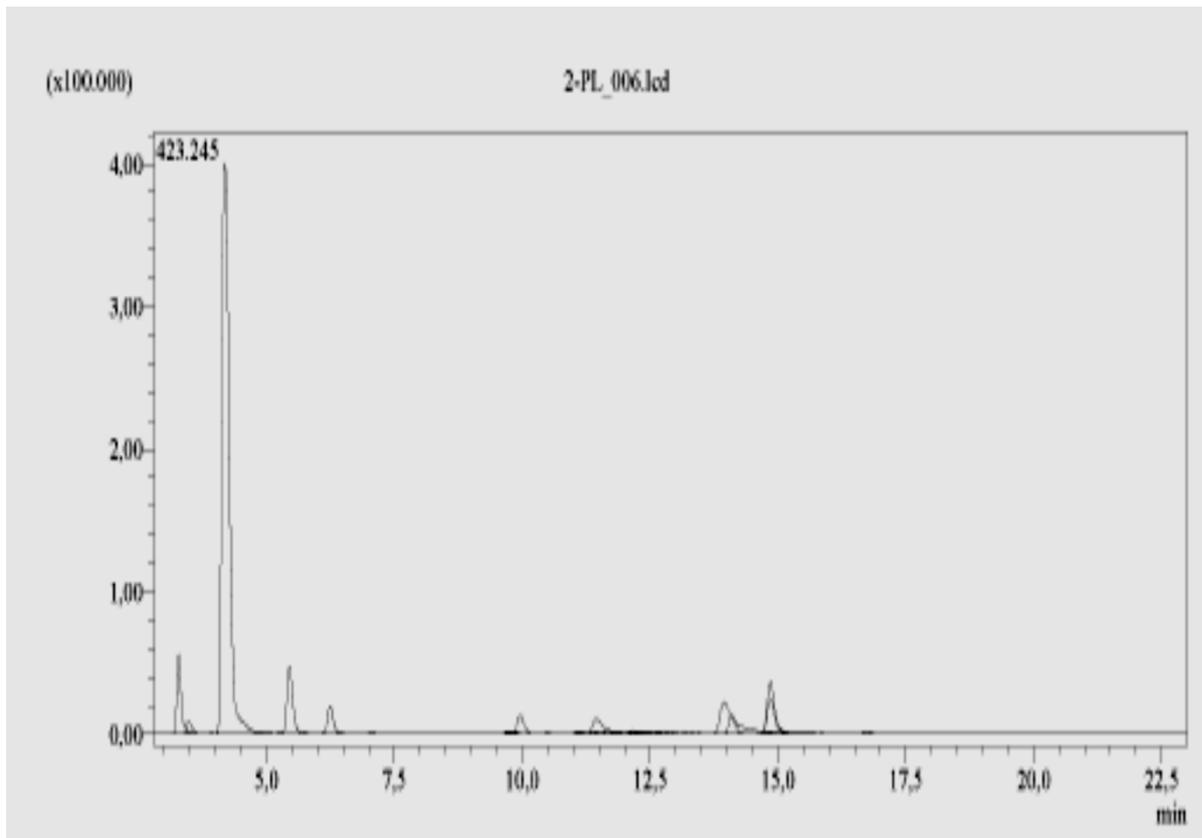


Figure 25 : Chromatogramme de l'extrait (EAPL)

L'analyse de l'extrait EAPL, révèle la présence des composés majoritaires (>20 µg/g ext.) suivants : acide gallique (2092,39±106,71 µg/g ext), ac. quinique (1519,84±72,95 µg/g ext), ac. tannique (959,48±48,93 µg/g ext), ac. protocatéchique (323,60±16,50 µg/g ext), hypéroside (287,08±14,07 µg/g ext), acide malique (87,6 ±4,64 µg/g ext), myricitine (77,74±4,59 µg/g ext), quercétine (54,71±3,89 µg/g ext), kaempférol (45,07±2,34 µg/g ext), Fisetine (23,54 ± 1,29 µg/g ext) et d'autres composés mineurs. L'analyse a montré aussi l'absence de rhamnetine en quantité détectable.

En l'absence de travaux sur les composés phénoliques contenus dans les fruits ou toute autre partie de **PL**, aucun commentaire ne peut se faire.

ii) *En ce qui concerne l'extrait (EAOFI)* : Le tracé chromatographique de l'extrait (EAOFI) est montré dans l'annexe VII.

L'analyse de l'extrait, révèle la présence des composés majoritaires ($> 3 \mu\text{g/g ext.}$) suivants : Ac. quinique ($83,57 \pm 1,74 \mu\text{g/g Ext}$), ac. chlorogénique ($16,37 \pm 1,89 \mu\text{g/g Ext}$), hypéroside ($09,44 \pm 0,19 \mu\text{g/g Ext}$), vanilline ($07,27 \pm 1,53 \mu\text{g/g Ext}$), ac. malique ($03,18 \pm 2,21 \mu\text{g/g Ext}$) et d'autres constituants mineurs. L'analyse a montré aussi l'absence, en quantité détectable, de l'ac. Protocatéchiq, ac. p-coumarique, ac. rosmarinique, hespéridine, myrcétine, rhamnétine, fisétine, hespéritine et chryisine.

Une analyse faite par LC-MS et LC-RMN du profil des composés phénoliques présents dans l'extrait alcooliques des graines d'OFI, rapporte plus d'une vingtaine de composés phénoliques, dont uniquement cinq ont été identifiés ; 3 isomères du diglycoside du feruloyl, diglucoside du sinapoyl et d'un dérivé du feruloyl (Chougui et al., 2013).

iii) *En ce qui concerne l'extrait (EAAS)* : le tracé chromatographique de l'extrait (EAAS) est montré dans l'annexe VII.

L'analyse de l'extrait, révèle la présence des composés majoritaires ($>0,4 \mu\text{g/g ext.}$) suivants : ac. quinique ($04,09 \pm 9,05 \mu\text{g/g Ext}$), ac. malique ($03,34 \pm 3,36 \mu\text{g/g Ext}$), coumarine ($1,60 \pm 0,07 \mu\text{g/g Ext}$), hespéridine ($0,50 \pm 0,02 \mu\text{g/g Ext}$), ac. *trans*-aconitique ($0,50 \pm 0,02 \mu\text{g/g Ext}$), ac. protocatéchiq ($0,40 \pm 0,10 \mu\text{g/g Ext}$) et d'autres constituants mineurs. En tenant compte de la limite de détection de la technique utilisée, on remarque l'absence ac. chlorogénique, vanilline, rutine, hypéroside, myrcétine, hespéritine, lutéoline, apigénine et la chryisine.

Une étude récente sur le fruit de AS (Khallouki et al., 2015), faite sur la pulpe (partie charnue du fruit sans la graine ou l'amande), a révélé la présence de composés phénoliques ($15400 \mu\text{g/g}$), majoritairement représentés par les composé catéchiq ($6006 \mu\text{g/g}$, soit 39%), flavonoïdes ($4312 \mu\text{g/g}$, soit 28%), procyanidines ($4004 \mu\text{g/g}$, soit 26%), et acides phénols ($1078 \mu\text{g/g}$, soit 7%). D'autre part, l'épicatchine ($4792 \mu\text{g/g}$), ac. 4,40-

Dihydroxy-3,30-imino-di-benzoïque (2071 µg/g), Procyanidine B2 (1463 µg/g), Procyanidine C1 (1250 µg/g), Quercetin-3-O-galactoside (9803 µg/g) et ac. 4-dihydroxybenzoïque (697 µg/g) sont rapportés comme les composés les plus remarquables dans l'extrait alcoolique de la pulpe.

Notre étude réalisée sur l'amandon montre des valeurs tous composés phénoliques confondus beaucoup plus faibles. Cette différence pourrait être expliquée par la différence de la partie végétale utilisée (pulpe du fruit sans la peau ni l'amande) (Khallouki et al., 2015).

I.7. Tests biologiques

I.7.1. Etudes toxicologiques

Afin d'évaluer le potentiel toxique et irritant des préparations huileuses (EHPL, EHOFI, HAS) envers la peau et les muqueuses, les tests d'innocuité suivants ont été réalisés :

- » Mesure de la toxicité aiguë (DL50, souris) ;
- » Etude de l'innocuité sur la peau et les muqueuses (irritations cutanée et oculaire, agressivités superficielles cutanée et rectales)

I.7.1.1. Toxicité aiguë

Le test de toxicité aiguë a été réalisé sur de souris adultes. Les pourcentages de mortalité observés selon la dose et la voie d'administration (orale/intrapéritonéale) pour les 3 préparations huileuses (EHOFI, EHPL, HAS) sont montrés dans les tableaux 38 et 39 respectivement.

Tableau 38 : Pourcentages de mortalité en fonction de la dose administrée *per os*

Produit	Dose (mL/kg)						
	10	20	30	40	50	60	70
	Mortalité (%)						
EHOFI*	0	10	20	40	70	90	100
EHPL**	0	10	30	60	80	100	X
HAS***	0	0	0	0	0	0	0
CONT***	0	0	0	0	0	0	0

*DL50 (EHOFI) = $43,0 \pm 0,8$ mL/kg avec IC: [40,7- 45,4]; ** DL50 (EHPL) = $37,0 \pm 1,0$ mL/kg avec IC: [34,4 – 39,8]; *** (HAS, CONT) aucune mortalité n'est observée après prise d'une dose 70mL/kg.

Tableau 39 : Pourcentages de mortalité en fonction de la dose administrée *per v.i.p.*

Produit	Dose (mL/kg)						
	0,5	1	2	3	4	5	6
	Mortalité (%)						
EHOFI*	0	10	40	60	80	90	100
EHPL**	0	10	50	60	80	100	X
HAS***	0	0	0	0	0	0	0
CONT***	0	0	0	0	0	0	0

*DL50 (EHOFI) = $2,72 \pm 0,1$ avec IC: [2,52–2,92] mL/kg ;**DL50(EHPL) = $2,52 \pm 0,2$ avec IC: [2,22 – 2,81] mL/kg ; *** (HAS, CONT) aucune mortalité n'est observée après prise d'une dose 6 mL/kg.

Les observations de tous les symptômes de toxicité constatés après gavage, et après administration intrapéritonéale, chez toutes les souris et pour les deux stades d'expérimentation (j1, et j2-j14) sont rapportées dans l'annexe VIII.

Les résultats obtenus pour les deux stades d'observations : J1 et J2-14, chez tous les lots de souris traités et contrôles montrent :

- Les lots de souris contrôles (ayant reçu de l'eau physiologique *per os* et *v.i.p.*) n'ont montré aucun signe clinique ni mortalité durant tous les 14 jours d'observation ;

- Les lots de souris traités par HAS (à différentes doses) et par les deux voies d'administration (*v. per os*, *v.i.p.*), n'ont montré aucune mortalité durant les 14 jours. Mais des signes cliniques habituels et des symptômes non graves et réversibles (ex. anorexie, hypoactivité, asthénie, etc.) sont apparus chez les souris pendant une courte durée (trois premiers jours des traitements). Les deux DL50 de l'huile HAS (orale et péritonéale) ne peuvent pas être déduite en raison de l'absence de mortalité. Ceci est une indication de la relative bonne tolérance des traitements par HAS, administrés oralement et par voie intrapéritonéale à des doses maximale de 70mL/kg et 6mL/kg, respectivement ;

- Les lots de souris traités par EHPL et EHOFI (à différentes doses) et par les deux voies d'administration (*v. os*, *v.i.p.*), ont enregistré des mortalités (tableau 38 et 39) et ont présenté des signes cliniques graves et des symptômes persistants durant la période d'observation. Les lots de souris traités par EHPL et EHOFI, par gavage, ont donné des valeurs de DL50 égales à $43,0 \pm 0,8$ mL/kg et $37,0 \pm 1,0$ mL/kg, respectivement. Les valeurs correspondantes des DL50 des lots traités par EHPL et EHOFI, par voie intrapéritonéale, ont donné des valeurs de DL50 égales à $2,72 \pm 0,1$ mL/kg et $2,52 \pm 0,2$, respectivement. Ces résultats indique la présence de toxicités aiguës relatives chez les souris traitées oralement et par voie intrapéritonéale par EHPL et EHOFI. Cependant les signes et symptômes de toxicité se sont manifestés qu'à des doses importantes, comme les valeurs de DL50 obtenues pour chacune des deux voies d'administration le montrent.

Pour **AS**, une étude ultérieure (Alaoui et al.1998) faite sur la toxicité aiguë par voie orale des saponines isolées du tourteau de l'arganier sur le rat et la souris a déterminé une valeur de DL50 = 1,3 g/kg. Également, une autre étude basée sur l'administration orale et intrapéritonéale d'un extrait aqueux Le mélange des saponines du tourteau de l'arganier chez la souris (*Lops ofa*) a présenté ainsi une toxicité aiguë relativement faible avec une DL50 = 2g / Kg v.o.et DL50 = 80 mg /Kg v.i.p. (Charroul, 1998).

En conclusion, La présente étude montre une faible toxicité, voire même une absence de toxicité des trois préparations huileuses de **HAS**, **EHOFI** et **EHPL**, administrées par voie orale et par voie intrapéritonéale.

I.7.1.2. Etudes de l'innocuité

Cette étude réalisée chez le lapin a permis d'évaluer les irritations oculaire et cutanée (I.I.PC. et agressivité rectale)

a) Irritation oculaire

Les résultats de l'évaluation de l'irritation oculaire sont exposés dans les tableaux 40 et 41.

Tableau 40: Détermination de l'irritation oculaire des produits testés

Produit	Jours	Conjonctive				Iris		Cornée			I.O.I
		Chem (A)	Larm (B)	Roug (C)	(A+B+C) (x2)	Co (D)	Dx5)	Inten (E)	Surf (F)	(ExF) (x5)	Somme Σ
EHPL	J0(1h)	1	1	1	6	0	0	0	0	0	6
	J1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	J2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HAS	J0(1h)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	J1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	J2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EHOFI	J0(1h)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	J1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	J2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Paramètres : Chem (chémosis) ; Larm (larmoiement) ; Roug (rougissement) ; Co (conjonctive) ; Inten (intensité) ; Surf (surface) ; h (heure) ; J (jour) ; I.O.I.(indice oculaire individuel)

Sur la base des données obtenues dans le tableau précédent (tableau 41), le calcul des indices d'irritation oculaires maximale pour les différentes zones de l'œil (Conjonctive, Iris, Cornée) pour les périodes allant de 1h à 72h, figure dans le tableau 41 :

Tableau 41: Détermination de l'irritation oculaire maximale (I.O.I.).

	I.O.I. selon le temps (heure) et la zone								
	1h			24h			72h		
	Co	iris	Corn	Co	Iris	Corn	Co	Iris	Corn
EHPL	6	0	0	0	0	0	0	0	0
HAS	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EHOFI	0	0	0	0	0	0	0	0	0

A la lecture des tableaux précédents (40, 41), nous constatons :

- L'indice d'irritation oculaire au niveau de l'iris et de la cornée est égal à 0, quelle que soit la période et ceci pour les 03 préparations huileuses ;;
- Pour la conjonctive, l'indice d'irritation oculaire est égale à 0 pour **HAS** et **EHOFI**, ceci quelle que soit la période. Pour l'**EHPL** l'indice d'irritation au niveau de la conjonctive est de 6, calculée dans la 1^{ère} heure qui suit l'instillation, puis il régresse jusqu'à s'annuler dans les 24h.

Compte tenu des résultats obtenus, nous pouvons déduire que l'application de nos produits par instillation sur l'œil n'a engendré aucune irritation visible macroscopiquement au niveau soit de l'iris ou de la cornée. La valeur de I.O.1 égale à 6 pour **EHPL**, mesurée au niveau de la conjonctive est décrite comme faible par la littérature (JORF du 24/10/84, Hamdi Pacha Y. 1993).

b) Irritation cutanée

Les résultats de la mesure de l'indice d'irritation primaire cutanée (I.I.P.C.), évalué par l'action des préparations huileuses testées sur la peau scarifiée et non scarifiée des lapins, sont présentés dans le tableau 42.

Tableau 42 : Indice d'irritation primaire cutanée.

Traitement	Peau scarifiée				Peau non scarifiée				(I.I.P.C.)*	
	24 h		72 h		24 h		72 h		24h	72h
	Eryt	Oed	Eryt	Oed	Eryt	Oed	Eryt	Oed		
EHPL	2	0	0	0	0	0	0	0	0,083	0
HAS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EHOFI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Légende : Oed (œdème) ; Ery (érythème) ; I.I.P.C. (indice d'irritation primaire cutané) ;

(*) : $IIPC \leq 0,5$ non irritant, $0,5 \leq IIPC \leq 2$ légèrement irritant, $2 \leq IIPC \leq 5$ irritant, $5 \leq IIPC \leq 8$ très irritant.

L'indice d'irritation primaire cutanée d'EHPL est de 0,083 tandis qu'il tend à zéro dans les 72h. Les valeurs d'I.I.P.C. mesurées pour les produits restants (**HAS** et **EHOFI**) dans les 24 et 72 h sont égales à zéro.

En plus de la précédente évaluation, l'application des préparations huileuse **HAS**, **EHPL**, **EHOFI** dans la muqueuse rectale chez les lapins pendant 15jours, suivie d'une observation macroscopique du rectum des lapins a révélé une absence de toute hémorragie ou ulcération ou rougeur, ni diarrhée.

En conclusion, selon les normes rapportées (J.O.R.F. du 21 /01/82, Hamdi Pacha Y. 1993), nous pouvons dire que les trois produits huileux testés sur le lapin, à savoir **EHPL**, **HAS** et **EHOFI**, sont considérées non irritants au niveau oculaire, cutanée ni sur les muqueuses anales.

I.7.2. Evaluation de l'activité cicatrisante

Les résultats de l'évaluation du processus cicatriciel (exprimé en % de contraction) des plaies chirurgicalement excisées et traitées par les trois préparations huileuses **HAS**, **EHOFI** et **EHPL**, sont rapportés dans le tableau 43 et les figures 26 et 27.

