

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Laboratoire de recherche : Biotechnologies, Environnement et Santé

THÈSE DE DOCTORAT

En Biologie

CARACTERISATION PHYTOCHIMIQUE ET ETUDE DES
PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DU CEDRE DE L'ATLAS
(*Cedrus atlantica*)

Par

Fatouma BENOUAKLIL

Devant le jury composé de :

F. SAIDI	Professeur, USD Blida1	Présidente
S. BELHADJ	Professeur, UZA Djelfa	Examinatrice
K. HOUALI	Professeur, UMM Tizi Ouzou	Examinatrice
N. SMAIL SAADOUN	Professeur, UMM Tizi Ouzou	Examineur
F. HAMAI-DI-CHERGUI	MCA, USD Blida1	Directrice de thèse
M-S. HAMAI-DI	Professeur, USDB1	Co-Directeur de thèse

Blida, Juillet 2018

RESUME

Cette étude réalisée sur le bois, les aiguilles et les cônes du Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) a pour but de recenser les différents composés biochimiques, de formuler trois crèmes dermiques et d'étudier différentes activités thérapeutiques des huiles essentielles, des extraits méthanoliques et des crèmes dermiques.

L'étude histologique a montré la présence de canaux excréteurs schizogènes responsables de la sécrétion des huiles essentielles dans les différentes parties étudiées.

L'analyse des huiles essentielles a révélé la présence de 35 composés correspondant respectivement à 76,31%, 70,46% et 82,55% de l'ensemble des constituants contenus dans les huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes de cette espèce. L'analyse phytochimique du Cèdre de l'Atlas a porté sur le dosage des composés phénoliques, des flavonoïdes ainsi que les tanins. Les analyses qualitatives ont révélé la présence des tannins catéchiques et l'absence des saponines.

Les huiles essentielles ainsi que les extraits testés présentaient des degrés variables d'activité antimicrobienne. L'étude de l'activité anti-radicalaire par la méthode de DPPH a dévoilé les propriétés remarquables que possèdent les extraits méthanoliques à piéger les radicaux libres.

Les résultats du contrôle réalisé sur les crèmes formulées à base des huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas révèlent une bonne stabilité physico-chimique et microbiologique. Les essais toxicologiques ont démontré que les huiles essentielles sont non irritantes ($IPC \leq 0,5$) et que les crèmes dermiques sont relativement bien tolérées chez les lapins.

Les crèmes dermiques possèdent des effets anti-inflammatoires très prononcés semblables à ceux du Diclofenac de Sodum en gel à 1%.

Les crèmes à base des huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas ont montré une action très positive sur la vitesse et la qualité de la cicatrisation des plaies superficielles, des plaies d'excision et des plaies de brûlures thermiques.

Mots clés : *Cedrus atlantica* M., huiles essentielles, analyse phytochimique, antimicrobienne, anti-radicalaire, anti-inflammatoires, cicatrisation.

ABSTRACT

This study done on the wood, needles and cones of Atlas cedar (*Cedrus atlantica* M.) aims to identify the different biochemical compounds, formulate three dermal creams and study different therapeutic activities of essential oils, methanolic extracts and dermal creams.

The histological study showed the presence of schizogenic excretory ducts responsible for the secretion of essential oils in the different parts studied.

The essential oils analysis revealed the presence of 35 compounds corresponding respectively to 76.31%, 70.46% and 82.55% of all the constituents contained in the wood, needles and cones essential oils. The phytochemical analysis of Atlas cedar focused on the determination of phenolic compounds, flavonoids and tannins. Qualitative analyses revealed the presence of catechin tannins and the absence of saponins.

The essential oils and tested extracts showed varying degrees of antimicrobial activity. The study of anti-radical activity by the DPPH method has revealed the remarkable properties that methanolic extracts have in trapping free radicals.

Control of essential oils creams reveals a good physicochemical and microbiological stability. Toxicological tests have shown that essential oils are non-irritating (CPI \leq 0.5) and that dermal creams are relatively well tolerated by rabbits.

Dermal creams have very pronounced anti-inflammatory effects similar to those of Sodium Diclofenac gel at 1%.

The creams formulated with the essential oils of Atlas cedar have shown a very positive effect on the speed and quality of healing of superficial wounds, excision wounds and thermal burn wounds.

Key words: *Cedrus atlantica* M., essential oils, phytochemical analysis, antimicrobial activity, anti-radical activity, anti-inflammatory, healing.

ملخص

تهدف هذه الدراسة المتمحورة حول خشب, اوراق وأكواز الارز الأطلسي (*Cedrus atlantica*) إلى تحديد المركبات الكيميائية الحيوية المختلفة ، وصياغة ثلاث كريمات للبشرة ، ودراسة الإمكانيات العلاجية المختلفة للزيوت العطرية ، المستخلصات الكحولية و كريمات البشرة.

أظهرت الدراسة المجهرية للأنسجة وجود قنوات مفرزة مسؤولة عن إفراز و تخزين الزيوت العطرية في الأجزاء المختلفة التي تمت دراستها.