Tableau 43 : Evaluation globale du processus cicatriciel des plaies d'excision chez le lapin

	Contraction, exprimée en pour cent (%)*				
Traitement	J 0	j 3	J 6	j 9	j 12
CONT (-)	0 ± 0	17,01 ± 04,19	30,44 ± 05,22	62,83 ± 09,20	93,77 ± 3,10
HAS**	0 ± 0	49,54 ± 08,98 ##	54,66 ± 09,66 ##	76,3 ± 10,40 #	98,7 ± 0,74 # ¼
EHOFI**	0 ± 0	52,52 ± 07,00 ##	56,01 ± 10,70 ##	89,29 ± 06,19 ##	97,6 ± 1,80 # ¼
EHPL**	0 ± 0	47,7 ± 09,63 ##	51,26 ± 07,68 #	73,66 ± 11,50	90,8 ± 3,50

Cont (-) : lapin opéré sans traitement

* valeur moyenne ±ET, (n=6)

p ≤ 0,05, ## p ≤ 0,01 : vs control (-) ;

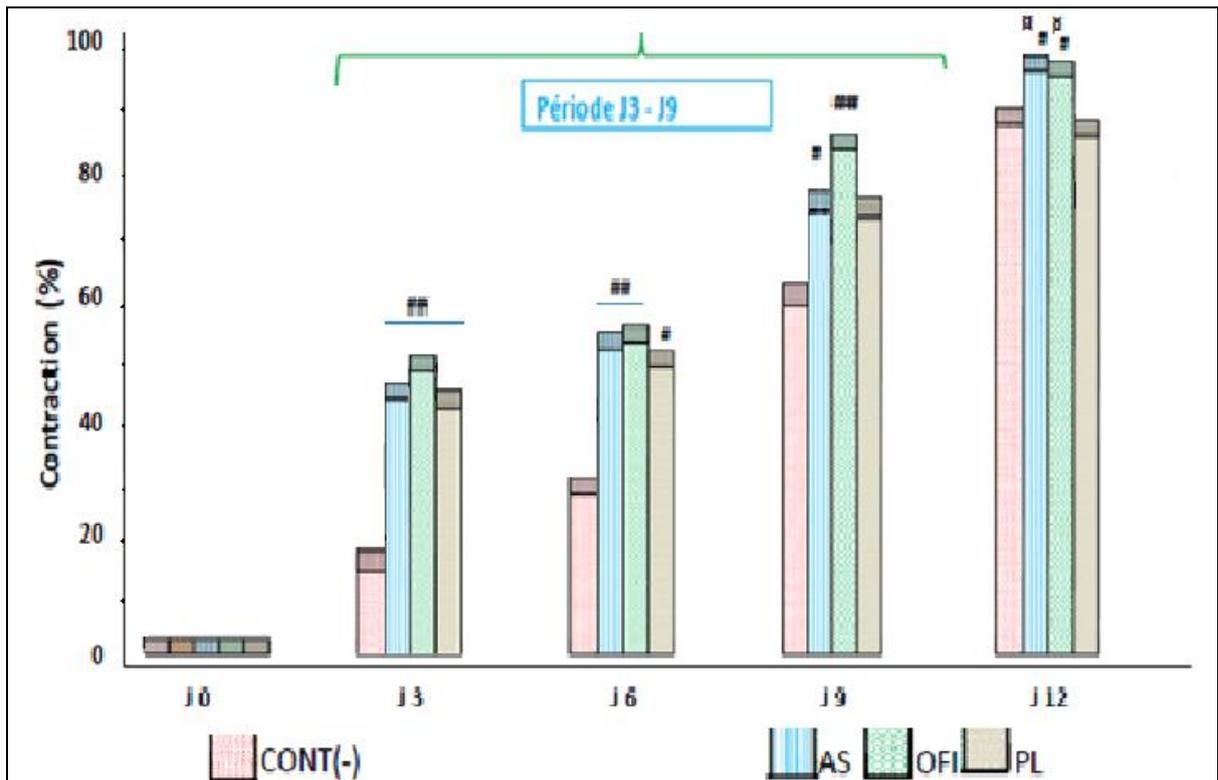
¼ p ≤ 0,05 : vs groupe traité par EHPL pour la même période ;

HAS : lapin opéré traité par l'huile d'Argania spinosa

EHOFI : lapin opéré traité par l'extrait à l'hexane d'Opuntia ficus-indica

EHPL : lapin opéré traité par l'extrait à l'hexane de Pistacia lentiscus

** traitement par 0,5 mL/plaie/jour.



Résultat représente la moyenne ± E.T. (n = 6, par lot).

Cont (-) : lapin opéré sans traitement ;

p ≤ 0,05, ## p ≤ 0,01 : vs control (-) ;

¼ p ≤ 0,05 : vs groupe traité par EHPL pour la même

période

HAS : lapin opéré traité par l'huile d'Argania spinosa

EHOFI : lapin opéré traité par l'extrait à l'hexane d'Opuntia ficus-indica

EHPL : lapin opéré traité par l'extrait à l'hexane de Pistacia lentiscus

** traitement par 0,5 mL/plaie/jour.

Figure 26: Evolution du processus cicatriciel (contraction %) des plaies chirurgicales chez le lapin.

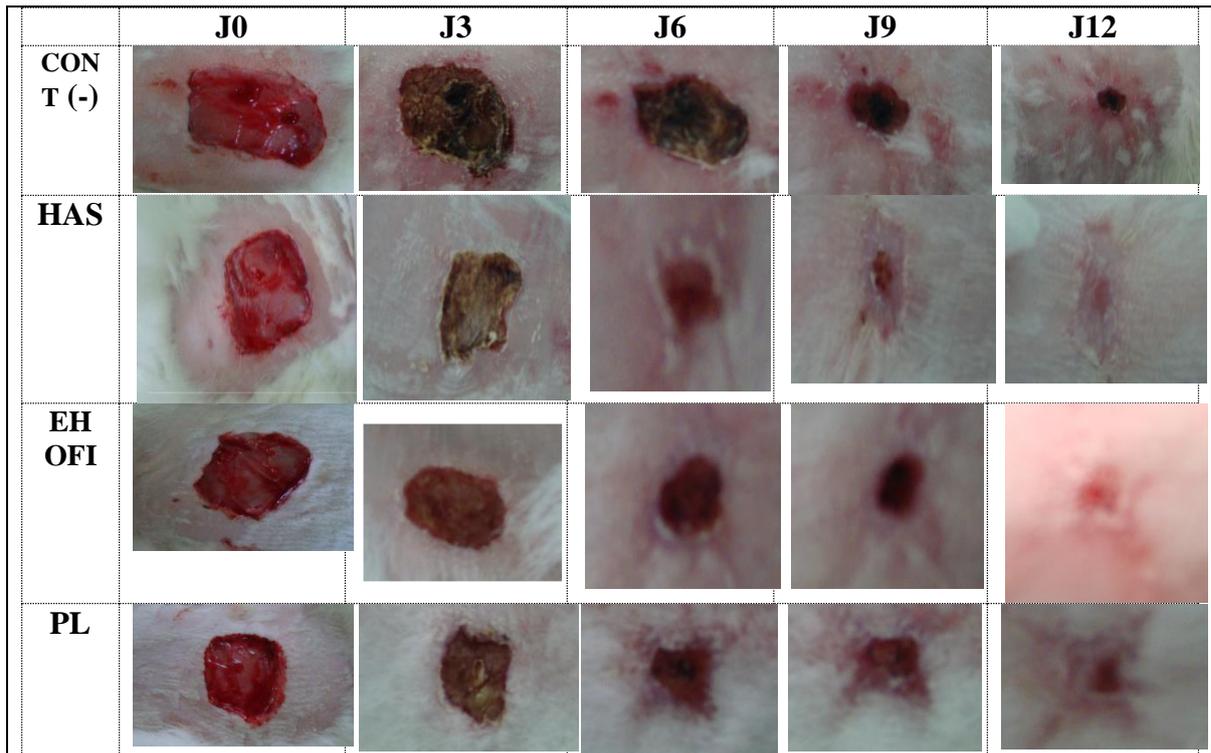


Figure 27 : Photographie de l'évolution chronologique de la cicatrisation des plaies d'excision traitées par les préparations huileuses topiques HAS, EHOFI et EHPL.

La lecture des résultats présentés sur le tableau 43, figures 26 et 27 fait ressortir les observations suivantes sur la progression de la cicatrisation:

- J = 0
 - vers 24h à 48h, la résorption de l'exsudat inflammatoire a été débutée ;
 - toutes les plaies avaient des surfaces de plaies comparables, ainsi que les mêmes signes de l'inflammation et de saignement ;
- J = 3
 - i- une détersion complète en chronologie variable en fonction de chaque type de traitement ; la durée la plus courte a été celle d'EHPL ;
 - ii- toutes les préparations huileuses de HAS, EHOFI et EHPL accélèrent significativement ($p \leq 0,01$) la cicatrisation, comparés au CONT(-);
 - aucune différence significative n'est observée entre les 3 phytotraitements.
- J = 6
 - cas de suppuration ont été constatés chez le lot Cont (-) ;
 - les mêmes remarques que J3.
- J = 9
 - les deux préparations huileuses de HAS et EHOFI accélèrent significativement la cicatrisation, comparés au CONT(-). Toutefois aucune différence significative n'est observée entre les 3 traitements ;
 - Le traitement à base de EHPL présente une progression de la cicatrisation non significative avec le CONT (-).

- J = 12
- les deux préparations huileuses de **HAS** et **EHOFI** accélèrent significativement la cicatrisation, comparés au CONT(-) ($p \leq 0,05$) et au lot traité par EHPL ($p \leq 0,05$) ;
 - Le traitement à base de EHPL présente une progression de la cicatrisation non significative avec le CONT (-).

Généralement, il y'a eu une réduction progressive de la surface de la plaie avec le temps dans les différents traitements (figures 27 et tableau 43). Le pourcentage de contraction le plus élevé a été obtenu dans les plaies traitées par l'huile d'argan **HAS** et **EHOFI** suivis par celle traitées par **EHPL**.

Les résultats observés chez les lapins sur l'évolution de la régression des plaies excisées et traitées par les préparations huileuses montrent qu'à la fin de la période de 12 jours :

- les traitements à base de **HAS** et **EHOFI** à raison de 0,5 mL/plaie/jour accélèrent la fermeture des plaies significativement ($P < 0,05$) par rapport au contrôle et au lot **EHPL** ;
- Le traitement à base d'**EHPL** à raison de 0,5 mL/plaie/jour n'a pas d'effet positif significatif sur la vitesse de fermeture de plaies par rapport au contrôle.

Une étude précédente sur l'évolution du processus cicatriciel de l'huile du fruit de **PL**, sur des plaies d'excision chirurgicale chez le rat indique que la contraction des plaies est stimulée non seulement par l'huile de lentisque, mais également par sa fraction insaponifiable (Boulebda et al., 2010).

D'autres études précédentes faites sur l'évolution du processus cicatriciel de l'huile du fruit de **PL**, sur des brûlures expérimentales signalent une accélération significative de la contraction des brûlures ainsi qu'une réduction de la durée d'épithélialisation, et ceci chez le rat (Abdeldjelil, 2016 ; Bensegueni, 2007) et le lapin (Djerrou et al. 2010).

Notre étude sur le potentiel de l'effet cicatrisant de l'extrait à l'hexane des fruits de lentisque, à raison de 0,5 mL/plaie/jour, montre que ce traitement a un effet positif significatif ($p \leq 0,05^*$), par rapport au contrôle, et ceci pendant la première moitié de la période de traitement, cependant il n'a pas d'effet positif significatif sur la vitesse de fermeture de plaies par rapport au contrôle, et ceci pendant la dernière moitié de la période de traitement.

En raison de l'absence de travaux faits par d'autres auteurs, sur l'évolution du processus cicatriciel de la préparation huileuse **HAS** extraites à partir des amandes d'argane, ou toute autre partie d'**AS**, il est raisonnable de proposer que l'activité cicatrisante rapportée traditionnellement pour l'huile d'argane, et soutenue par notre expérimentation, soit due à une action globale et synergique de ses constituants apolaires et aussi polaires, en favorisant la vascularisation au niveau des capillaires, et permettant ainsi de nourrir les tissus et par conséquent une régénération plus rapide des tissus lésés.

Egalement, en l'absence des études l'évolution du processus cicatriciel des préparations huileuses de **EHOFI** extraite à partir des graines, des études faites sur les extraits aqueux et alcooliques des raquettes de la même espèce ont montré une induction de la contraction des plaies traités par rapport au témoin, cependant, l'extrait aqueux a montré une meilleure contraction de la plaie pendant la réaction inflammatoire et la phase proliférative. (Ben laksira et al., 2013 ; Park, et Chun, 2001).

En Conclusion, après un traitement de plaies d'excision chez le lapin par des préparations huileuses **HAS**, **EHOFI**, et **EHPL**, les résultats de présent travail montrent :

- Les deux traitements **HAS** ; et **EHOFI** favorisent le processus cicatriciel (contraction %) des plaies chirurgicales chez le lapin d'une façon significative ($p \leq 0.05^*$), durant toute la période de traitement.
- La présence d'un effet potentialisant (qui accélère) la cicatrisation d'une façon significative ($p \leq 0.05^*$), chez les lapins traités avec la préparation huileuse à base *P. lentiscus* L. et ceci uniquement pendant la première moitié de la période de traitement.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

La pharmacopée traditionnelle algérienne ou Nord-africaine utilise des préparations semi-solides pour applications cutanées depuis l'antiquité, entre autres, à base d'huiles obtenues des fruits de trois plantes, à savoir lentisque (*Pistacia lentiscus* ou **PL**), figuier de Barbarie (*Opuntia ficus-indica* ou **OFI**) et argane (*Argania spinosa* ou **AS**), pour leur vertu cicatrisante dans les cas de plaies et brûlures. Malgré que ces phytothèmes jouissent d'une grande réputation en médecine traditionnelle pour soigner toutes sortes d'affections cutanées (irritations, eczéma, brûlures, plaies, etc.), peu de travaux scientifiques ont abordé globalement l'évaluation de leur propriété cicatrisante sur des plaies, leur potentiel toxique en relation avec leur composition chimique. Aucune étude d'évaluation de l'effet cicatrisant des huiles des fruits d'argane et des graines du Figuier de Barbarie n'est connue. Dans le cas du lentisque, les précédents travaux rapportés dans la littérature concernent l'évaluation de l'activité cicatrisante de l'huile extraite des baies associée ou non à d'autres ingrédients (Abdeljalil, 2016 ; Bensegueni, 2007 ; Boulebda et al, 2010 ; Djerrou et al, 2010 ; Maameri et al, 2012 ;).

Dans ce travail, une étude comparative du potentiel cicatrisant de préparations huileuses à base de ces trois plantes a été faite sur animal, ainsi qu'une évaluation de leur innocuité (toxicité aiguë, irritation oculaire et cutanée). Vu l'importance nutritionnelle de constituants de plantes, comme les protéines, acides gras, phytostérols, tocophérols et composés phénoliques, et leur apport revitalisant global connu sur la peau, nous avons tenté de les caractériser par des analyses physicochimiques et phytochimiques.

Les résultats de l'évaluation de l'activité cicatrisante des plaies d'excision chez le lapin, traitées par les 3 préparations huileuses (extraits de l'hexane de **OFI** et **PL**, huile grasse de **AS**) à raison de 0,5 mL/plaie/jour, montrent qu'à la fin de la période de 12 jours :

- les traitements à base de **HAS** et **EHOFI** accélèrent la fermeture des plaies significativement ($P < 0,05$) par rapport au contrôle témoin et au lot **EHPL** ;
- Le traitement à base d'**EHPL** n'a pas d'effet positif significatif sur la vitesse de fermeture de plaies par rapport au contrôle.

Les résultats des analyses physico-chimiques et phytochimiques des trois préparations huileuses et des extraits alcooliques des plantes étudiées sont regroupés dans le tableau 44.

Tableau 44 : Composition des plantes étudiées

	Composés	AS	OFI	PL
Fruit ou graine	Protéines (% , w/w)	26,21 ± 1,07	28,39 ± 0,92	23,85 ± 1,26
Préparations huileuses	AGPI/AGS	3,10	4,94	1,0
	Phytostérols totaux (% β -sitostérol), (mg/100g)	134,05 ± 1,76 (89,01%)	146,06 ± 2,13 (86,25%)	261,07 ± 2,62 (79,19%)
	Alpha-Tocophérol (mg/100g)	7,44	21,34	15,80
Extraits alcooliques	Phénols totaux (μ g/mg extr.)	35,57 ± 1,06	27,55 ± 0,40	26,09 ± 0,15
	Flavonoïdes totaux (μ g/mg extr.)	31,90 ± 0,72	30,45 ± 1,26	31,51 ± 1,00
	Cpsés phénoliques totaux (μ g/mg extr.)	67,47	58,00	57,60
	Cpsés. phénolique. identifiés. (mg/g)	Ac. quinique ac. malique coumarine ac. tannique	Ac. quinique, ac. chlorogénique hypéroside valline ac. malique	Ac. gallique ac. quinique ac. tannique protocatéchique hyperoside ac. malique

Il ressort en premier lieu de la lecture du tableau 44, que les préparations huileuses d'EHOFI et HAS ont une composition en acides gras polyinsaturés des plus intéressantes puisqu'elles ont des rapports (AGPI/AGS) largement supérieurs à celui d'EHPL (4.95, 3.10 et 1.0, respectivement). Il est utile de souligner que l'acide γ -linoléique (C18 :3, n6) est prédominant dans l'échantillon analysé de EHOFI (57 % AG totaux), alors qu'il est absent des deux autres préparations huileuses HAS et EHPL. Par contre l'analyse de EHOFI révèle que l'acide linoléique (C18 :2, n6) est absent, alors qu'il est présent en quantité importante dans HAS (36,69 % AG totaux) et EHPL (21,86 % AG totaux). Le taux des AGS trouvé pour EHPL est deux fois supérieur à celui mesuré pour chacun d'EHOFI et HAS. Il est bien établi

que les acides gras polyinsaturés (n3, n6), non seulement améliorent la structures cellulaires, mais normalisent également la synthèse des eicosanoïdes, médiateurs pro-inflammatoires (Menvielle-Bourg, 2008). L'acide linoléique, majoritaire dans **HAS** et **EHPL**, confère aux huiles qui le contiennent des propriétés revitalisantes sur la peau. Il intervient aussi bien dans l'activité mitotique que dans le maintien de l'intégrité des membranes des kératinocytes épidermiques et de la kératinisation (Adlouni, 2010).

Le taux de α -tocophérol trouvé dans l'extrait à l'hexane des graines d'**OFI** (21,34 mg/100 g ext) est supérieur à celui trouvé dans les extraits à l'hexane d'**AS** (07,44 mg/100 g ext) et de **PL** (15,80 mg/100 g ext). Des recherches ont mis en évidence l'importance biologique et pharmacologique des tocophérols, notamment du α -tocophérol (vitamine E) comme protecteur contre les radicaux libres qui sont à l'origine des altérations de la peau (Adlouni, 2010). D'autre part, le taux de phytostérols trouvé dans l'extrait de l'hexane de fruit de **PL** (261,07 mg/100 g ext) est relativement élevé que celui de **EHOFI** (146,06 mg/100 g ext) et **HAS** (134,05 mg/100 g ext). Il a été démontré que certains phytostérols ont des propriétés bénéfiques et protectrices sur la peau (Adlouni, 2010 ; Duke, 1992). L'analyse du contenu en composés phénoliques totaux (PT + FT) des extraits alcooliques de **AS**, **OFI** et **PL** ont révélé des concentrations de 67.47, 58.00 et 57.60 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ d'extrait, respectivement. Les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antibactériennes et veinotropes (veinotoniques et vasculo-protectrices) des flavonoïdes et d'autres composés phénoliques qui pourraient être présents en quantités limités dans les préparations huileuses des plantes étudiées (Khallouki, 2015) pourraient agir en synergie avec les autres constituants apolaires en favorisant la vascularisation au niveau des capillaires, et permettant ainsi de nourrir les tissus et par conséquent une régénération plus rapide des tissus lésés.

Sur le volet toxicologique, et selon les normes en vigueur, les trois produits huileux testés sur le lapin, à savoir **EHPL**, **HAS** et **EHOFI**, sont considérés non irritant au niveau oculaire et cutanée, ni sur les muqueuses anales. L'étude de la toxicité aigue chez les souris montre aussi une absence ou faible toxicité des trois préparations huileuses de **HAS**, **EHOFI** et **EHPL**, administrées par voie orale et par voie intrapéritonéale. Ces résultats constituent une indication de la relative bonne tolérance des traitements par **HAS/EHPL/EHOFI**, dans les conditions expérimentales de la présente étude.

Les résultats obtenus avec l'**EHPL** sont moins probants que ceux d'**EHOFI** et **HAS**. Une étude effectuée sur les plaies d'excision chez le rat a pourtant démontré l'efficacité de l'huile

et son insaponifiable (Boulebda et al, 2010). Les résultats négatifs rapportés par notre étude sur EHPL pourraient être justifiés par la méthode d'extraction (extrait de l'hexane au lieu de l'huile directement), la variété botanique utilisée, l'origine géographique de la plante ou sa période de récolte (Menvielle-Bourg, 2008). D'autres études sont nécessaires pour mieux apprécier le pouvoir cicatrisant du lentisque.

Finalement, grâce à la diversité de ses composés actifs, les préparations huileuses d'EHOFI et HAS possèdent des propriétés, qui nous intéressent particulièrement au niveau cutané, lors des phases de cicatrisation. Il est raisonnable de proposer que l'activité cicatrisante rapportée traditionnellement pour les huiles de ces plantes, et soutenue par notre expérimentation, soit due à une action globale et synergique de leurs constituants. L'apport revitalisant global bien établi sur la peau des composés nutritionnels, comme celui des acides gras poly insaturés, phytostérols, tocophérols, composés phénoliques, etc. contribuerait pour plus d'efficacité au processus global de cicatrisation et de régénération de l'intégrité de la peau.

Ces résultats constituent une première indication de la présence de propriétés favorables à la cicatrisation dans le cas de l'huile d'*Argania spinosa* et l'extrait de l'hexane des graines d'*Opuntia ficus-indica*, dans les conditions expérimentales et limites de la présente étude. Ils viennent à l'appui des vertus de cicatrisant rapportées par la médecine traditionnelle. Toutefois, pour se prononcer objectivement sur la valeur thérapeutique réelle de ces plantes, il est nécessaire de réaliser d'autres études précliniques complémentaires à savoir de :

- déterminer la nature des molécules bioactives et des mécanismes d'action impliqués à l'origine de l'effet cicatrisant global observé lors du traitement par ces deux préparations ;
- établir le profil toxicologique complet de ces préparations huileuses (effets mutagènes, carcinogènes, tératogènes, etc.).

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Abdeldjelil M. C., (2016)

Effets cicatrisants de produits à base d'huile de lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) sur les brûlures expérimentales chez le rat. *Doctorat es science en sciences vétérinaires*, Université des Frères Mentouri Constantine 1. pp 58-68.

Addis G., Urga K., Dikassol D., (2005)

Ethnobotanical Study of Edible Wild Plants. In Some Selected Districts of Ethiopia. *Hum. Eco.*, 33.

Adjoungoua A.L., Koffi A., Traore F. et Diafouka F., (2008)

Etude Phytochimique et Toxicologique de *Ziziphus mauritiana*, (Rhamnaceae), Une Plante Anti-hypertensive. *Med. Pharm. Afr.*, 21 : 73-82.

Adlouni A., (2010)

L'huile d'argan, de la nutrition à la santé. *Phyto-thér.*, 8(2) : 89-97.

Adlouni A., (2011)

Valorisation de l'huile d'argan : impact sur la prévention des maladies cardiovasculaires. *Actes du 1er Congrès International sur l'arganier*, Agadir.

AFNOR (Recueil des Normes Française), (1984)

Détermination de l'Indice de Réfraction, NF T 60 212, Paris.

AFNOR (Recueil des Normes Française), (1988)

Corps gras, Graines Oléagineuses, Produits Dérivés. 4^{ième} éd., AFNOR, Paris. p531,

AFNOR (Recueil des Normes Française), (1998)

Graine oléagineuses –Détermination de la teneur en acides gras par chromatographie en phase gazeuse. T60-233 et T60 -234.

AFNOR (Recueil des Normes Française), (1998)

Graine oléagineuses -Détermination de la teneur en huile (ISO 659).

Alaoui K., Belabres M., Cherrah Y., et al., (1998)

Toxicité aiguë et chronique des saponines d'*Argania spinosa*. *Ann. Pharm.*, Fr, 56 : 213-9.

Aires V., Adote S., Hichami A., Moutairou K., Es-Saddik E. Boustani and Naim A. Khan., (2003)

Modulation of intracellular calcium concentrations and T cell activation by prickly pear polyphenols. *Molec. and Cell. Biochem.*, 260: 103–110.

Aksoy A., Duran N., Koksal F., (2006)

In vitro and in vivo antimicrobial effects of mastic chewing gum against streptococcus mutans and mutans streptococci. *Arch. Oral. Biol.*, 51 (6): 476-481.

Ali-Shtayeh M.S., Abu Ghdeib S.I., (1999)

Antifungal Activity of Plant Extracts Against Dermatophytes. *Myc.*, 42 : 11-12.

Alizadeh A.M, Ahmadi A., Mohammadzadeh A., Paknejad M., Mohagheghi M., (2009)

The effect of HESA-A, an herbal-marine compound, on wound healing process: An experimental study. *Res. J. Biol. Sci.*, 4 (3): 298-302.

Allas S., (1997)

Effets et mécanismes d'actions d'extraits plaquettaires de porc sur la cicatrisation cutanée par première et seconde intention. *Thèse d'obtention du grade de Philosophie Doctorat en sciences biomédicales*, Montréal, p141.

Al-Said M.S., Ageel A.M., Parmar N.S., Tariq M., (1986)

Evaluation of mastic, a Crude Drug obtained from *Pistacia lentiscus* for Gastric and Duodenal Anti-ulcer Activity. *Ethnopharmacol.*, 15(3), 271-8.

Amhamdi H., Aouinti F., Wathelet J.P. et Elbachiri A., (2009)

Chemical Composition of the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. from Eastern Morocco. *Rec. Nat. Prod.*, 3(2):90-95.

Amzal H., Alaoui K., Tok S., Errachidi A., Charof R., Cherrah Y., Benjouad A., (2008)

Protective effect of saponins from *Argania spinosa* against free radical-induced oxidative haemolysis. *Fitoter.*, 79(5): 337–344.

Arab K., Bouchenak O., Yahiaoui, K., (2014)

Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle et des composés phénoliques du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). *J. Fundment. Appl. Sci.*, 6 (1):79-93.

Ariana B.; Kyriakopoulou K.; Papaefstathiou G.; Magdalinikrokida V., Magoulas K., (2014)

Comparison of different extraction methods of *Pistacia lentiscus* var. Chia leaves: Yield, antioxidant activity and essential oil chemical composition. *J. of applied res. on Med. and Arom. Pl.* 1: 81-91.

Atmani D., Chaheer N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N., (2009)

Antioxydant Capacity and Phenol Content of Selected Algerian Medicinal Plants. *J. Elsevier, Food Chem.*, 112:303–309.

Baba Aissa F., (1999)

Encyclopédie des Plantes Utiles, Flores d'Algérie et du Magreb, Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. *Edas éd.*, Rouiba, Algérie. p156.

Baba Aissa F., (2011)

Encyclopédie des plantes utiles. *El-Maarifa*. Alger.

Balan K.V., Demetzos C., Prince J., Dimas K., Cladaras M., Han Z., Wyche J.H., Pantazis P., (2005)

Induction of apoptosis in human colon cancer HCT116 cells treated with an extract of the plant product, *Chios mastic gum*. *In Vivo*. 19 (1): 93-102.

Balan K.V., Prince J., Han, Z., Dimas K., Cladaras M., Wyche J.H., Sitaras N.M., Pantazis P., (2007)

Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var. chia. *Phytomed.*, 14 (4): 263-272.

Barazani O.Z., Dudai N., Golan-Goldhirs A., (2003)

Comparison of Mediterranean *Pistacia lentiscus* Genotype by Random Amplified Polymorphic DNA, Chemical, and Morphological Analyses. *J. of Chem. Eco.*, 29 (8).

Barra A., Coroneo V., Dessi S., Cabras P., Angioni A., (2007)

Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, 55 (17):7093-7098.

Baudière A., Monange Y., Gauquelin Th., (2002)

Le Monde des Plantes, Intermédiaire des Botanistes. Toulouse, (477) : 2 – 5.

Baudoux D., (2003)

L'aromathérapie : Se soigner par les Huiles Essentielles. *Ed. Amyris*, pp145-146.

- Belarbi-Benmahdi M., Khaldi D., Beghdad C., Gouzi H., Bendimerad N., (2009)**
Physicochemical and nutritional study of argan oil (*Argania spinosa* L.) in south-western Algeria. *Pigm. and Resin Technol.*, 38 (2): 96-99.
- Belfadel F.Z., (2009)**
Huile de fruits de *Pistacia lentiscus*. Caractéristiques physicochimiques et effets biologiques. Mémoire présentée pour obtenir le diplôme de Magistère en chimie organique, Université Constantine
- Bellakhdar J., (1997)**
La pharmacopée marocaine traditionnelle : médecine arabe ancienne et savoirs populaires. *Ed. Le Fennec*; Casablanca, pp 761-769.
- Bellakhdar, J., (2008)**
Hommes et plantes au Maghreb: éléments pour une méthode ethnobotanique. *Lulu.com*, p386.
- Benhammou N., AtikBekkara F., Panovska TK., (2008)**
Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *Afr. J. Pharmacy and Pharmacol.*, 2 (2): 22-28.
- Ben Laksira B.S., Halmi S., Djerrou Z., Beroual K., Bachtarzi K., Maamri Z., Hamdi Pacha Y., (2013)**
Cicatrizing effect of *Opuntia ficus indica* aqueous extract and seeds powder in New Zealand rabbits. *Int. J. Med. Arom. Plant.*, 3(2): 159-162.
- Bennani H., Drissi A., Giton F., Kheuang L., Fiet J., Adlouni A., (2007)**
Antiproliferative effect of polyphenols and sterols of virgin argan oil on human prostate cancer cell lines. *Cancer Detect Prev.*, 31 (1): 64–69.
- Bennani H., Fiet J., Adlouni A., (2009)**
Impact of argan oil on prostate cancer antiproliferative effect: *study of polyphenols*. *Franco Lab*, 416: 23–26.
- Bensadón S., Hervert-Hernández D., Sáyago-Ayerdi S. G., Goñi I., (2010)**
By-Products of *Opuntia ficus-indica* as a Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Plant Foods for Hum. Nutr.*, 65(3): 210–216.
- Bensegueni A., (2007)**
Les onguents traditionnels dans le traitement des plaies et des brûlures. *Thèse pour l'obtention de diplôme de doctorat d'Etat en sciences vétérinaires*, option chirurgie pharmacologie. Université de Constantine, p 97.
- Benzyane M., (1995)**
Le rôle socio-économique et environnemental de l'arganier. *Acte des journées d'études sur l'arganier*, Essaouira, Maroc.
- Berrada Y., Settaf A., Baddouri K., Cherrah A. et Hassar M., (2000)**
Mise en évidence expérimentale des effets antihypertenseurs et hypocholestérolémiants de l'huile d'argan, *Argania sideroxylon*. *Thérap.* 55 : 375-378.
- Berrougui H., Ettaib A., Herrera Gonzalez M.D., Alvarez de Sotomayor M., Bennani-Kabchi N. et Hmamouchi M., (2003)**
Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of argan oil (*Argania spinosa* L.) in *Meriones shawi* rats. *J. of Ethnopharmacol.*, 89 (1):15-18.

Berrougui H., De Sotomayor M. A., Pérez-Guerrero C., Ettaib A., Hmamouchi M., Marhuenda E., Herrera M. D., (2004)

Argan (*Argania spinosa*) oil lowers blood pressure and improves endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats. *Br. J. Nutr.*, 92 (6): 921–929.

Berrougui H., Cloutier M., Isabelle M., Khalil A., (2006)

Phenolic-extract from argan oil (*Argania spinosa* L.) inhibits human low-density lipoprotein (LDL) oxidation and enhances cholesterol efflux from THP-1 macrophages. *Atherosclerosis*, 184(2): 389–396.

Bhourri W., Derbal S., Skandarani I., Boubaker J., Bouhlel I., Sghaier M.B., Kilani S., Mariotte A.M., Dijoux-Franca M.G.; Ghedira K., Chekir-Ghedira L., (2010)

Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicol. in Vitro*, 24 : 509-515.

Bnouham M., Bellahcen S., Benalla W., Legssyer A., Ziyat A. Mekhfi H., (2008)

Antidiabetic activity assessment of *Argania spinosa* Oil. *J. Complement Integr. Med.*,5(1): 32.

Bock B., (2009)

Pistacia lentiscus L. <http://www.telabotanica.org>, consultée le 10/01/2016.

Boelens M. H., Jimenez R., (1991)

Chemical composition of the essential oils from the gum and from various parts of *Pistacia lentiscus* L. (mastic gum tree). *Flavour and Fragrance J.*, 6 (4): 271–275.

Bonnier G., Douin R., (1990)

La grande flore en couleurs : France, Suisse, Belgique et pays voisins. *Éd. Belin*, Paris.

Boudjira M., (2002)

Contribution à l'Etude Biochimique de l'Huile d'Arganier (*Argania spinosa* L.). *Mem. Ing. Agro.*, I.N.A : p55.

Boulebda N., Belkhiri A., Belfadel F. Z., Bensegueni A., Bahri L., (2010)

Dermal Wound Healing Effect of *Pistacia lentiscus* Fruit's Fatty Oil. *Res. J. Pharmacog.*, 1(2) : 66-71.

Boullard B., (2001)

Dictionnaire des plantes médicinales du monde: Réalités et Croyance, *Ed. Estem*, p414, 415.

Boulos L., (1983)

Medicinal Plants of North Africa. *Med. Plants of the World*, (3). Michigan.

Bouslama L., Hayashi K., Lee J., Ghorbel A., Hayashi T., (2011)

Potent virucidal effect of pheophorbide and pyropheophorbide on enveloped viruses. *J. Nat. Med.*, 65: 229–233.

Bouzoubaâ Z., (2009)

L'arganier entre la mondialisation et les changements climatiques. *Agricul. du Maghreb*, (39).

Boykin J.V. JR., (1996)

Hyperbaric Oxygen therapy: A physiological approach to selected problem wound healing. *Wounds*, 8 (16): 183-198.

Bruneton J., (1999)

Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. *Ed TEC& DOC*, 3^{ème} Ed., *Lavoisier*.

Bruneton J., (2002)

Phytothérapie, les données d'évaluation. *Tec & Doc*. Paris

Bullitta S. Æ Piluzza G. Æ Viegi L., (2007).

Plant resources used for traditional ethnoveterinary phytotherapy in Sardinia (Italy). *Genet. Resour. Crop. Evol.*, 54:1447–1464.

Charef M., Yousfi M., Saidi M., Stocker P., (2008)

Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria. Springer link. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 85: 921-924.

Charrouf Z., Wieruszkeski J.M., Fkih-Tetouani S., Leroy Y., Charrouf M., Fournet B., (1992)

Triterpenoid saponins from *Argania spinosa*. *Phytochem.*, 31 (6):2079-2086.

Charrouf Z., (1998)

Valorisation des produits de l'arganier pour une gestion durable des zones arides du sud-ouest marocain. *Actes du 4e Colloque Produits naturels d'origine végétale* (Ottawa 26-29 Mai 1998), Laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales, Université du Québec à Chicoutimi.

Charrouf Z., Guillaume D., (1999)

Ethnoeconomical, ethnomedical, and phytochemical study of *Argania spinosa* L. Skeels. *J. of Ethnopharmacol.*, 11: 7–14.

Charrouf Z., Guillaume D., (2002)

Secondary metabolites from *Argania spinosa* L. Skeels. *Phytochem.*, 1: 345-354.

Charrouf Z., (2001)

Valorisation de l'arganier : résultats et perspectives. In : Actes du 5^e colloque produits naturels d'origine végétale (Québec 7-9 août 2001). *Collin G & Garneau FX* (eds), Université du Québec, Chicoutimi, Québec, pp 261-270.

Charrouf Z., Guillaume D., (2007)

Phenols and polyphenols from *Argania spinosa*. *Am. J. Food Technol.*, 2: 679–683.

Charrouf Z., Guillaume D., (2008)

Argan oil: Occurrence, composition and impact on human health. *Eur. J. of Lipid Sci. and Technol.*, 110 : 632–636.

Charrouf Z., Guillaume D., (2014)

Argan oil, the 35-years of research product. *Eur. J. of Lipid Sc. and Technol.*, 116 :1316–1321.

Chavéron H., (1999)

Introduction à la Toxicologie Nutritionnelle. *Ed TEC & DOC, Lavoisier*. Paris, pp 04-41.

Cherki M., Derouiche A., Drissi A., El Messal M., Bamou Y., Idrissi-Ouadghiri A., Khalil A., Adlouni A., (2005)

Consumption of argan oil may have an antiatherogenic effect by improving paraoxonase activities and antioxidant status: intervention study in healthy men. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 15: 352–360

Cherki M., Berrougui H., Drissi A., Adlouni A., Khalil A., (2006)

Argan oil: Which benefits on cardiovascular diseases? *Pharmacol. Res.*, 54: 1–5.

Chiej R., (1982)

Les Plantes Médicinales. *Ed. Solar*, Paris, France p 235.

Chougui N., Sahi Y., Belkacemi M., (2013)

Comparative study between the different compartments of *Opuntia ficus-indica* L. *Inside Food Symposium, Leuven, Belgium.*

Clifford M.N., (1986)

Phenol–protein interactions and their possible significance for astringency. In G.G. Birch and M.G. Lindley (eds), *Interaction of Food Components. Elsevier. Applied Sci.*, London, pp. 143–164.

COISM (Conseil des Organisations internationales des Sciences médicales), (1993)

Lignes directrices internationales relatives aux experts éthiques de la recherche biomédicale sur des sujets humains. Genève.

Coulibaly S., Desplats D., Kone Y., Nimaga K., Dugas S., Farnarier G., Sy M., Balique H., Doumbo O. K., Dormael M. V., (2007)

Une médecine rurale de proximité: l'expérience des médecins de campagne au Mali. *Educ. for health*, 20 (2) : 47.

Croteau R., Kutchan T.M. and Lewis N.G., (2000)

Natural products (secondary metabolites). In B.B. Buchanan, W. Gruissem and R.L. Jones (eds), *Biochemistry and Molecular Biology of Plant. Amer. Society of Plant, Physiologists*, Rockville, MD, pp 1250–1318.

Cuyckens F., Shahat A. A., Pieters L. and Claeys M., (2002)

Direct stereochemical assignment of hexose and pentose residues in flavonoid O-glycosides by fast atom bombardment and electrospray ionization mass spectrometry. *J. of Mass Spectrometry*, 37: 1272-1279.

Dabos K.J., Sfika E., Vlatta L.J., Frantzi D., Amygdalos G.I., Giannikopoulos G., (2010)

Is Chios mastic gum effective in the treatment of functional dyspepsia? A prospective randomized double-blind placebo controlled trial. *J. Ethnopharmacol.*, 127 (2): 205-209.

Dadoune J. P., Hadjiisky P., Siffroi J. P., Vendrely E., (2007)

Histologie. 2^{ième} éd., *Flammarion*, p 190, 267-272, et 393.

Debbou B., Chouana T., (2003)

Extraction et caractérisation biochimique de l'huile d'argan (*Argania spinosa* L. Skeels). *Mémoire d'Ingénieur en technologie alimentaire.*

Dedoussis G.V.Z., Kaliora A.C., Psarras S., Chiou A., Mylona A., Papadopoulos N.G. and Andrikopoulo N.K., (2004)

Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and down regulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis*, 174(2): 293–303.

Delille L., (2007)

Les plantes médicinales d'Algérie. *Ed. Berti Alger*, pp147-148.

Derache R., (1986)

Toxicologie et Sécurité des Aliments. *TEC&DOC, Ed. Lavoisier*, Paris, pp 65-85.

Derouiche A., Cherki M., Drissi A., Bamou Y., (2005)

Nutritional intervention study with argan oil in man: effects on lipids and apolipoproteins. *Ann. Nutr. Metab.*, 49: 196–201.

Devon T. K., Scott A. I., (1972)

Terpenes. *Handbook Naturally Occurring Compounds. NewYork & London, Academic Press* 5-200

Dewick P.M., (2002)

Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, 2nd eds., *John Wiley and Sons*, Chichester.

Dewick P. M., (2009)

Medicinal Natural Products, A Biosynthetic Approach, *Wiley*, 167-169.

Dhifi W., Jelali NChaabani E., Beji M., Fatnassi S., Omri S. et Mnif W., (2013)

Chemical composition of lentisk (*Pistacia lentiscus* L.) seed oil. *Afr. J. of Agric. Res.*, 8(16) : 1395-1400.

Diegelmann R.F., Evans M.C., (2004)

Wound Healing: An Over View Of Acute, Fibrotic and Delayed Healing. *Frontiers in Biosc.*, 1(9) : 283-289.