كشف التحليل الكروماتوغرافي عن وجود 35 مركب كيميائي مما يمثل 76.31% ، 70.46% و 82.55% من مجموع المكونات الموجودة في الزيوت العطرية للخشب ,الاوراق والأكواز على التوالي. هذا و قد تركز التحليل الكيميائي النباتي للأرز الأطلسي على تحديد المركبات الفينولية والفلافونويد والعفص. كما اظهرت التحاليل النوعية وجود العفص المكثف وغياب الصابونين.

وقد أظهرت الزيوت العطرية والمستخلصات الكحولية درجات متفاوتة من الفعالية المضادة للميكروبات. وقد كشفت دراسة النشاط المضاد للأكسدة من خلال اختبار الDPPH عن الخصائص المميزة التي تتمتع بها مستخلصات الميثانول حيث تلعب دورا هاما في تثبيط الايونات الغير مستقرة.

نتائج مراقبة النوعية التي أجريت على الكريمات التي تحتوي على الزيوت العطرية للأرز الأطلسي كشفت عن المطابقة الجيدة للمعايير الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية. وقد أظهرت اختبارات التسمم الجلدي أن الزيوت العطرية غير مهيجة للبشرة ($IPC \leq 0.5$) وأن الكريمات الجلدية لاقت قبولا جيدا نسبيا من طرف الأرناب.

هذا وقد أظهرت الكريمات الجلدية أثارا مضادة للالتهابات شبيهة جداً بتأثيرات هلام ديكلوفيناك الصوديوم بتركيز 1%.

كما أبدت الكريمات التي تحتوي على الزيوت العطرية للأرز الأطلسي تأثيراً جد إيجابي على سرعة وجودة التئام الجروح السطحية, الجروح العميقة وجروح الحروق الحرارية.

الكلمات المفتاح : *Cedrus atlantica*, الزيوت العطرية, التحليل الكيميائي النباتي, المضادة للميكروبات, المضاد للأكسدة, مضادة للالتهابات, التئام الجروح.

DEDICACES

« Il n'est pas d'hiver sans neige, de printemps sans soleil et de joie sans être partagée »

[Proverbe Serbe]

Ma gratitude et/ou mon affection à:

Mes parents...

Mon époux...

Mes enfants...

Ceux que j'aime.....

REMERCIEMENTS

Je profite de l'occasion qui m'est ainsi accordée pour exprimer, avant tout, ma respectueuse gratitude aux trois parrains qui ont éclairé mon cursus universitaire :

A Madame le Docteur HAMAIIDI-CHERGUI Fella. J'ai été très sensible à sa disponibilité et à la totale confiance qu'elle m'a accordée. Sa grande expérience, ses inestimables conseils et son soutien ont permis le bon déroulement et l'aboutissement de ce travail. J'ai trouvé en elle un directeur qui m'a guidé et soutenu non seulement dans ce travail, mais aussi tout au long de mes études universitaires. Je la remercie pour la précision scientifique qu'elle me transmettait durant toutes ces années.

A mon ancien directeur de thèse, le défunt Professeur HAMAIIDI Mohand-Said, à qui Je rends hommage à travers ce travail et qui aurait aimé me voir soutenir ma thèse. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour son dévouement exemplaire et son encadrement sans faille que pour sa qualité d'écoute ainsi que sa confiance qui m'ont été précieuses et m'ont permis de mener cette recherche et d'autres, dans les meilleures conditions.

A Madame le Professeur SAIDI Fairouz, pour la gestion rigoureuse du laboratoire de Biotechnologies, environnement et santé, pour sa disponibilité, pour ses recommandations, ses avis judicieux, ses précieux conseils, ses encouragements et pour les pressions très positives qu'elle met sur les doctorants pour la finalisation de leurs thèses. Un grand merci.

Je suis très sensible à l'honneur que me font Madame le Professeur BELHADJ Safia (Université de Djelfa), Madame le Professeur SMAIL SAADOUNE Nouria (Université UMM de Tizi ousou) et Monsieur le Professeur HOUALI Karim (Université UMM de Tizi ousou) qui n'ont pas hésité, à apporter leurs contributions fructueuses comme membres de jury. Hommage respectueux.

J'adresse également mes sincères remerciements à M^{me} Oujeddi, Responsable du laboratoire de géochimie du CRD de Sonatrach de Boumerdes.

Je remercie également M^{elle} Neguabe, Mme Bakhti, et M^r Khireddine, ainsi que tous les laborantins, techniciens et administrateurs du Complexe Antibiotical de Sidal (Médéa).

Je tiens à remercier aussi M^{me} MIRABTI et M^{me} AZZINE ainsi que tout le personnel des laboratoires du CRD de Sidal (El Harrach).

Je ne peux passer sous silence l'aide précieuse des membres de la station expérimentale de l'université Saad Dahlab de Blida.

Je pense, au terme de ce travail aux membres du corps pédagogique et aux ingénieurs de laboratoire actifs à l'université Saad Dahlab de Blida qui m'ont aidé à surmonter toutes les difficultés durant mon parcours.