Diegelmann R.F., (2004)

Les fondamentaux de la cicatrisation des plaies : Escarres, fibrose et obstacles à la cicatrisation. *J. des plaies et cicatrisat.*, (44) : 51-56.

Dimas K., Hatziantoniou S., Wyche J.H., Pantazis P., (2009)

A mastic gum extract induces suppression of growth of human colorectal tumor xenografts in immunodeficient mice *In Vivo*. 23 (1) : 63-68.

Djerrou Z., Maameri Z., Hamdi-pacha Y., Serakta M., Riachi F., Djaalab H., Boukeloua A., (2010)

Effect of virgin fatty oil of *Pistacialentiscus* on experimental burn wound's healing in rabbits. *Afr. J. Traditional, Complementary and Alternative Medecines*, 7(3): 258-263.

Djerrou Z., (2014)

Anti-hypercholesterolemic effect of *Pistacialentiscus* fatty oil in egg yolk-fed rabbits: a comparative study with simvastatin. *Elsevier, Chinese J. Natur. Med.*, 12(8): 0561-0566.

Doba T., Dahmane D., Chelghoum C., (2006)

Chemical Composition of the Essential Oils of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *J. of Essential Oil Res.*, 18 (3): 335-338.

Dogan Y., Baslar S., Aydin H., Mert H., (2003)

A study of the soil-plant interactions of *Pistacia lentiscus* L. distributed in the western Anatolian part of Turkey. *Acta. Bot. Croat.*, 62 (2): 73-88.

Dormat A. et Bourneuf J., (1985)

Dictionnaire de la Médecine. *Larousse*, Paris, p647.

Drissi A., Girona J., Cherki M., Godas G., Derouiche A., El Messal M., Saile R., Kettani A., Sola R., Masana L., Adlouni A., (2004)

Evidence of hypolipemiant and antioxidant properties of argan oil derived from the argan tree (*Argania spinosa*). *Clin. Nutr.*, 23(5): 1159–1166.

Duke J., (1992)

Hand book of biological Actif phytochemical and their Activities, *CRC. Press. Inc. Boca. Raton*, Florida.

Duru M.E., Cakirb A., Kordalic S., Zenginc H., Harmandara M., Izumid S., Hiratad T., (2003)

Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species. *Fitoter.*, 74 (1–2): 170–176.

- El Babili F., Bouajila J., Fouraste I., Valentin A., Mauret S. et Moulis C., (2010)**
Chemical study, antimalarial and antioxidant activities, and cytotoxicity to human breast cancer cells (MCF7) of *Argania spinosa*. *Phytomed.* 17 (2): 157-160.
- El Fakhar N., Charroouf Z., Coddeville B., Leroy Y., Michalski J. C., Guillaume D., (2007)**
New triterpenoid saponins from *Argania spinosa*. *J. Nat. Med.*, 61: 375–380.
- El Hachimi F., El Antari A., Boujnah M., Bendrisse A., Alfaiz C., (2015)**
Comparison of oils seed and fatty acid content of various Moroccan populations of jujube, grenadier and prickly pear, *J. Mater. Environ. Sci.*, 6 (5):1488-1502.
- El Mannoubi I., Barrek S., Skanji T., Casabianca H., Zarrouk H., (2009)**
Characterization of *Opuntia ficus indica* seed oil from Tunisia. *Chemis. of natur. Compounds*.
- El Monfalouti H., Guillaume D., Denheza Cl- et Zoubida Charrouf Z., (2010)**
Therapeutic potential of argan oil. *J. of Pharmacy and Pharmacology*, 62: 1669–1675.
- Ennouri M., Evelyne B., Laurence M., Attia H., (2005)**
Fatty acid composition and rheological hem. of prickly pear seed oils. *Food Chemis.*, 93:431–437.
- Ennouri M.A.D., Hamadi Fetoui B., Hammami M.C., Evelyne Bourret D., Hamadi Attia A., Najiba Zeghal B., (2007)**
Effects of diet supplementation with cactus pear seeds and oil on serum and liver lipid parameters in rats. *Food Chemis.* pp248–253.
- Enoch S., Leaper D. J., (2005)**
Basic science of wound healing. *Surgery*, 23(2):37-42.
- Ertas A., Boğa M., Yılmaz M.A., Yesil Y., Hasimi N., Kaya M.S., Temel H., Kolak U., (2014)**
Chemical compositions by using LC-MS/MS and GC-MS and biological activities of *Sedum sediforme* (Jacq.) Pau. *J. Agric. Food Chem.*, 62: 4601-4609.
- FAO., (1992)**
Minor Oil Crops. *Edition FAO, Intermediate technology development* : 3-9. UK
- FAO., (1993)**
Codex alimentaire ; Graisse ; Huile et Dérives. *Ed. FAO*, 08 : 3-6.
- Faouzi K., Rharrabti Y., Boukroute A., Mahyou H., Berrichi A., (2015)**
Cartographie de l'aire de répartition de l'arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) dans la région orientale du Maroc par le G.P.S. combiné au S.I.G. « *Nature & Technologie* ». *C-Sci. de l'Envir.*, (12) : 16 à 24.
- Farines M., Charrouf M., Soulier J., (1981)**
The sterols of *Argania spinosa* seed oil. *Phytochemis.*, 20 (8) : 2038-2039.
- Farines M., Soulier J., Charrouf M., Cave A., (1984)**
Etude de l'Huile de Graines d'*Argania spinosa* L. Sapotaceae, Stérol alcools Triterpéniques et Méthyl stérol de l'Huile d'Argan. *Revue Française des Corps Gras*, (11) : 443-448.
- Farines M., Soulier J., Charrouf M., Soulier R., (1984)**
Etude de l'Huile de Graines d'*Argania spinosa* L. Sapotaceae, la Fraction Glycéridique. *Revue Française des Corps Gras*, (7/8) : 283-286.

Fawcett D. W., Jensch R. P., Salzmann J. L., Bloom W., (2002)

Histologie: l'essentiel. *Maloine*, Paris, p 477.

Feidemann J., (2005)

World Spices Plants: Economic Usage, Botany, Taxonomy Springer Verlag, Berlin Heidelberg.
Europ. Union, p196.

Fernández-López J. A., Almela L., Obón J. M., Castellar R., (2010)

Determination of Antioxidant Constituents in Cactus Pear Fruits. *Plant Foods for Hum. Nutr.*, 65 (3): 253–259.

Ferraq Y., (2007)

Développement d'un modèle de cicatrisation épidermique après une désépidermisation laser. *Thèse de Doctorat Biologie, santé, biotechnologies (BSB)*. Université Toulouse III.

Gaitan E., Lindsay R.H., Reichert R.D. et al., (1989)

Antithyroidic and giotrogenic effects of millet: role of C-glycosylflavones. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 68 : 707–714.

Gambichler T., Moussa G., Sand M., Sand D., Altmeyer P., Hoffmann K., (2005)

Applications of optical coherence tomography in dermatology. *J. Dermatological Sci.*, 40 (2): 85–94.

Gilles W., (1976)

L'Encyclopédie des Médecines Naturelles et des Secrets de Santé. Elina, *Lavoisier*, Paris, pp 212-222.

Gioxari A., Kaliora A.C., Papalois A., Agrogiannis G., Triantafillidis J.K., Andrikopoulos N.K., (2011)

Pistacia lentiscus resin regulates intestinal damage and inflammation in trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *J. Med. Food.*, 14 (11):1403-1411.

Goliger J. A., Paul D. L., (1995)

Wounding alters epidermal connexin expression and gap junction-mediated intercellular communication. *Mol. Biol. Cell.*, 6 (11): 1491-1501.

Gosse B., Gnabre J., Bates R. B., Dicus C. W., Nakkiew P., Huang R. C., (2002)

Antiviral saponins from *Tieghemella heckelii*. *J. Nat. Prod.*, 65: 1942–1944.

Grosjean N., (2001)

L'Aromathérapie, Santé et bien-être par les Huiles Essentielles. *Albin Michel*, p99.

Grosjean N., (2007)

L'Aromathérapie. *Ed. Eyrolles*, p163.

Guevara-Figueroa T., Jiménez-Islas H., Reyes-Escogido M.L., Mortensen A.G., Laursen B.B., Lin L.-W., De León-Rodríguez A., Fomsgaard I.S., Barba de la Rosa A.P., (2010)

Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *J. of Food Composition and Analysis, Horticulture, Biodiversity and Nutrition*. 23(6) : 525–532.

Guichard C., (1967)

Eléments de Pharmacie et de Technologie Pharmaceutique (Pharmacie Galénique), *Flammarion*.

Guillaume D., Charrouf Z., (2005)

Saponines et métabolites secondaires de l'arganier ou *Argania spinosa*: état des connaissances. *Cahier. Agric.*, 15: 509–516.

Habbu P.V., Joshi H., Patil B.S., (2007)

Potential wound healing healers from plant origin. *Pharmacog. Rev.*, 1(2): 271-281.

Habibi Y. et Vignon M.R., (2005)

Isolation and characterization of xylans from seed pericarp of *Argania spinosa* fruit. *Carbohydrate Res.*, 340 (7) : 1431-1436.

Hamdi Pacha Y., (1993)

Effect Biologique d'un Nectar de Fleur. *J. A. M.*, 3 (2) : 104-114.

Harborne J.B., (1993)

The Flavonoids: Advances in Research Since 1986. *Chapman & Hall*, London.

Harhar H., Gharby S., Ghanmi M., El Monfalouti H., Guillaume D. et Charrouf Z., (2010)

Composition of the essential oil of *Argania spinosa* (Sapotaceae) fruit pulp. *Nat. Prod. Commun.*, 5(6):935-936.

Hartmann T., (1991)

Alkaloids in herbivores: Their interaction with secondary plant metabolites, 2nd ed. *Academic Press*, San Diego, 1 (9).

Heinrich M., (2000)

Ethnobotany and its role in drug development. *Phytother. Res.*, 14(7) : 479-88.

Hickey M., King C., (1988)

100 Families of Flowering plants. 2^{ème} éd., Cambridge University (botanic garden), p291.

Hilali M., Charrouf Z., Soulhi A., Hachimi L., Guillaume D., (2005)

Influence of origin and extraction method on argan oil physico-chemical characteristics and composition. *J. Agric. Food. Chem.*, 53:2081-7.

Hmimza Y., (2004)

L'agrobiodiversité dans les les agrosystèmes traditionnels de montagnes : Cas du Rif marocain. *Mémoire de 3ème cycle*. Université AbdelMalek Essâdi, Faculté des sciences, Tétouan, Maroc : p100.

Iauk L., Ragusa S., Rapisarda A., Franco S., Nicolosi V.M., (1996)

In vitro Antimicrobial Activity of *Pistacia lentiscus* L. Extracts: Preliminary Report. *Chemother*, 8(3):207-9.

Iserin P., (2001)

Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins. 2^{ème} éd., *Ed Larousse VUEF* : pp13-16, p 250, pp291-296.

Ivanova D., Gerova D., Chervenkov T., Yankova T., (2005)

Polyphenols and antioxidant capacity Bulgarian medicinal plants. *J. of Ethnopharmacol.*, 96: 145-150

Janakat S., Al-Merie H., (2002)

Evaluation of Hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*. *Ethnopharmacol.*, 83(1-2):135-8.

J.O.R.F.

Journal Officiel de la république française du 24/10/84

Journal Officiel de la république française du 21 /01/82

Journal Officiel de la république française du 21/04/74

Journal Officiel de la république française du 08/08/72

Karleskind A., (1992)

Manuel des Corps Gras, Tech. & Doc. *Lavoisier*, Paris, Tome (I-II), p768, 1571.

Khallouki F., Younos C., Soulimani R., Oster T., Charrouf Z., Spiegelhalder B., (2003)

Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. *Eur. J. Cancer.*, 12:67-75.

Khallouki F., Haubner R., Ricarte I., Erben G., Klika K., Ulrich C.M. et Owen R.W., (2015)

Identification of polyphenolic compounds in the flesh of Argan (Morocco) fruits. *Food Chemistry*, 179 (15):191-198.

Kim H.J., Neophytou C., (2009)

Natural anti-inflammatory compounds for the management and adjuvant therapy of inflammatory bowel disease and its drug delivery system. *Arch. Pharmacol. Res.*, 32 (7): 997-1004.

Kintz P., (1998)

Toxicologie et pharmacologie médicolégales. *Ed. Elsevier Masson*.

Kordali S., Cakir A., Zengin H., Duru M. E., (2003)

Antifungal activities of the leaves of three Pistacia species grown in Turkey. *Fitoter.*, 74 : 1–2.

Kouidri M., Saadi A.K., Noui A., (2014)

Physicochemical study and composition of *Argania spinosa* oil from two regions of Algeria. *Chemis. Of Natur. Comp.*, 50(2):346-348.

Koutsoudaki C., Krsek M., Rodger A., (2005)

Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* var. Chia. *J. Agric. Food. Chem.*, 53 (20) :7681-7685.

Kris-Etherton P.M., (1999)

Mono-unsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. *J. Circulation*, 100(11): 1253-1258.

Kutchen T.M., (1995)

Alkaloid biosynthesis- the basis for metabolite engineering of medicinal plant, *The Plant Cell.*, 7, 1059.

Lagarda M.J., Garcia-Llatas G., Farré R., (2006)

Analysis of Phytosterols in Food. *J. of Pharmaceut. and Biomed. Analysis*, 41: 1486-1496.

Lamgharda El Kossori R., Villaume C., El Boustani E., Sauvaire Y. et Mejean L., (1998)

Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indica* sp). *Plant Foods for Hum. Nutr.*, 52: 263-270.

Lauwerys R. R., (2003)

Toxicologie Industrielle et Intoxications Professionnelle. *4ième éd., Masson*, Paris, p03, pp 08-24, pp 83-90.

Lazarus G.S., Cooper D.M., Knighton D.R., Margolis D.J., Pecoraro R.E., Rodeheaver G., Robson M.C., (1994)

Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Arch. Dermatol.*, 130(4): 489-93.

Leonti M., Casu L., Sanna F., Bonsegnore L., (2001)

A Comparison of Medicinal Plant Use in Sardinia and Sicily. *De Materia Medica*. 72, 09122, Italy.

Linden G., (1981)

Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires, *Lavoisier*, Paris, pp 50-5A.

Lipsker D., (2007)

Aspects dermatologiques au cours de la maladie de Lyme. Médecine et maladies infectieuses. *Elsevier*, 37 : 7-8.

Longo L., Scardino A., Vasapollo G., (2007)

Identification and Quantification of Anthocanins in The Berries of *Pistacia lentiscus* L. *Elsevier*, Italy.

Loutrari H., Magkouta S., Pyriochou A., Koika V., Kollis F.N., Papapetropoulos A., Roussos C., (2006)

Mastic oil from *Pistacia lentiscus* var. Chia inhibits growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis. *Nutr. Cancer*, 55(1):86-93.

Magiatis P., Melliou E., Skaltsounis A.L., Chinou I.B., Mitaku S., (1999)

Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus*. var. *chia*. *Planta. Med.*, 65(8):749-752.

Magomya A.M., Kubmarawa D., Ndahi J.A., Yebpella G., (2014)

Determination Of Plant Proteins Via The Kjeldahl Method And Amino Acid Analysis: A Comparative Study. *Inter. J. of sci. & Technology Res.*, 3(4), ISSN 2277-8616(68).

Mahmoudi M., Ebrahimzadeh M.A., Nabavi S.F., Hafezi S., Nabavi S.M., Eslami S.H., (2010)

Antiinflammatory and antioxidant activities of gum mastic. *Eur. Rev. Med. Pharmacol.*, 14(9):765-769

Mandal V., Mohan Y., Hemalatha S., (2007)

Microwave assisted extraction - an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Rev.*, 1: 7-18.

Mann J., (1987)

Secondary Metabolism. 2^{ème} éd., *Clarendon Press, Oxford*, p133.

Mannoubi S., Barrek T., Skanji H., Casabianca and Zarrouk H., (2009)

Characterization of *Opuntia ficus indica* seed oil from Tunisia. *Chemist. of Natur. Comp.*, 45 (5).

Mansour-Djaalab H., Kahlouche-Riachi F., Djerrou Z., Serakta-Delmi M., Hamimed S., Trifa W., Djaalab I., Hamdi Pacha Y., (2012)

In vitro evaluation of antifungal effects of *Lawsonia inermis*, *Pistacia lentiscus* and *Juglans regia*. *Inter. J. of Med. and Arom. Plants*, 2 (2):263-268.

Marieb E.N., (2005)

Anatomie et Physiologie Humaines. 6^{ème} éd., *Pearson Education*, France, pp 156-163.

Marieb E.N., Lachaine R., (2008)

Biologie humaine: principes d'anatomie et de physiologie. *Pearson Ed.*, France.

Marfil R., Cabrera-Vique C., Gimenez R., Bouzas P. R., Martinez O., Sanchez J. A., (2008)

Metal content and physicochemical parameters used as quality criteria in virgin argan oil: influence of the extraction method. *J. Agric. Food. Chem.*, 56 (16): 7279-7284.

Marone P. Bono L. Leone E. Bona S. Carretto E. Perversi L., (2001)

Bactericidal activity of *Pistacia lentiscus* mastic gum against *helicobacter pylori*. *J. Chemother.* 13 (6): 611-614.

Martin A., (1997)

The use of antioxidants in healing. *Dermatol. Surg.*, 22: 156- 160.

Maurin R., (1992)

L'Huile d'Argan *Argania spionsa* L.Skeels Sapotaceae, *Revue Française des Corps Gras*, (5-6) : 139-145.

Maurin R., FellatZarrouck K., Ksir M., (1992)

Positional Analysis and Determination of Triacylglycérol Structure of *Argania spionsa* Seed Oil. *J. of the Amer. Oil Chemist's Society*, 69 (2) : 140-145.

Maurin L., (2005)

Le porc : modèle animal de cicatrisation cutanée. *Thèse présentée à l'université Claude-Bernard-Lyon I* (Médecine – Pharmacie) pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, p 138.

Mekhfi H., Gadi D., Bnouham M., Ziyat A., Legssyer A. Aziz M., (2008)

Effect of argan oil on platelet aggregation and bleeding time: a beneficial nutritional property. *J. Compl. Integr. Med.*, 5(1): 18.

Mekni, N., (2011)

GC/MS Chemical Analysis of *Pistacia lentiscus* fatty oil from the north of Tunisia. *Inter. J. of Pharm. Tech. Res.*, 3 (4): 2245-2248.

Méndez L.P., Flores F.T., Martín J.D., Rodríguez E.M.R, Romero C.D., (2015)

Physicochemical characterization of cactus pads from *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus-indica*. *Food chemistry*, Elsevier,188 : 393–398

Menvielle-Bourg F.J., (2008)

L'extrait huileux au CO₂ supercritique de baies et de graines d'argousier (*Hippophae rhamnoides* L.) et ses effets sur la peau et les muqueuses. 6 : 3-7.

Mezni F., Maaroufi A., Msallem M., Boussaid M., Larbi Khouja M., Khaldi A., (2012)

Fatty acid composition, antioxidant and antibacterial activities of *Pistacia lentiscus* L. fruit oils. *J. med. plant Res.*, 6 (39) : 5266-5271.

Mezni F., Labidi A., Msallem M., Boussaid M., Khouja M.L., Khaldi A., (2014)

Influence of harvest date on fatty acid composition and antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* L. edible oils. *J. Mater. Environ. Sci.*, 5, (6) : 1703-1708.

M'hirit O., Benzyane M., Benchekroun F., (1998)

L'arganier : Une espèce fruitière forestière à usages multiples. *Mardaga, Sprimont*. 287009681X. p 150.

Mitcher A., (1986)

Tous les Arbres de nos Forêts. *Ed. Bordas*, p 319.

Montserrat Vilà., (2009)

Opuntia-ficus-indica (L.) Miller, prickly-pear cactus (*Cactaceae*, *Magnoliophyta*). In *Species Accounts of 100 of the Most Invasive Alien Species in Europe. DAISIE, Handbook of Alien Species in Europe*, p 269.

More D. et White J., (2005)

Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde. *Flammarion*, pp 18,797.

Moukal A., (2004)

L'arganier, *Argania spinosa* L. (Skeels), usage thérapeutique, cosmétique et alimentaire. *Phytothér.*, 2 : 135–141.

Moulin Y., (2001)

Comprendre le processus de cicatrisation. *Linfirmière du Québec*, 9 (1) : 37-40.

Moulos P., Papadodima O., Chatziioannou A., Loutrari H., Roussos C., Kolis F.N., (2009)

A transcriptomic computational analysis of mastic oil-treated lewis lung carcinomas reveals molecular mechanisms targeting tumor cell growth and survival. *B.M.C. Med. Genom.* 2 (68)1-15.

Msanda F., El aboudi A., pelitier J.P., (2005)

biodiversité et biogéographie de l'arganeraie marocaine. *Cahier agriculture*, 14 (4) : 358, Maroc.

Naudet M., (1992)

Principaux Constituants des Corps Gras, in Manuel des Corps Gras. Tech. & Doc. *Lavoisier*, Paris, Tome (I), pp 65-94.

Ncibi S., Ben Othman M., Akacha A., Naceur Krifi M., Zourgui L., (2008)

Opuntia ficus indica extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver. *Food and Chem. Toxicology*, pp797–802.

Nguyen D.T., Orgill D.P., Murph G.F., (2009)

The Pathophysiologic Basis for Wound Healing and Cutaneous Regeneration. Biomaterials For Treating Skin Loss. Chapter 4. *Woodhead Publishing (UK/Europe) & CRC Press (US)*, Cambridge/Boca Raton. pp 25-57.

Nuengchamnon N., Boonpathanasak S. and Tepwitukij P., (2011)

Rapid screening of antioxidant compounds in homemade fruit fermented juice using an on line LC-ESI-MS/MS and DPPH assay. *Chiang Mai. J. Sci.*, 38: 430-438.

O'Brien R.D., (2004)

Fats and Oils. Second Ed., *CRC Press*, Washington.

Oliveira C., Amaro L.F.,Pinho O. and Ferreira I., (2010)

Anthocyanin and Anthocyanidin Degradation and Their Radical-Scavenging Activity. *J. Agric. Food Chem.*, 58 (16): 9006–9012.

OMS (Organisation mondiale de la Santé), (1993)

Research guidelines for the evaluation of the safety and efficacy of herbal medicines, Bureau régional de l'OMS pour le Pacifique occidental, Manille.

OMS, (1998)

Quality control for medicinal plant materials, OMS, Genève.

OMS, (1998)

Réglementation des médicaments à base de plantes La situation dans le monde Organisation mondiale de la Santé Genève. Document WHO/TRM/98.1. OMS, Genève.

OMS, (1999)

WHO monographs on selected medicinal plants, I. OMS, Genève.

OMS, (2000)

Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle. Document WHO/EDM/TRM/2000.1. OMS, Genève.

OMS, (2001)

Principes directeurs pour la formation de base et la sécurité dans la pratique de l'acupuncture. Genève, (OMS/EDM/TRM/99.1).

Orwa et al., (2009)

Argania spinosa (L.) Skeels Sapotaceae (argan). *Agroforestry Database* 4.0 fiche technique. p 02

Ouelmouhoub S., (2005)

Gestion multi-usage et conservation du patrimoine forestier: cas des subéraies du Parc national d'El Kala (Algérie). *CIHEAM-IAMM*. Montpellier, 0989-473X, issue 78.

Ouelmouhoub S., (2005)

Multiuse of management and conservation of the forestry inheritance. Institut Agronomique Méditerranéen de Montpellier. FAO.

Oulad-Ali A., Kirchner V., Lobstein A., Weniger B., Anton R., Guillaume D., Charrouf Z., (1996)

Structure elucidation of three triterpene glycosides from the trunk of *Argania spinosa*. *J. Nat. Prod.*, 59 (2): 193–195.

Paladini R.D., Takahashi K., Bravo N.S., Coulombe P. A., (1996)

Onset of re-epithelialization after skin injury correlates with a reorganization of keratin filaments in wound edge keratinocytes: defining a potential role for keratin 16. *The J. of cell.*, 132(3):381-397.

Pauly G., Henry F., Danoux L., Charrouf Z., (2006)

Cosmetic and/or dermopharmaceutical preparations containing leaf extract of the plant *Argania spinosa*. *Patent* .US 7,105,184 B2.

Paraschos S., Mitakou S., Skaltsounis A., (2012)

Chios gum mastic: A review of its biological activities. *Curr. Med. Chem.*, 19(14):2292-2302.

Park E.H., Chun M.J., (2001)

Wound healing activity of *Opuntia ficus indica*. *Fitoter.* pp 165-167.

Phillips K. M., Ruggio D. M., Toivo J. I., Swank M. A. and Simpkins A. H., (2002)

Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. *J. Food Com. Anal.*, 15:123-142.

Piironen V., Toivo J., Puupponen-Pimià R., Lampi A.A.M., (2003)

Plant sterols in vegetables, fruits and berries. *J. of the Sci. of Food and Agric.*, 83:330–337.

Priya K.S., Gnanamani A., Radhakrishnan N.O., Babu M., (2002)

Healing potential of *Daturaalba* on burn wound in albino rats. *J. Ethnopharmacology*, 83(3):193-199.

Qiao J., Li A., Jin, X., Wang J., (2011)

Mastic alleviates allergic inflammation in asthmatic model mice by inhibiting recruitment of eosinophils. *Amer. J. Res. Cell. Mol. Biol.*, 45 (1) : 95-100.

Quezel P. et Santa S., (1962)

Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, *Tome I. Centre Nationale de la Recherche Scientifique*, p 611.

Quinton J.-F., (2003)

Nouveaux Animaux de Compagnie : Petites Mammifères, *Elsevier Masson*, p 66.

Radi N., (2003)

L'arganier (arbre du sud-ouest Marocain, en péril, à protéger). *Thèse pour le diplôme d'Etat de Docteur en pharmacie*, Université de Nantes, France.

Rahmani M., (2005)

Composition chimique de l'huile d'argane «vierge». *Cahiers Agricultures*.

Ramadan F., Morsel J., (2003)

Oil cactus pear (*Opuntia ficus indica* L.). *Food Chemis.*, pp 339-345.

Reichl F. X., (2004)

Guide Pratique de Toxicologie. 1^{ière} éd., *De Boeck & Larcier*, Bruxelles, pp03-08.

Remila S., Atmani-Kilani D., Delemasure S., Connat J-L., Azib L., Richard T., Atmani D., (2015)

Antioxydant, cytoprotective, anti-inflammatoire et anticancer activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *Eu. J. of Integrative Medicine*7(3) : 274–286.

Ribarova F., Zanev R., Shishkov S., et Rigov N., (2003)

α -Tocopherol, fatty acids and their correlations in Bulgarian foodstuffs. *J. of Food Composition and Analysis*, 16: 659-667.

Rieger S., Zhao H., Martin P., Abe K., Lisse T.S., (2014)

The role of nuclear hormone receptors in cutaneous wound repair. *Cell biochemistry and function*, 33 (1): 1–13.

Rojas L. B., Quideau S., Pardon P., Charrouf Z., (2005)

Colorimetric evaluation of phenolic content and GC-MS characterization of phenolic composition of alimentary and cosmetic argan oil and press cake. *J. Agric. Food Chem.*, 53 : 9122–9127.

Sae-Kwang Ku, Soyoung Kwak, O-Jun Kwon, Jong-Sup Bae, (2014)

Hyperoside Inhibits High-Glucose-Induced Vascular Inflammation In Vitro and In Vivo. *Inflammation*, 37(5):1389-1400.

Samane S., Noel J., Charrouf Z., Amarouch H., Haddad P.S., (2006)

Insulin-sensitizing and anti-proliferative effects of *Argania spinosa* seed extracts. *Evid-based Compl. Alt. Med.*, 3(3): 317–327.

Sanogo R., (2006)

Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. *Développement, environnement et santé*.

Schaffer A., Mednche N., (2004)

Anatomie Physiologie Biologie. 2^{ième} éd., *Maloine*, pp154-158.

Schweizer M., (1999)

Docteur nopal le médecin du bon dieu. Paris, France, pp 6-9, 19, 75-76.

Sidibe O. M., (2006)

Etude d'*Argemone mexicana* L. dans le traitement traditionnel du paludisme non compliqué dans le village de missidouyou region de sikasso – mali. *Thèse de docteur en Pharmacie*. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie du Mali. p 87.

Seigue A., (1985)

La Forêt Circum méditerranéenne et ses Problèmes. *Maisonneuve & La rose*, pp 22- 27, pp 137- 139.

Senet P., Meaume S., Dubertret L., (2007)

Physiologie de la cicatrisation cutanée. *Dermatologie*, 98-040-A-10, p8.

Sharifi M.S., Hazell S.L., (2009).

Fractionation of mastic gum in relation to antimicrobial activity. *Pharmaceuticals*, 2 (1) :2-10.

Sharma O.P., (1993)

Plant Taxonomy. *Tata McGraw-Hill*, New Delhi. p262.

Simpson B., (2013)

Economic Botany: Plants in our World.3rd ed., *Content Technologies*.

Singer A.J., Clark R.A.F., (1999)

Cutaneous wound healing. *N. Engl. J. Med.*, 341:738-746.

Siriwardhana N., You-Jin, J., (2004)

Antioxidative effect of cactus pear fruit (*Opuntia ficus-indica*) extracts on lipid peroxidation inhibition in oils and emulsion model systems. *Eur. Food Res. and Technology*, 219 (4): 369–376.

Slinkard K., Singleton V.L., (1977)

Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *Amer. J. of Enology and Viticulture*, 28: 49–55.

Sosulski F.W., Imafidonx G.I., (1990)

Amino Acid Composition and Nitrogen-to-Protein Conversion Factors for Animal and Plant Foods. *J. Agric. Food Chem.*, 38:1351-1356.

Sönmez U., (1995)

Salvia napifolia Jacq. bitkisinden elde edilen yeni diterpenoit bileşiklerinin yapı araştırması. *Doktora Tezi*, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Srivastava P., Durgaparasad S., (2008)

Burn wound healing property of *Cocosnucifera*: an Appraisal. *Indian J. Pharmacol.*, 40 (4): 144-146.

Stadelmann W.K., Digenis A.G., Tobin G.R., (1998)

Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *Amer. J. surgery*. 176 (2A): 26–38.

Stevens A., Lowe J., (2006)

Histologie Humaine. 3^{ième} éd., *Elsevier*.

Strack D. and Wray V., (1992)

Anthocyanins. In J.B. Harborne (ed.), *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. Chapman & Hall, London, pp. 1–22.

Tamri P, Hemmati A, Boroujerdnia M.G., (2014)

Wound healing properties of quince seed mucilage: In vivo evaluation in rabbit full-thickness wound model. *Inter. J. Surgery*, 12: 843-847.

Tej Yaakoubi M., Dhaou S., (2007)

Extraction et analyse de la composition acide des huiles fixes de *Pistacia lentiscus* L. *Revue des régions arides*. 1:30-39.

Thangavelu M., Anbarasu K., Dharmalingam P., Thotapalli P.S., (2014)

Effect of growth factors and pro-inflammatory cytokines by the collagen biocomposite dressing material containing *Macrotyloma uniflorum* plant extract- In vivo wound healing. *Colloids and surfaces B. Biointerfaces*, 121: 178-188.

Tingshuang Y.I., Jun W., Avi G.G., Dan E.P., (2008)

Phylogenetics and reticulate evolution in *Pistacia* (Anacardiaceae). *Amer. J. Botany*, 95: 241–251.

Toporcer T., Grendel T., Vidinsky B., Gal. P., Sabo J., Hudak R., (2006)

Mechanical properties of skin wounds after *Atropa belladonna* application in rats. *J. Metals, Materials*. 16(1): 25-29.

Torkelson A.R., (1996)

The Cross Name Index to Medicinal Plants. *CRC Press*, p 1160.

Trabelsi H., Cherif O.A., Sakouhi F., Villeneuve P., Renaud J., Barouh N., Boukhchina S., Mayer P., (2012)

Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. *Food chemistry*, 131(2):434-440.

Triantafyllou A., Bikineyeva A., Dikalova A., Nazarewicz R., Lerakis S., Dikalov S., (2011)

Anti-inflammatory activity of Chios mastic gum is associated with inhibition of TNF-alpha induced oxidative stress. *Nutr. J.*, 10 (1), article 64.

Trindade Medeiros M.F., Da Silva P.S., De Albuquerque U.P., (2011)

Quantification in ethnobotanical research: an overview of indices used from 1995 to 2009. *Sitientibus série Ciências Biológicas*. 11, (2) : 211–230.

Turchetti B., Pinelli P., Buzzini P., Romani A., Heimler D., Franconi F., Martini A., (2005)

In vitro antimycotic activity of some plant extracts towards yeast and yeast-like strains. *Phytother. Res.*, 19 (1): 44-9.

Ucciani E., (1995)

Nouveau Dictionnaire des Huiles Végétales (Compositions en acides gras.). *Lavoisier. Tec. and Doc.* Paris.

Vaya J., Mahmood S., (2006)

Flavonoid Content in leaf Extracts of The fig (*Ficus carica* L.), Carob (*Ceratonia siliqua* L.) and Pistachio (*Pistacia lentiscus* L.). *Biofactors.*, 28(3-4):169-75.

Venkatramesh M., karunandaa cunter A., gunter B.S., Boddupalli S., Kishore G.M., (2002)

Phytochemistry, 62:3946.

Viala A. et Botta A., (2007)

Toxicologie, 2^{ième} éd., *TEC & DOC .Ed. Lavoisier*, Paris, pp 03-10.

Vigué M., (2004)

Atlas d'Anatomie Humaine, *Deslris*, p 99

Wagner H., Bladt S., Zgainski E.M., (1984)

Plant Drug Analysis, *Springer-Verlag*, Berlin Heidelberg.

Wagner H. et Ulrich-Merzenich G., (2009)

Synergy Research: An Approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomed.*, 16: 97–110.

Wang R., Lechtenberg M., Sendker J., Petereit F., Deters A, Hensel A., (2013)

Wound-healing plants from TCM: in vitro investigations on selected TCM plants and their influence on human dermal fibroblasts and keratinocytes. *Fitoter.*, 84:308-317.

Wheater P.R., Burkitt H.G., Daniels V.G., Young B., Heath J.W., (1995)
Histology Fonctionnelle, 3^{ième} éd., *Arnette*, pp 116-119.

WHO(World Health Organisation), (1993)
Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. Genève.

WHO, (2002)
WHO traditional medicine strategy 2002-2005, 1. Genève.

Xianju H., Qin L., Huige L., Lianjun G., (2009)
Neuroprotective and antioxidative effect of cactus polysaccharides in vivo and in vitro. *Cell. and Molecular Neurobiology*, 29:1211.

Xun L., Dong W., Si-Yuan W., Xian-Sheng M., Wen-Jie Z., Xi-Xiang Y., and Ting-Guo K., LC., (2010)
Determination and Pharmacokinetic Study of Hyperoside in Rat Plasma after Intravenous Administration, The Pharmaceutical Society of Japan, *YAKUNGA KU ZASSHI*, 130(6) :873-879.

Yahya M., (1992)
La Thérapeutique par les Plantes Communes en Algérie, Ain Taya, p59.

Yang C. S., Landau J. M., Huang M. T., & Newmark H. L., (2001)
Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual Rev. of Nutr.*, 21 :381-406.

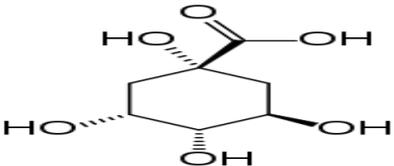
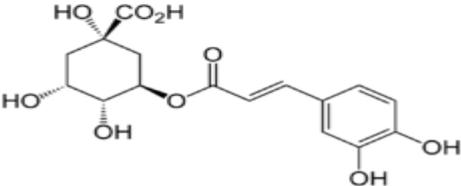
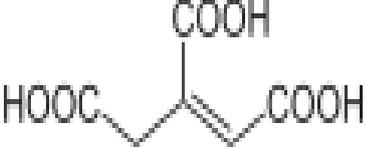
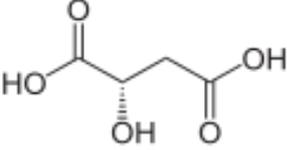
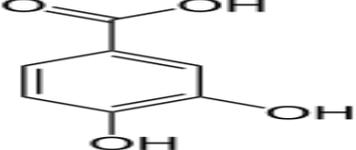
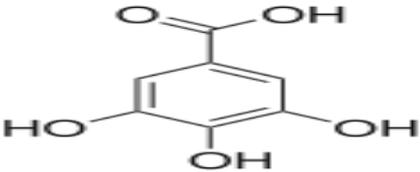
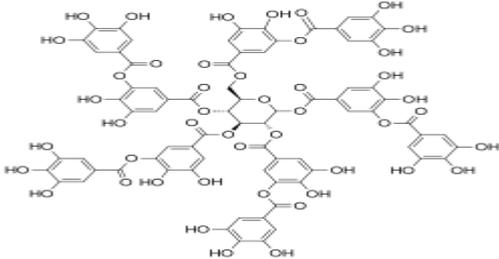
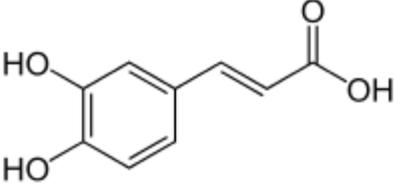
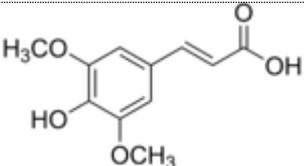
Yong O.Y., Salimon J., (2006)
Characteristics of *Elateriospermum tapos* seed oil as a new source of oil seed. *Ind. Crop. Prod.*, 24:146–151.

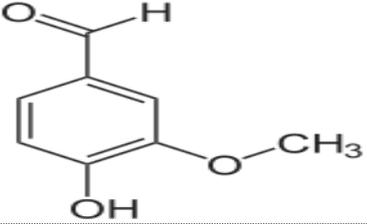
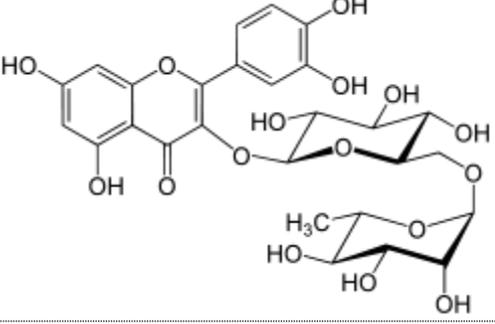
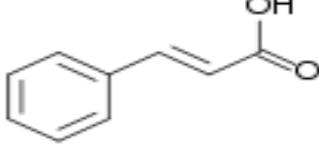
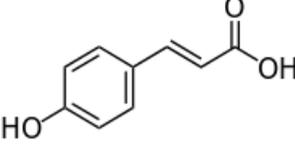
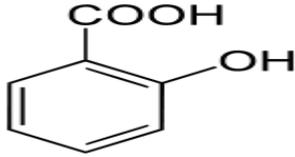
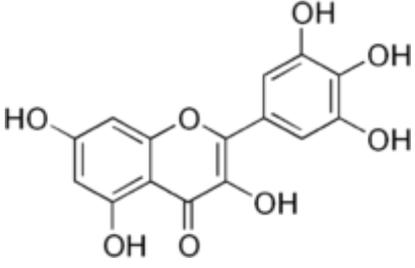
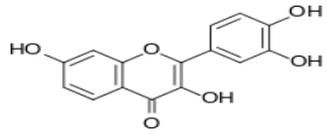
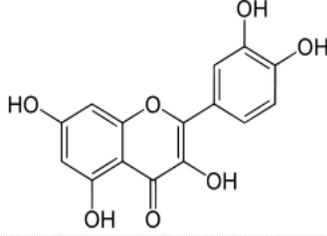
Yousfi M., Bombarda I., Hamia C., Djeridane A., Stocker P., Gaydou E., (2009)
Fatty acid, triglyceride and tocopherol composition of Algerian Argan (*Argania spinosa*) fruit seed lipids. *Mediterr. J. Nutr. Metab.*, 2:197-203.

Zaoui A., Cerrah Y., Mahassini N., Alauoi K., Amarouch H., Hassar M., (2002)
Acute and Chronic Toxicity of *Nigella sativa* Fixed Oil. *Phytomed.*, 9: 69 -74.

Zhang Z., Sethiel M.S., Weizhi S., Sentai L. and Yuxiao Z., (2013)
Hyperoside Downregulates the Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE) and Promotes Proliferation in ECV304 Cells via the c-Jun N-Terminal Kinases (JNK) Pathway Following Stimulation by Advanced Glycation End-Products In Vitro. *Int. J. Mol. Sci.*, 14 : 22697-22707.

ANNEXES

Nom	Formule brute	Poids moléculaireg/mol	Structure chimique
Acide quinique	$C_7H_{12}O_6$	192,166	
Acide chlorogénique, (<i>trans</i> -5-O-caféylquinique)	$C_{16}H_{18}O_9$	354,308	
Acide aconitique	$C_6H_6O_6$	174,108	
Acide malique	$C_4H_6O_5$	134,087	
Acide protocatéchique	$C_7H_6O_4$	154,120	
Acide gallique	$C_7H_6O_5$	170,119	
Acide tannique	$C_{76}H_{52}O_{46}$	1 701,198	
Acide caféique dérivé de l'acide cinnamique	$C_9H_8O_4$	180,157	
Acide sinapinique	$C_{11}H_{12}O_5$	224,21	

Vanilline	$C_8H_8O_3$	152,147	
Rutoside	$C_{27}H_{30}O_{16}$	610,517	
Acide cinnamique (non phénolique)	$C_9H_8O_2$	141,27	
Acide p-coumarique	$C_9H_8O_3$	164,158	
Acide salicylique	$C_7H_6O_3$	138,120	
Myricétine	$C_{15}H_{10}O_8$	318,235	
Fiséatine	$C_{15}H_{10}O_6$	286,236	
Quercétine	$C_{15}H_{10}O_7$	302,235	

Naringinine	$C_{15}H_{12}O_5$	272,252					
Lutéine	$C_{40}H_{56}O_2$	568,871					
Kaempférol	$C_{15}H_{10}O_6$	286,236					
Apigénine	$C_{15}H_{10}O_5$	270,236					
Rhamnétine	$C_{16}H_{12}O_7$	316,262					
Chrysin	$C_{15}H_{10}O_4$	254,237					
Isorhamnétine	$C_{16}H_{12}O_7$	316,262					
	acide oléique		acide linoléique		acide linolénique		
	stigmasta-8,22-dièn-3β-ol		schotténol		spinastérol		stigmasta-7,24(28)-dièn-3β-ol
	R''	CH_3	O	R'	R'	R''	
α -tocophérol	β -tocophérol	γ -tocophérol	δ -tocophérol	CH_3	CH_3	H	
				H	H	CH_3	
				H	H	H	

PUBLICATIONS

Acute toxicity of *Opuntia ficus indica* and *Pistacia lentiscus* seed oils in mice

A. Boukeloua^{a,e}, A. Belkhiri^b, Z. Djerrou^a, L. Bahri^c, N. Boulebda^d, Y. Hamdi Pacha^a.

^aDepartement of Veterinary Sciences, Pharmaco toxicology Laboratory, Mentouri Constantine University, Algeria. ^bDepartement of Pharmacy, Phyto pharmacognosy and Botany Laboratory, Mentouri Constantine University, Algeria. ^cFaculty of Fundamental Sciences, Nature and Life, Jijel University, Algeria. ^dDepartment of pharmacy, faculty of medicine, Mentouri Constantine University, Algeria.

^eE-mail:ahmedcte@yahoo.fr

Abstract

The objective of this study was to investigate the toxicity of the fixed oil of *Opuntia ficus indica* and *Pistacia lentiscus* L. seeds in mice through determination of LD₅₀ values, and also to present physicochemical characterization of the fixed oil of these oils.

The acute toxicity of *Opuntia ficus indica* L. and *Pistacia lentiscus* L. fixed oil were investigated in mice using the method of Kabba and Berhens. LD₅₀ values obtained by single doses, orally and intraperitoneally administered in mice, were respectively $43 \pm 0,8$;[40.7-45.4] ml/kg body wt. p.o. and $2.72 \pm 0,1$;[2.52–2.92] ml/kg body wt. i.p. for *Opuntia ficus indica* ; and 37 ± 1 ;[34.4 – 39.8] ml/kg body wt. p.o. and $2.52 \pm 0,2$;[2.22 – 2.81] ml/kg body wt. i.p. about *Pistacia lentiscus* .

The fixed oil of *Pistacia lentiscus* and *Opuntia ficus indica* seeds were extracted and analyzed for its chemical and physical properties such as acid value, free fatty acid percentage (% FFA), iodine index, and saponification value as well as refractive index and density. The yields of seed oil were respectively calculated as 20.25% and 10.41%.

The acid and free fatty acid values indicated that the oil has a low acidity. The low toxicity of *Opuntia ficus indica* L. and *Pistacia lentiscus* L. fixed oil, evidenced by high LD₅₀ values, suggests a wide margin of safety for therapeutic doses of *Opuntia ficus indica* and *Pistacia lentiscus* fixed oil .

Key words: *Opuntia ficus indica* L. ; *Pistacia lentiscus* L. ; seed oil ; acute toxicity.

Introduction

Pistacia lentiscus (L.), a member of the Anacardiaceae family, typifies the Mediterranean regions and it is commonly dispersed in Algeria over the entire littoral (More and White, 2005; Seigue, 1985).

The majority of the traditional products is the virgin fatty oil from *Pistacia lentiscus* seeds. The *Pistacia lentiscus* seed oil composition and its chemical characteristics were investigated. The seed oil composition of *Pistacia lentiscus* fruits was studied during the maturation period, the fruit are globulous berries first red then black at maturity (Yahya, 1992 ; Iserin, 2001). All the authors have agreed that *Pistacia lentiscus* seed oil was rich in polyunsaturated fatty acids and vitamins and may potentially be included in animal and human diets. Recently, the effect of virgin fatty oil of Algerian *Pistacia lentiscus* seed on experimental burn wound's healing in rabbits was studied (Djerrou et al., 2010).

Opuntia ficus indica (L.), known as prickly pear, a member of the *Cactaceae* family, is an arid and semi-arid countries plant (Getachew 2005; Virginie, 2004). This cactus reaches up to 2 m height and has a CAM physiology with very high water-use efficiency. It is planted for fruit consumption and also as an ornamental, for wind protection fencing, land reclamation and

rehabilitation, and erosion control. Flowers of this plant are pollinated by insects. Seeds are dispersed by birds, feral pigs and lizards that feed upon fruits. Seeds from fruits and scats germinate after long rainfall and warm temperatures (21°C) (Montserrat Vilà, 2009). *O. ficus indica* produces edible and nutritive fruits whose composition depends on the variety, the maturation state and the environmental conditions (Montserrat Vilà, 2009). In traditional medicine, prickly pear fruits have been used for their hypoglycemic and hypolipidemic actions. Some authors have attributed these beneficial effects to high contents of fibers in these fruits (Virginie, 2004). *Opuntia ficus-indica* (L.) is used in other regions as laxative, anti-inflammatory, or against diarrhoea (Bullitta, 2007). It is also to be antacid, astringent, antidermatotic, emollient, antiseptic, vulnerary, analgesic, expectorant, antiviral, sedative, antioxidant (Lamjed, 2010; Bullitta, 2007).

The current study was undertaken to highlight certain information, including physico-chemical aspects and safety of *P.lentiscus* and *O.f.indica* seed oils.

Material and methods

Acquisition of plant material

The *Opuntia ficus indica* L. plant seeds were harvested (August 2009) in Constantine; Algeria, however *Pistacia lentiscus* L. plant seeds were harvested (November 2008) in Skikda; Algeria. A voucher specimen of both plants has been deposited at the Pharmacognosy and Botany Laboratory, Mentouri Constantine University, Algeria.

Extraction

The *Opuntia ficus indica* L. and *Pistacia lentiscus* L. seeds were powdered mechanically. The extracts were obtained by Soxhlet extraction of powdered seeds in (3 x 1.5) liters of hexane thrice in 18 hours. The solvent was removed from the extract under reduced pressure.

Experimental animals

-1-Acute toxicity: Acute toxicity studies were carried out in *Mus musculus* mice from the Pharmacy department, 8–10 weeks old and weighing 20–30 g each, using a single dose, administered orally or intraperitoneally. The animals were distributed in plastic cages with free access to water and food. It consists of a standard mixture of corn, barley, soya, added multivitamin complex and packaged in the form of granulated

a- *Opuntia ficus indica* L. fixed oil acute toxicity:

Seventy mice, divided into 7 groups, were designed for study of acute toxicity via the oral route. Each group of 10 mice (5 males and 5 females) received, respectively, a single oral dose of 10, 20, 30, 40, 50, 60 or 70 ml/kg body weight of *Opuntia ficus indica* L. fixed oil. Seventy other mice divided into 7 groups were used to study toxicity intraperitoneally. Each group received, respectively, a single dose of 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 or 6 ml/kg body weight of *Opuntia ficus indica* L. fixed oil.

b- *Pistacia lentiscus* L. fixed oil acute toxicity:

Sixty mice, divided into 6 groups, were designed for study of acute toxicity via the oral route. Each group of 10 mice (5 males and 5 females) received, respectively, a single oral dose of 10, 20, 30, 40, 50 or 60 ml/kg body weight of *Pistacia lentiscus* L. fixed oil. Sixty other mice divided into 6 groups were used to study toxicity intraperitoneally. Each group received, respectively, a single dose of 0.5, 1, 2, 3, 4 or 5 ml/kg body weight of *Pistacia lentiscus* L. fixed oil.

After administration of the plants oil, the mice were observed for gross effects and mortality on the first day every 60 minutes during the first 08 hours, and every day once at the same

time for a period of 14 days. Post- mortem examinations were carried out on the dead animals.

Results

Table 1 presents the chemical composition of *Pistacia* seeds. *Pistacia* seeds contained 11.6% moisture. We found that the total oil recovered from seeds accounted for 202.5 g/kg, this value being the mean of three replicated extractions. This amount is lower than those reported in previous works where the seed oil content of several species of *Pistacia lentiscus* fruits varied between 312 and 328 g/kg (Charef et al., 2008).

The ash percentage was 3.23%. *Pistacia* seeds also contained significant amounts of crude fiber 24.7%. The shape of *Pistacia lentiscus* berries is spherical with 3mm average diameter and 3g average 100-seed weight.

Table 1. Chemical Composition of the *Pistacia lentiscus* and *Opuntia ficus indica* Seeds oil

Component	Content (mg/100 g dry matter)	
	<i>Pistacia lentiscus</i>	<i>Opuntia ficus indica</i>
Moisture content, %	11.6±0.1	6.2±0.1
oil content, % dry matter	20.25±0.10	10.45±0.10
Ash, % dry matter	3.23±0.02	1.46±0.02

Table 2. Physicochemical characteristics of *Pistacia lentiscus* Seed Oil (Mean values of three replicates ± standard deviation).

Properties	<i>Pistacia lentiscus</i> Mean	<i>Opuntia ficus indica</i> Mean
Acid value	2.27±0.03	1.82±0.01
Iodine value (g of I ₂ /100 g of oil)	87.38±0.31	93.45±0.22
Saponification value (mg of KOH/g of oil)	193.30±0.05	177.10±0.05
Peroxide value (meq O ₂ /kg of oil)		
Density (20°)	1.12±0.06	2.04±0.05
Refractive index (20°)	0.918±0.02	0.909±0.01
Unsaponifiable matter %	1.465±0.03	1.476±0.01
Physical state at room temperature	0.87±0.02	/
Oil color	Liquid Deep green	Liquid yellow brown

Pistacia seed oil shows a high iodine value (87.377) due to its high content of unsaturated fatty acids. This value is lower than that of other seed oils such as corn oil (103–128), cottonseed oil (99–119), and mustard seed oil (92–125) (Yong and Salimon, 2006). The high iodine value shows that the seed oil upholds the good qualities of edible oil (Yong and Salimon, 2006). The saponification value, determined as 193.3, is comparable with that of

safflower, sunflower, and corn oil (O'Brien, 2004) for which the average range of saponification value is 191–250. The density and refractive index are comparable to values reported by (Ennouri et al., 2005).

The effects of oral and intraperitoneal single doses of plants seed fixed oils on mortality and LD50 values in *Mus Msculus* mice are summarized in Table 3. LD50 values were determined using the method of Kabba and Berhens (Adjoungoua et al, 2008) to calculate the LD50.

LD₅₀: dose giving 50% of deaths.

DL₁₀₀: dose giving 100% of deaths.

a: average deaths between two successive doses.

b: difference between two successive doses.

n: Average of animals used.

$$DL_{50} = DL_{100} - \frac{\sum a \times b}{n}$$

All doses, orally and intraperitoneally administered, caused immediate agitation and behavioral perturbations with temporary writhing, followed by a quiet attitude period and sedation. Generally, diarrhea was observed and the animals died 12 hours after the administration of fixed oil. Autopsied dead animals showed congested lungs and hearts stopped in diastole. The surviving animals quickly recovered their normal activity and growth, after a period ranging from 4 to 8 days, depending on the dose and mode of administration.

Table 3. Mortality percentage and LD50 values in *Opuntia ficus indica* and *Pistacia lentiscus* -treated mice with oral or intraperitoneal single doses.

Oral administration	<i>Opuntia ficus indica</i>	Dose (ml/kg body wt.)	10	20	30	40	50	60	70
		Mortality (%)	0	10	20	40	70	90	100
		LD ₅₀ : 43 ± 0,8 ; CI: [40.7- 45.4] ml/kg body wt.							
	<i>Pistacia lentiscus</i>	Dose (ml/kg body wt.)	10	20	30	40	50	60	
		Mortality (%)	0	10	30	60	80	100	
		LD ₅₀ : 37 ± 1 ; CI: [34.4 – 39.8] ml/kg body wt.							
Intraperitoneal administration	<i>Opuntia ficus indica</i>	Dose (ml/kg body wt.)	0.5	1	2	3	4	5	6
		Mortality (%)	0	10	40	60	80	90	100
		LD ₅₀ : 2.72 ± 0,1 ; CI: [2.52–2.92] ml/kg body wt.							
	<i>Pistacia lentiscus</i>	Dose (ml/kg body wt.)	0.5	1	2	3	4	5	
		Mortality (%)	0	10	50	60	80	100	
		LD ₅₀ : 2.52 ± 0,2 ; CI: [2.22 – 2.81] ml/kg body wt.							

LD₅₀ – lethal dose 50; CI – confidence intervals; values are expressed as mean ± SD.

LD₅₀ was determined using the method of Kabba and BERHENS (Adjoungoua et al, 2008).

Discussion

In the present study, the botanical data collected are comparable to those described in the literature (Chiej, 1982; Hichey and King, 1988; Baba, 1999). In addition a sample of a branch of leaves of *P. lentiscus* with ripe fruit of the plant have been formally identified as those of *P. lentiscus* L., *Anacardiaceae* family.

Density depends on temperature and chemical composition of the oil. These tell us about the nature of the component fatty acids, including the length of the chain, the presence of unsaturation and functionality on the carbon chain. The density value shown in Table 2, measured for mastic oil is from 0.918±0.02 (n = 3) for *P. lentiscus* and 0.909±0.01 for *O. f. indica*. These values are in the same order as those found with certain fatty oils reported by Karleskind (1992); Olive oil has a density between 0.910 and 0.916, Palm oil density ranging from 0.895 to 0.900, Avocado oil, density of between 0.910 and 0.920.

But some vegetable oils, like Almond or Argan, have lower densities, respectively equal to 0.906 and 0.900 (Farines et al. 1984; Maurin et al, 1992; Boudjira, 2002).

The refractive index depends, such as density, on chemical composition of the oil and temperature. It increases with the unsaturation and the presence of the fatty chains of secondary functions. The refractive index measured for the samples of our oils are from 1.465±0.03 (n = 3) for *P. lentiscus* and 1.476±0.01 for *O. f. indica*. These values are close to those reported by Karleskind (1992) on olive oil, palm oil, and avocado, which are respectively (1.468 to 1.470), (1.453 to 1.458) and (1.465 to 1.474).

The acid provides information on the rate of free fatty acids existing in the oil. The values of the acid for the samples of *P. lentiscus* and *O. f. indica* oils are respectively 2.27±0.03 and 1.82±0.01 mg KOH / g (n = 3).

Charef postpones acid values of 7.7 ± 0.3 and 24 ± 0.5 mg KOH / g for *P. lentiscus* oil, respectively extracted from the black and red berries (Charef et al., 2008). The second value, relatively high compared to the value of our sample (consisting mainly of fruit and ripe black) reported by Charef for berries red, not yet ripe, can be explained by the fact that these berries contain rate of free fatty acids higher compared to ripe black berries. The results specific to the saponification of the oils as they were indicated in Table 1, are respectively: 193.30 ± 0.05 and 177.10 ± 0.05 (n = 3) for *P. lentiscus* and *O. f. indica* oils. The value seems relatively high to that obtained by Charef (2008), namely a saponification number of about 147.8 ± 0.2 for the oil extracted from the black fruit of *P. lentiscus*, while for the red fruit, this index is 154.6 ± 0.1 . The value of the saponification of the sample of mastic oil is much more consistent with values reported for other oils. According to Karleskind (1992), vegetable oils of olive, palm and avocado, respectively saponification indices from 184 to 196, 190 to 205 and from 177 to 198 (Karleskind A., 1992).

Saponification value, determined as 177.10 ± 0.05 for *O. f. indica* oil, is lower than that of safflower, sunflower, and corn oil, but it is so closed to that reported by Mannoubi et al. (2009) about *O.f.indica* oil.

P. lentiscus and *O. f. indica* oils provide relatively high iodine values (Table 1) due to its high content of unsaturated fatty acids (Table 4). These value is comparable with that of other seed oils such as corn oil (103–128), cotton seed oil (99–119), and mustard seed oil (92–125) (Mannoubi and al. 2009).

The peroxide values of *P. lentiscus* and *O. f. indica* seed oils were respectively evaluated as 1.12 ± 0.06 and 2.04 ± 0.05 meq/O², showing the relative stability to oxidation of these oils.

The high iodine value and oxidative stability show that the seed oils uphold the good qualities of edible oil (Mannoubi et al. 2009).

This investigation deals also with the qualitative and quantitative study of toxic phenomena and their occurrence related to time after a single dose by two routes of administration of the fixed oil of *P. lentiscus* L and *O. f. indica* seeds in mice.

This study may give some indication of the expected effects of acute overdosage in man and may be useful for the design of toxicity studies requiring repeated dosing on the relevant animal species.

The single-dose toxicity test should be conducted in such a way that signs of acute-toxicity and death are revealed. Animals should be observed at regular intervals and all signs of toxicity and the time of their first occurrence and their severity, duration and progression recorded. The time and mode of any death should be documented.

For the acute toxicity studies, no death of mice was recorded in the control groups. The effects of oral single doses of *P. lentiscus* and *O. f. indica* seed fixed oils on mortality and LD₅₀ values in *Mus musculus* mice are summarized in Table 3.

LD₅₀ values were determined using the method of Kabba and Berhens (Adjoungoua et al, 2008). After oral and intraperitoneal single administration of samples seed oils disturbance and behavioral perturbations followed by diarrhea were observed.

The surviving animals quickly recovered their normal activity and growth, after a period ranging from 4 to 10 days, depending on the dose and mode of administration.

The current study has shown a low toxicity of *Opuntia ficus indica* and *Pistacia lentiscus* fixed oil. The high values of oral and intraperitoneal lethal doses of both *O. f. indica* fixed oil

(LD50 value = 43 ml/kg body wt., p.o. ; LD50 value = 2.72 ml/kg body wt., i.p.); and *P. lentiscus* fixed oil (LD50 value = 37 ml/kg body wt., p.o. ; LD50 value = 2.52 ml/kg body wt., i.p.) show their low acute toxicity.

Conclusion

In the present study, some physico-chemical parameters of *P. lentiscus* and *O. f. indica* oils were investigated. The two samples seed oils have a specific density and refractive index very close to the results given by other vegetable oils. The acidity and acid are acceptable, compared with other values given by other authors for the same seed oils. The saponification can reveal by TLC the presence of phytosterols, normal constituents of vegetable oils.

The study has shown also a low toxicity of *O. f. indica* and *P. Lentiscus* fixed oil. The high values of oral and intraperitoneal lethal doses of both *Opuntia ficus indica* fixed oil (LD₅₀ value = 43 ml/kg body wt., p.o. ; LD₅₀ value = 2.72 ml/kg body wt., i.p.); and *Pistacia lentiscus* fixed oil (LD₅₀ value = 37 ml/kg body wt., p.o. ; LD₅₀ value = 2.52 ml/kg body wt., i.p.) show their low acute toxicity.

Recommendations can also be made to extend the safety testing to measure the subacute and chronic toxicity, teratogenesis, mutagenesis and carcinogenesis. Also on chemically and pharmacologically, the plant remains little studied.

References

Abbas M., Boudriche D. (2007). Identification et Extraction des Molécules Bioactives de *Pistacia lentiscus* L. et Détermination de Quelques Effets Pharmacologiques, Centre de recherche et de developpement, Saidal, Alger.

Adjoungou A.L., Koffi A., Traore F. and Diafouka F. (2008) Etude Phytochimique et Toxicologique de *Ziziphus mauritiana*, (Rhamnaceae), Une Plante Anti-hypertensive. *Med. Pharm. Afr*, 21:73-82.

Ali-Shtayeh M.S., Abu Ghdeib S.I. (1999). Antifungal Activity of Plant Extracts Against Dermatophytes, *Mycoses* ;42(11-12):665-672.

Al-Said M.S., Ageel A.M., Parmar N.S., Tariq M. (1986). Evaluation of mastic, a Crude Drug obtained from *Pistacia lentiscus* for Gastric and Duodenal Anti-ulcer Activity, *Ethnopharmacol*;15(3):271-278.

Baba A. (1999). Encyclopédie des Plantes Utiles, Flores d'Algérie et du Magreb, Substances végétales d'Afrique, d'orient et d'occident, Edas édition , Rouiba, Algérie. P 156.

Barazani O.Z., Dudai N., and A. Golan-Goldhirs, (2003). Comparaison of Mediterranean *Pistacia lentiscus* Genotype by Random Amplified Polymorphic DNA, Chemical, and Morphological Analyses, *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 29, No. 8.

Baudière A., Monange Y., Gauquelin Th. (2002). Le Monde des Plantes; Intermédiaire des Botanistes, Toulouse; N° 477, pp2 – 5.

Baudoux D. (2003). L'aromathérapie : Se soigner par les Huiles Essentielles, édition Amyris, pp 145-146.

Bullitta S. Æ Piluzza G. Æ Viegi L. (2007). Plant resources used for traditional ethnoveterinary phytotherapy in Sardinia (Italy) *Genet Resour Crop Evol*, 54:1447–1464.

Charef M., Yousfi M., Saidi M., Stocker P. (2008). Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria, Springerlink.

Charef M., Yousfi M., Saidi M., Stocker P., (2008) Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria, Springerlink.

Chiej R. (1982). Les Plantes Médicinales, édition Solar, Paris, France p 235.

Farines M., Soulier J., Charrouf M., Cave A. (1984). Etude de l'Huile de Graines d'*Argania spinosa* L. Sapotaceae, Stérol alcools Triterpéniques et Méthyl stérol de l'Huile d'Argan, *Revue Française des Corps Gras*, 11 : 443-448.

Farines M., Soulier J., Charrouf M., Soulier R. (1984). Etude de l'Huile de Graines d'*Argania spinosa* L. Sapotaceae, la Fraction Glycéridique, *Revue française des corps gras*, 7/8 : 283-286.

Getachew Addis, Kelbessa Urga and Dawit Dikasso¹ (2005). Ethnobotanical Study of Edible Wild Plants. In Some Selected Districts of Ethiopia. *Human Ecology*, Vol. 33.

Grosjean N., (2001). L'Aromathérapie, Santé et bien-être par les Huiles Essentielles, Albin Michel, p99.

Hickey M., King C. (1988). 100 Families of Flowering plants 2^{ième} édition, Cambridge University (botanic garden), p291.

Iserin P. (2001). Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins 2^{ième} édition, Ed Larousse/VUEF, pp13-16, p 250, pp291-296.

Janakat S, Al-Merie H. (2002) Evaluation of Hepatoprotective Effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*, *Ethnopharmacol* ; 83(1-2):135-138. *PubMed PMID: 12413719*.

Karleskind A., (1992). Manuel des Corps Gras, Tech. & Doc. Lavoisier, tome (I-II), p768, p1571.

Mannoubi, S. Barrek, T. Skanji, H. Casabianca and H. Zarrouk (2009). Characterization of *Opuntia ficus indica* seed oil from Tunisia. *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 45, No. 5.

- Maurin R., (1992). L'Huile d'Argan *Argania spionsa* L. Skeels Sapotaceae, *Revue Française des Corps Gras*, 5-6 : 139-145.
- Maurin R., Fellat Zarrouck K., Ksir M. (1992). Positional Analysis and Determination of Triacylglycérol Structure of *Argania spionsa* Seed Oil, *Journal of the American Oil Chemist's Society* 69(2) :140-145.
- Mitcheh A. (1986). Tous les Arbres de nos Forêts, édition Bordas, p 319.
- Montserrat Vilà (2009). *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, prickly-pear cactus (Cactaceae, Magnoliophyta). In Species Accounts of 100 of the Most Invasive Alien Species in Europe. DAISIE, Handbook of Alien Species in Europe, 269.
- Seigue A., (1985). La Forêt Circumméditerranéenne et ses Problèmes, Maisonneuve & Larose, pp 22- 27, pp 137 – 139.
- Virginie Aires, Sylvie Adote, Aziz Hichami, Kabirou Moutairou, Es-Saddik E. Boustani and Naim A. Khan (2003). Modulation of intracellular calcium concentrations and T cell activation by prickly pear polyphenols. *Molecular and Cellular Biochemistry* 260: 103–110.
- Yahia M. (1992). La Thérapeutique par les Plantes Communes en Algérie, Ain Taya, p59.
- Zaoui A., Cerrah Y., Mahassini N., Alauoi K., Amarouch H., Hassar M., (2002). Acute and Chronic Toxicity of *Nigella sativa* Fixed Oil, *Phytomedicine* 9: 69 -74.



Received: 09 March 2016
Accepted: 06 April 2016
First Published: 06 May 2016

*Corresponding author: Ahmed Boukeloua, Faculte des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie, Department of Biology, Université d'Oran El Bouaghi, Oum Bouaghi 04000, Algeria
E-mail: ahmedcte@yahoo.fr

Reviewing editor:
Sabrina Sabatini, Sapienza University of Rome, Italy

Additional information is available at the end of the article

PLANT SCIENCES | RESEARCH ARTICLE

Chemical profiling and total thickness-excised wound-healing activity of *Pistacia lentiscus* L. fruits growing in Algeria

Ahmed Boukeloua^{1*}, Abdelmalik Belkhir², Mustafa Abdullah Yilmaz³ and Hamdi Temel⁴

Abstract: The aim of this study was to determine the chemical characterization and to assess full-thickness-excised wound-healing activity of the oil of *Pistacia lentiscus* L. fruits grown in Algeria. The fatty acid composition of *P. lentiscus* L. extracts were analyzed by GC-MS and their total protein amounts were determined by elemental analysis. Total thickness-excised wound-healing activity of hexane extract was carried out on rabbits; comparing oil and wax effects. The results showed that *P. lentiscus* L. fruits contain considerable levels of oil and protein. Additionally, oleic (46.91 ± 1.03 , 48.34 ± 0.07) in hexane and cold pressure extracts, respectively, palmitic (25.75 ± 0.82 , 25.44 ± 0.65) and linoleic (20.59 ± 0.03 , 20.27 ± 0.81) acids were the major fatty acids. Wound-healing activity was significantly higher in *P. lentiscus* L. fatty oil compared to the wax, therefore, fats refining is wildly recommended.

Subjects: Agriculture; Analysis & Pharmaceutical Quality; Clinical Trials - Pharmaceutical Science; Dermatopathology; Food Chemistry; Laboratory Animal Science; Natural History; Natural Products; Nutrition; Pharmaceutical Laboratory

Keywords: *Pistacia lentiscus* L.; GC-MS; fatty acids; total protein; excised wound healing

ABOUT THE AUTHORS

Ahmed Boukeloua, pharmacist, is a member of Pharmacology and Toxicology Laboratory from Constantine University, in Algeria. His research areas are plant metabolomics and wound-healing activities. He has published five papers in reputed journals.

Mustafa Abdullah Yilmaz is an assistant professor in charge of the mass spectrometry and chromatography unit in Dicle University Science and Technology Application and Research Center. His research areas are mass spectrometry and chromatography (LC-MS/MS, GC-MS, LC-MS IT-TOF), and analytical method validation. He has published 10 papers in reputed journals.

Hamdi Temel, professor, is Dean of the Faculty of Pharmacy and Director of Science and Technology Application and Research Center, in Dicle University, Turkey. His research areas are synthesis and characterization of active compounds, antioxidant studies. He has published 90 papers in reputed journals.

PUBLIC INTEREST STATEMENT

Pistacia lentiscus L. (Anacardiaceae), known locally as “ed’drew”, is an evergreen shrubby tree 1–3 m high with edible fruit containing a fixed oil, used in traditional medicine, specially at eastern part of North Africa (Algeria, Tunisia), for its wound-healing effect and as remedy against respiratory allergy ailments. Separation of wax from this oil enhances wound-healing activity. Cutaneous and oral toxicities evaluations of *P. lentiscus* oil in animal (mouse, rabbit) concluded with the absence of short time toxicities at used concentrations.

In this study, *P. lentiscus* oil has shown promising healing properties, by reducing the inflammatory phase, stimulation of wound contraction, and reducing the epithelization period.

The study concludes that *P. lentiscus* fatty oil is effective for healing wounds. It is tolerable in the short term, but may cause skin sensitization after prolonged use.

1. Introduction

Medicinal plants have played an important role in health care for centuries. More than 80% of the world's population rely on traditional medicines to treat various skin disorders, including wound infections (Priya, Gnanamani, Radhakrishnan, & Babu, 2002; World Health Organization, 2002). Wound healing is a physiologic process involved to repair damaged tissues, including hemostasis, inflammation, proliferation, and maturation (Enoch & Leaper, 2005; Nguyen, Orgill, & Murphy, 2009; Rieger, Zhao, Martin, Abe, & Lisse, 2014; Stadelmann, Digenis, & Tobin, 1998; Toporcer et al., 2006). Diabetes, infection, and metabolic deficiencies are the main factors that contribute to nonhealing wounds (Lazarus et al., 1994). The care of the wounds prevents infection and enhances wound healing via disinfection, treatment, and protection from reinjury (Alizadeh, Ahmadi, Mohammadzadeh, Paknejad, & Mohagheghi, 2009). Several drugs for wound healing take their origin from plants (Habbu, Joshi, & Patil, 2007). Researches of new plant products that may promote wound healing have recently taken advantages and can serve as new lead compounds for wound healing (Wang et al., 2013). *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) is an evergreen shrub 1–5 m tall with globulous edible fruits first red then black at maturity, cultivated for the extraction of oil and the resin (Iserin, 2001; Sharma, 1993). It is native to the Canary Islands, throughout the Mediterranean region, from Morocco and Iberian Peninsula in the west throughout Southern France and Turkey to Iraq and Iran in the east (Simpson, & Ogorzaly, 2013; Tingshuang, Jun, Avi, & Dan, 2008). Previous pharmacological studies indicated that the fatty oil extracted from *P. lentiscus* L. fruits is used to care respiratory diseases, diarrhea, and pharyngitis, and for treatment of wounds and burns (Djerrou et al., 2010; Trabelsi et al., 2012). The objectives of the current study were to investigate the healing effect of *P. lentiscus* L. fruits hexane extract on the total thickness-excised wounds, and the composition on fatty acids and total protein.

2. Results and discussion

2.1. Total fat and protein contents

The protein contents of *P. lentiscus* L. fruits have been determined on the basis of total nitrogen contents according to the elemental analysis method. The protein contents were calculated as total nitrogen amount multiplied by 5.68 ± 0.3 (Sosulski & Imafidon, 1990). Nitrogen content of the sample was found to be $4.2\% \pm 0.006$; consequently, the value for total protein contents ranged from 23.86% (Table 1). It is said that *P. lentiscus* L. mature black fruits are rich in terms of protein contents as well as fat contents (Table 1).

2.2. Fatty acids composition

The results of total oil from *P. lentiscus* L. fruits showed that hexane extract has higher rate of total oil (25.67%) than cold pressure extract (20.84%) as shown in Table 1. The results of GC–MS study indicated three dominant fatty acids: oleic, palmitic, and linoleic acids, and two moderate fatty acids: palmitoleic and stearic acids for hexane and cold pressure extracts, with similar percentages in both types of extraction (Table 2). Benhammou, Atik Bekkara, and Panovska (2008) reported good nutritive quality of this oil due to its contents in unsaturated fatty acids (Oleic + linoleic = 73%) and saturated fatty acids (Palmitic + stearic = 25.8%). The cold pressure extract had more oleic acid comparing to hexane extract with similar amounts for the remaining fatty acids. In addition, oleic (18:1) acid has been found as the major fatty acid in both hexane and cold pressure extracts with maximum values of 46.91 and 48.34%, respectively, followed by palmitic (16:0) and linoleic (18:2) fatty acids. From the literature reviews, several studies gave the same three dominant fatty acids with different amounts (Charef, Yousfi, Saidi, & Stocker, 2008; Mezni et al., 2012; Trabelsi et al., 2012); they may vary not only due to the locations and the harvest times, but also to the extraction methods. In addition, some of the presented fatty acids have been described as bioactive molecules that

Table 1. Oil and protein contents of *P. lentiscus* L. fruits

Species	Protein (%)	Oil (%) hexane extract	Oil (%) cold pressure extract
<i>P. lentiscus</i> L.	23.856 ± 1.260	25.671 ± 0.852	20.84 ± 1.318

Note: Values presented are the means of triplicate experiments for each extract.

Table 2. Fatty acid analysis results of hexane and cold pressure extracts of *P. lentiscus* L. by GC-MS

Rt (min) ^a	Constituents ^b		Hexane extract ^c (%)	Cold pressure ^c (%)
25.78	Stearic acid, methyl ester	(C18:0)	1.38 ± 0.34	1.29 ± 0.07
18.60	Myristic acid, methyl ester	(C14:0)	0.05 ± 0.02	0.04 ± 0.02
19.83	Pentadecanoic acid, methyl ester	(C15:0)	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01
21.94	Palmitic acid, methyl ester	(C16:0)	25.75 ± 0.82	25.44 ± 0.65
23.86	Heptadecanoic acid, dimethyl ester	(C17:0)	0.08 ± 0.02	0.06 ± 0.02
29.22	Arachidic acid, methyl ester	(C20:0)	0.21 ± 0.02	0.15 ± 0.02
	Σ SFA		27.48 ± 0.21 ^a	26.99 ± 0.13 ^a
22.57	Palmitoleic acid, methyl ester	(C16:1)	4.24 ± 0.12	3.74 ± 0.02
24.43	10-Heptadecanoic acid, methyl ester	(C17:1)	0.08 ± 0.06	0.09 ± 0.01
26.38	Oleic acid, methyl ester	(C18:1)	46.91 ± 1.03	48.34 ± 0.07 ^a
29.67	11-Eicosenoic acid, methyl ester	(C20:1)	0.15 ± 0.01	0.19 ± 0.01
	Σ MUFA		51.38 ± 0.31 ^a	52.36 ± 0.03 ^a
27.26	Linoleic acid, methyl ester	(C18:2)	20.59 ± 0.03	20.27 ± 0.81
28.46	Linolenic acid, methyl ester	(C18:3)	0.55 ± 0.04	0.39 ± 0.01
	Σ PUFA		21.14 ± 0.03 ^a	20.66 ± 0.41 ^a
	SFA/UFA		0.38	0.37
	PUFA/SFA		0.77	0.76
	Cox value		2.71	2.65

Note: Values presented are the means of triplicate experiments for each extract.

^aRetention time (in minutes).

^bCompounds listed of elution from a HP-5 MS column.

^cPercentage of relative weight.

can solve human health disorders, such as antihyperlipidemic, lowering cholesterol level, and blood pressure (Djerrou, 2014; Kris-Etherton, 1999). It was obvious that the prominent class of fatty acid was represented by MUFA at 51.38%, followed by SFA at 27.48%, then PUFA at 21.14%. The SFA/UFA ratio was accounting for 0.4; it indicates that *P. lentiscus* L. fatty oil has much more unsaturated fatty acids than saturated ones, which attributes dietetic and nutritive properties to this oil.

2.3. Excised wound healing

This study investigated the efficiency of *P. lentiscus* L. hexane extract (PLHE) for full-thickness-excised wounds healing. The skin of different rabbits has been inspected and the percentage of wound contraction has been recorded every three days (see Table 3). The results showed that both PLHE and Madecassol® significantly ($p \leq 0.05^*$) promote wound healing compared to wounds dressed with PLW and the untreated wounds, during all observation times with absence of wound infection in PLHE treatment. However, as there is very high significant difference ($p \leq 0.001^{***}$) in the last healing phase (day 15) between MAD and PLW, it can be concluded that PLW reduces cell proliferation and maturation and seemed to delay cicatrization effect. Also high significant difference ($p \leq 0.01^{**}$) in the second healing process (day 6) between PLHE and CONT- groups showed that PLHE promoted wound healing during inflammation phase without infections. Consequently, the period of total healing in CONT (-) and PLW treatment groups were at least 18 days, while MAD and PLHE groups have been completed within 15 and 16 days, respectively. PLHE showed better contraction percentage than MAD during the first and the second measurement days (day 3 and day 6) which correspond to the cell hemostasis and cell inflammation phases of wound-healing process, while MAD produced the highest healing percentage during the last six days of treatment, that were in accordance with the proliferation and maturation phases (Enoch & Leaper, 2005; Nguyen et al., 2009;

Table 3. Evolution of the healing process (contraction %) of total thickness-excised wounds on rabbits

Treatment	Wound healing (%)				
	Day 3	Day 6	Day 9	Day 12	Day 15
CONT (-)	24.62 ± 1.41	36.80 ± 4.10	60.80 ± 1.64	81.73 ± 2.99	92.68 ± 1.46
MAD	38.47 ± 2.08	50.73 ± 1.30	72.68 ± 1.33	93.05 ± 3.70	98.50 ± 0.76
PLHE	41.11 ± 1.42	54.64 ± 1.28	70.85 ± 1.53	92.93 ± 4.18	95.29 ± 1.39
PLW	18.04 ± 3.26	41.08 ± 2.03	60.30 ± 1.25	79.93 ± 1.23	85.38 ± 0.55
Statistical data					
PLHE-CONT-	Signif- $p \leq 0.05^*$	Signif- $p \leq 0.01^{**}$	Signif- $p \leq 0.05^*$	Signif- $p \leq 0.05^*$	Nonsignificant
PLHE-PLW	Signif- $p \leq 0.05^*$	Signif- $p \leq 0.05^*$	Signif- $p \leq 0.05^*$	Signif- $p \leq 0.01^{**}$	Signif- $p \leq 0.05^*$
PLHE-MAD	Non-significant	Non-significant	Non-significant	Non-significant	Non-significant
MAD-CONT-	Signif- $p \leq 0.05^*$	Signif- $p \leq 0.05^*$	Signif- $p \leq 0.05^*$	Signif- $p \leq 0.05^*$	Signif- $p \leq 0.05^*$
PLW-CONT-	Non-significant	Non-significant	Non-significant	Non-significant	Non-significant
MAD-PLW	Signif- $p \leq 0.05^*$	Signif- $p \leq 0.05^*$	Signif- $p \leq 0.05^*$	Signif- $p \leq 0.01^{**}$	Signif- $p \leq 0.001^{***}$

Note: The results represent the mean ± SD (N = 4).

Rieger et al., 2014; Stadelmann et al., 1998; Toporcer et al., 2006). In the 15th day, PLHE healing activity decreased during maturation phase and gave no significant difference in contraction rate with CONT (-) treatment group. It was obvious that PLW reduces proliferated cells to be mature; therefore, it might be necessary to remove the wax from *P. lentiscus* L. extracted oil in order to increase its healing effects. We have demonstrated previously the effect of this oil on burn healing in rabbits' skin (Djerrou et al., 2010).

3. Conclusions

PLHE promotes equally wound healing on the skin of rabbits, after three weeks of daily application comparing to reference drug, in hemostasis and inflammatory phases of cicatrization, without infection effect. Therefore, further studies of antimicrobial and antifungal activities of its fatty oil are strongly recommended. Additionally, effective wound healing properties of *P. lentiscus* L. may be attributed to the synergistic effect of its fatty acids, especially oleic, palmitic and linoleic acids, proteins, and other compounds. Therefore, the studied species which is widely used in traditional therapies needs to be screened well. Moreover, *P. lentiscus* L. fruits acquire considerable levels of total oil and protein content. The results of our study can also be useful for nutritional research.

Supplementary material

Supplementary material for this article can be accessed here <http://dx.doi.org/10.1080/23312025.2016.1182611>.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Department of Biology, Oum El Bouaghi University and Dicle University Science and Technology Research and Application Center (DUBTAM) for their great contribution to this research.

Funding

The authors received no direct funding for this research.

Competing Interests

The authors declare no competing interest.

Author details

Ahmed Boukeloua¹
 E-mail: ahmedcte@yahoo.fr
 Abdelmalik Belkhiri²
 E-mail: belkhiri_abdelmalik@yahoo.fr

Mustafa Abdullah Yilmaz³

E-mail: mustafaabdullahyilmaz@gmail.com

Hamdi Temel⁴

E-mail: htemelh@hotmail.com

¹ Faculte des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie, Department of Biology, Universite d'oum El Bouaghi, Oum Bouaghi 04000, Algeria.

² Faculty of Medicine, Department of Pharmacy, Universite de Constantine, Constantine, Algeria.

³ Dicle University Science and Technology Research and Application Center, Diyarbakir Sur, Turkey.

⁴ Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Dicle University, Diyarbakir, Turkey.

Citation information

Cite this article as: Chemical profiling and total thickness-excised wound-healing activity of *Pistacia lentiscus* L. fruits growing in Algeria, Ahmed Boukeloua, Abdelmalik Belkhiri, Mustafa Abdullah Yilmaz & Hamdi Temel, *Cogent Biology* (2016), 2: 1182611.

References

- Alizadeh, A. M., Ahmadi, A., Mohammadzadeh, A., Paknejad, M., & Mohagheghi, M. (2009). The effect of HESA-A, an herbal-marine compound, on wound healing process: An experimental study. *Research Journal of Biological Sciences*, 4, 298–302.
- Benhammou, N., Atik Bekkara, F., & Panovska, T. K. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2, 22–28.
- Charef, M., Yousfi, M., Saidi, M., & Stocker, P. (2008). Determination of the fatty acid composition of acorn (*quercus*), *Pistacia lentiscus* seeds growing in Algeria. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85, 921–924.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11746-008-1283-1>
- Djerrou, Z. (2014). Anti-hypercholesterolemic effect of *Pistacia lentiscus* fatty oil in egg yolk-fed rabbits: A comparative study with simvastatin. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 12, 561–566.
[http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364\(14\)60086-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364(14)60086-8)
- Djerrou, Z., Maameri, Z., Hamdi-pacha, Y., Serakta, M., Riachi, F., Djaalab, H., & Boukeloua, A. (2010). Effect of virgin fatty oil of *Pistacia lentiscus* on experimental burn wound's healing in rabbits. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 7, 258–263.
- Enoch, S., & Leaper, D. J. (2005). Basic science of wound healing. *Surgery*, 23, 37–42.
- Habbu, P. V., Joshi, H., & Patil, B. S. (2007). Potential wound healing healers from plant origin. *Pharmacognosy Reviews*, 1, 271–281.
- Iserin, P. (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soin* (2nd ed., pp. 13–16). Paris: Larousse/VUEF.
- Kris-Etherton, P. M. (1999). Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. *Circulation*, 100, 1253–1258.
<http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.100.11.1253>
- Lazarus, G. S., Cooper, D. M., Knighton, D. R., Margolis, D. J., Pecoraro, R. E., Rodeheaver, G., & Robson, M. C. (1994). Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Archives of Dermatology*, 130, 489–493.
<http://dx.doi.org/10.1001/archderm.1994.01690040093015>
- Mezni, F., Maaroufi, A., Msallem, M., Boussaid, M., Larbi Khouja, M., & Khaldi, A. (2012). Fatty acid composition, antioxidant and antibacterial activities of *Pistacia lentiscus* L. fruit oils. *Journal of Medicinal Plant Research*, 6, 5266–5271.
- Nguyen, D. T., Orgill, D. P., & Murphy, G. F. (2009). The pathophysiologic basis for wound healing and cutaneous regeneration. *Biomaterials for treating skin loss* (pp. 25–57). Cambridge, Boca Raton, FL: Woodhead Publishing, CRC Press.
- Priya, K. S., Gnanamani, A., & Radhakrishnan, N. O., Babu, M. (2002). Healing potential of *Datura alba* on burn wounds in albino rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 83, 193–199.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00195-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00195-2)
- Rieger, S., Zhao, H., Martin, P., Abe, K., & Lisse, T. S. (2014). The role of nuclear hormone receptors in cutaneous wound repair. *Cell Biochemistry and Function*, 33(1), 1–13.
- Sharma, O. P. (1993). *Plant taxonomy* (p. 262). New Delhi: Tata McGraw-Hill.
- Simpson, B., & Ogorzaly, M. (2013). *Economic botany: Plants in our world* (3rd ed.). New York, NY: Content Technologies.
- Sosulski, F. W., & Imafidon, G. I. (1990). Amino acid composition and nitrogen-to-protein conversion factors for animal and plant foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 1351–1356.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf00096a011>
- Stadelmann, W. K., Digenis, A. G., & Tobin, G. R. (1998). Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *The American Journal of Surgery*, 176, 265–385.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9610\(98\)00183-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9610(98)00183-4)
- Tingshuang, Y. I., Jun, W., Avi, G. G., & Dan, E. P. (2008). Phylogenetics and reticulate evolution in *Pistacia* (Anacardiaceae). *American Journal of Botany*, 95, 241–251.
- Toporcer, T., Grendel, T., Vidinsky, B., Gal, P., Sabo, J., & Hudak, R. (2006). Mechanical properties of skin wounds after *Atropa belladonna* application in rats. *Journal of Metals, Materials and Minerals*, 16, 25–29.
- Trabelsi, H., Cherif, O. A., Sakouhi, F., Villeneuve, P., Renaud, J., Barouh, N., ... Mayer, P. (2012). Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. *Food Chemistry*, 131, 434–440.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.083>
- Wang, R., Lechtenberg, M., Sendker, J., Petereit, F., Deters, A., & Hensel, A. (2013). Wound-healing plants from TCM: *In vitro* investigations on selected TCM plants and their influence on human dermal fibroblasts and keratinocytes. *Fitoterapia*, 84, 308–317.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2012.12.020>
- World Health Organization. (2002). *WHO traditional medicine strategy 2002–2005* (p. 1). Geneva: Author.



© 2016 The Author(s). This open access article is distributed under a Creative Commons Attribution (CC-BY) 4.0 license.

You are free to:

- Share — copy and redistribute the material in any medium or format
 - Adapt — remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.
- The licensor cannot revoke these freedoms as long as you follow the license terms.

Under the following terms:

- Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made.
- You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use.
- No additional restrictions

You may not apply legal terms or technological measures that legally restrict others from doing anything the license permits.



RESUMES

المخلص

إنّ الكمونات العلاجية للجروح الخاصة بالفارماكوبيا التقليدية الجزائرية تكمن عموماً في بعض المستحضرات الزيتية، ذات الخصائص الغذائية و العلاجية المرتبطة بالفعالية الإجمالية و التأزرية لمكوناتها النشطة حيويًا.

هذه الدراسة تختص بقياس بعض العناصر الفيزيوكيميائية و الفيتوكيميائية - كروماتوغرافيا - لزيت أركان و المستحضرات المحبة للدهون المتحصل عليها من ثمار نبات الضرو، و بذور نبات التين الشوكي، و المستخلصات الكحولية لهذه النباتات الثلاثة، و كذا تقييم السمية للمستحضرات الزيتية عند الحيوان- الفأر و الأرنب-.

تبين العناصر الفيزيوكيميائية المتحصل عليها بالنسبة للمستحضرات الزيتية أنها تضاهي النتائج الموثقة لمستحضرات مماثلة لها. الاختبارات الفيتو كيميائية تبين قيم عالية نسبياً لهذه النباتات الثلاثة فيما يخص المواد المحبة للدهون القابلة للاستخلاص و البروتينات (28.39 للتين الشوكي و 26.21 للأركان و 23.85 بالمئة للضرو) و الأحماض الدهنية غير المشبعة (88 للأركان للتين الشوكي و 81.2 للضرو و 74.15 بالمئة للتين الشوكي) و المواد غير المتصنبة (ألفا توكوفيرول 21.34 للتين الشوكي و 15.8 للضرو و 7.44 بالمئة للأركان، و الفيتوستيرول 146 للتين الشوكي و 134 للأركان و 261 ميليغرام/100 غرام للضرو) و الفينولات (أعلى نسبة للأركان 35.57 ميليغرام/غرام) و الفلافونويدات بالنسبة لكل المستخلصات الكحولية للنباتات الثلاثة. أظهرت عملية التحليل الكمي للمركبات ذات التركيز العالي في النباتات الثلاثة أنّ المستحضر الزيتي لبذور نبات التين الشوكي غني بحمض غاما لينولينيك بنسبة 57 بالمئة، في حين أنّ الحمضين الدهنيين أوليك و لينولينيك قد أبديا كميات مرتفعة في كل من زيت أركان بنسبة 44.4 و 36.7 بالمئة على التوالي، و من المستحضر الزيتي لثمار نبات الضرو بنسبة 48.9 و 21.8 بالمئة على التوالي. بينما- سيتوستيرول ظهر بكميات قصوى في كل المستحضرات المدروسة. كذلك أظهر المستخلص الكحولي لثمار نبات الضرو أنّه غنيّ بحمض الغاليك -2090.4 ميكروغرام/غرام- و الكينيك -1519.84 ميكروغرام/غرام-، في حين أنّ المستخلص الكحولي لبذور نبات التين الشوكي أظهر كميات أقل من حمض الكينيك- 82.57 ميكروغرام/غرام- و الكلورو جينيك - 16.4 ميكروغرام/غرام- على أنّهما أكبر الفينولات كما.

على المستوى السميّ، تعتبر المستحضرات الزيتية لكل من النباتات الثلاثة و المختبرة على الأرنب غير مهيّجة لا على العين و الجلد و لا حتّى على المخاطات الشرجية. كذلك أظهر اختبار السميّة الحادة عند الفئران غياب كليّ أو شبه كليّ لأيّ تسمّم بالنسبة للمستحضرات الزيتية الثلاثة وذلك عن طريق البلع أو الحقن تحت الصفاق. تقييم فعالية التئام الجروح بالنسبة للمستحضرات الزيتية الثلاثة على جروح جلد الأرنب المقطوع كلياً أظهر نتائج أقلّ إقناعاً عند المستحضر الزيتي لثمار نبات الضرو منها فيما يخص نباتي أركان و التين الشوكي. هذين العلاجين الأخيرين يحفران تقدم التئام الجروح عند الأرنب بطريقة معبرة احصائياً و ذلك على طول المدّة العلاجية.

الكلمات المفتاحية المستحضرات الزيتية، التركيب، فعالية التئام الجروح، الأرنب،

Argania spinosa, Opuntia ficus-indica, Pistacia lentiscus

Surname : **BOUKELOUA**

First name : **Ahmed**

Exploration of the therapeutic potentialities of the traditional Algerian phyto-pharmacopeia : study of some plants with wound healing activity

Abstract

The wound healing potentialities of traditional Algerian phyto-pharmacopeia lie usually in some oily preparations, that their nutritional and pharmacological properties are related to an overall and synergic action of their bioactive constituents.

This study resets on measuring of some physico-chemical and phytochemical parameters (chromatography HPIC, GC-MS and LC-MS/MS) of argane oil (HAS), of lipophylic extracts obtained from lentiscus fruits (EHPL) and Barbary fig seeds (EHOFI), and alcoholic extracts (EA) from the three plants, as well as a toxico-pharmacological evaluation of three oily preparations in animal (mousse, rabbit).

Obtained physico-chemical parameters for the three oily preparations are comparable to those published for similar preparation. The phytochemical tests showed the relative high contents. In these three plants of lipophylic extracting material; of proteins (EHOFI 28.39, HAS 26.21 and EHPL 23.85%), of unsaturated fatty acids (HAS 88, EHOFI 81.2 and EHPL 74.15%), of unsaponifiable [α -tocophérol (EHOFI 21.34, EHPL 15.8 et HAS 7.44mg/100g); et phytostérols (EHPL 261, EHOFI 146, et HAS 134 mg/100g)], of total phenols for EAAS (35.57mg/g) and high total flavonoïds for the three alcoholic extract. The quantification of main constituents showed that EHOFI is riche on γ -linolénic ac. (57 %), while the fatty acids oleic and linoleic are presents in high quantities in HAS (44.4 et 36,69 %) and EHPL (48.91 et 21,86 %) respectively. β -sitostérol is the main constituent for the three oily preparations. EAHL extract showed a dominant presence of gallic ac. (2092,39 μ g/g), quinic ac. (1519,84 μ g/g), while EAOFI showed the presence of quinic ac. (83,57 μ g/g) and chlorogénic ac. (16,37 μ g/g), as high polyphénols contents.

On the toxicological part, the three oily products tested on rabbits, are considered non irritant neither on eye and skin, nor on anal mucosa. Their acute toxicity study on mice showed an absence or low down toxicity of the three oily preparations, by oral and intraperitonel routes. The evaluation of wound healing activity of the three oily preparations on excised wounds on rabbits showed less convincing results for EHPL than those obtained for EHOFI and HAS. These two latter treatments promote significantly ($p \leq 0.05^*$) wound healing process on rabbits wounds during all treatment period.

Key words: *Argania spinosa*, *Opuntia ficus-indica*, *Pistacia lentiscus*, oily préparation, composition, wound heaking effet, excised wound, rabbits.

Nom : BOUKELOUA	Prénom : Ahmed
Thème : Exploration des potentialités thérapeutiques de la phyto-pharmacopée traditionnelle Algérienne : étude de quelque plantes a activité cicatrisante	
Résumé	
<p>Les potentialités cicatrisantes de la phyto-pharmacopée traditionnelle Algérienne résident souvent en certaines préparations huileuses, dont les propriétés nutritionnelle et pharmacologique sont associées à une action globale et synergique de leurs constituants bioactifs.</p> <p>Cette étude a porté sur la mesure de certains paramètres physico-chimiques, phytochimiques (chromatographie CLHP, CPG-SM et CL-SM/SM) de l'huile d'argane(HAS), des extraits lipophiliques obtenus du fruit de lentisque (EHPL) et des graines de figuier de barbarie (EHOFI), et des extraits alcooliques (EA) des trois plantes, ainsi qu'une évaluation toxico-pharmacologique des trois préparations huileuses chez l'animal (souris, lapins).</p> <p>Les paramètres physicochimiques obtenus pour les trois préparations huileuses sont comparables à ceux publiés pour des préparations similaires. Les essais phytochimiques ont démontré les teneurs relativement élevées de ces trois plantes en matières lipophiliques extractibles, en protéines (EHOFI 28.39, HAS 26.21 et EHPL 23.85%), en acides gras insaturés (HAS 88, EHOFI 81.2 et EHPL 74.15%), à l'insaponifiable [α-tocophérol (EHOFI 21.34, EHPL 15.8 et HAS 7.44mg/100g) ; et phytostérols (EHPL 261, EHOFI 146, et HAS 134 mg/100g)], en phénols totaux pour EAAS (35.57mg/g) et en flavonoïdes totaux élevés pour les trois extraits alcooliques. La quantification des composés majoritaires a démontré qu'EHOFI est riche en ac. γ-linoléique (57 %), alors que les ac. oléique et linoléique sont présent en quantités importantes dans HAS (44.4 et 36,69 %) et EHPL (48.91 et 21,86 %) respectivement. Le β-sitostérol est majoritaire pour les trois préparations huileuses. L'extrait EAPL a révélé la dominante présence des ac. gallique (2092,39μg/g), ac. quinique (1519,84 μg/g), tandis que EAOFI a révélé la présence des ac. quinique (83,57 μg/g) et chlorogénique (16,37μg/g), comme polyphénols importants.</p> <p>Sur le volet toxicologique les trois produits huileux testés sur le lapin, sont considérés non irritant ni au niveau oculaire et cutanée, ni sur les muqueuses anales. L'étude de leur toxicité aigue chez les souris montre une absence ou faible toxicité des trois préparations huileuses, administrées par voies orale et intrapéritonéale. L'évaluation de l'activité cicatrisante des trois préparations huileuses sur des plaies d'excision chez le lapin a révélé des résultats moins probants obtenus par l'EHPL que ceux obtenus par d'EHOFI et HAS. Ces deux derniers traitements favorisent le processus cicatriciel des plaies chez le lapin d'une façon significative ($p \leq 0.05^*$), durant toute la période de traitement.</p>	
Mots clés : <i>Argania spinosa</i> , <i>Opuntia ficus-indica</i> , <i>Pistacia lentiscus</i> , préparation huileuse, composition, effet cicatrisant, plaies d'excision, lapins.	
Laboratoire de toxicologie et de pharmacologie, Université des frères Mentouri, Constantine1	
Jury	Président : Khelifi Douadi Prof. Université des Frères Mentouri Constantine 1
Rapporteur : Belkhir Abdelmalik Prof. Université Constantine 3	
Examineurs : Kabouche Zahia Prof. Université des Frères Mentouri Constantine 1 Merghem Rachid Prof. Université des Frères Mentouri Constantine 1 Djerrou Zouhir MCA. Université 20 Aout 1955 de Skikda Boulebd Nadji MCA. Univ- Mohammed El Cherif Messaidia de Souk Ahras	
Soutenu le : 15 Décembre 2016	