TABLE DES MATIERES

RESUME	
ABSTRACT	
الملخص	
DEDICACES	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
Liste des figures et des tableaux	
INTRODUCTION.....	13
CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	15
1.1. <i>Cedrus atlantica</i> M.....	15
1.1.1. Nomenclature.....	15
1.1.2. Taxonomique.....	15
1.1.3. Description botanique.....	16
1.1.4. Régénération.....	17
1.1.5. Habitat et écologie.....	17
1.1.6. Répartition géographique.....	18
1.1.7. Utilisation.....	19
1.2. Plantes médicinales.....	20
1.2.1. Récolte et conservation des plantes.....	20
1.2.2. Substances actives des plantes médicinales.....	20
1.3. Propriétés biologiques des plantes médicinales.....	26
1.3.1. Propriété antimicrobienne.....	26
1.3.2. Propriété antioxydante.....	27
1.3.3. Propriété anti-inflammatoire.....	28
1.3.4. Propriété cicatrisante.....	30
1.3.5. Toxicité.....	32
CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES.....	33
2.1. Matériel	33
2.1.1. Matériel végétal.....	33
2.1.2. Matériel animal.....	34
2.1.3. Souches microbiennes.....	34
2.1.4. Matériel non biologique.....	35

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

Figure 1.1	<i>Cedrus atlantica</i> M.	17
Figure 1.2	Répartition géographique du Cèdre de l'Atlas dans l'Afrique du nord	19
Figure 2.1	<i>Cedrus atlantica</i> M. des monts du parc national de Chréa	33
Figure 2.2	Souris sacrifiée avec oreille coupée	58
Figure 2.3	Application des crèmes dermiques sur les plaies	65
Figure 3.1	Coupe transversale au niveau du bois du Cèdre de l'Atlas	69
Figure 3.2	Canaux résinifères au niveau d'une coupe transversale du bois du cèdre de l'Atlas du Maroc	69
Figure 3.3	Canaux résinifères au niveau d'une coupe transversale du bois du cèdre de l'Atlas de l'Algérie	69
Figure 3.4	Coupe transversale de l'aiguille du Cèdre de l'Atlas	70
Figure 3.5	Cylindre central de l'aiguille du cèdre de l'Atlas	71
Figure 3.6	Canal résinifère dans l'aiguille du cèdre de l'Atlas	71
Figure 3.7	Coupe longitudinale du cône femelle du cèdre de l'Atlas	72
Figure 3.8	Coupe longitudinale d'écaille ovulifère du cèdre de l'Atlas	72
Figure 3.9	Teneur en eau	73
Figure 3.10	Profil chromatographique de l'huile essentielle du bois de <i>Cedrus atlantica</i> M.	82
Figure 3.11	Profil chromatographique de l'huile essentielle des aiguilles de <i>Cedrus atlantica</i> M.	83
Figure 3.12	Profil chromatographique de l'huile essentielle des cônes de <i>Cedrus atlantica</i> M.	84
Figure 3.13	Pourcentage des composés majoritaires des huiles essentielles du bois et des aiguilles	85
Figure 3.14	Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques	91
Figure 3.15	Courbe d'étalonnage pour le dosage des tanins condensés	94

Figure 3.16	Pourcentage d'inhibition du pouvoir oxydant du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique des aiguilles	98
Figure 3.17	Pourcentage d'inhibition du pouvoir oxydant du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique des cônes	98
Figure 3.18	Concentrations des composés phénoliques et des flavonoïdes dans les extraits méthanoliques des aiguilles et des cônes	99
Figure 3.19	Pourcentage d'inhibition du pouvoir oxydant du DPPH en fonction de la concentration de l'acide gallique	100
Figure 3.20	Pourcentage d'inhibition du pouvoir oxydant du DPPH en fonction de la concentration de la Quercetine	100
Figure 3.21	Pourcentage d'inhibition du pouvoir oxydant du DPPH en fonction de la concentration de l'α tocophérol	101
Figure 3.22	Pourcentage d'inhibition du pouvoir oxydant du DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique	101
Figure 3.23	Pourcentage d'inhibition du pouvoir oxydant du DPPH en fonction de la concentration de la Rutine	102
Figure 3.24	Effet antibactérien de l'huile essentielle des cônes sur <i>Enterococcus faecalis</i>	107
Figure 3.25	Effet antibactérien de l'huile essentielle des cônes sur <i>Bacillus subtilis</i>	107
Figure 3.26	Pourcentage de réduction de l'œdème par les crèmes dermiques à base des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas et du gel de Diclofenac	112
Figure 3.27	Longueur des plaies chez les lapins du 1 ^{er} lot	115
Figure 3.28	Longueur des plaies chez les lapins du 2 ^{ème} lot	115
Figure 3.29	Longueur des plaies chez les lapins du 3 ^{ème} lot	116
Figure 3.30	Longueur des plaies chez les lapins du 4 ^{ème} lot	116
Figure 3.31	Longueur des plaies chez les lapins du 5 ^{ème} lot	116
Figure 3.32	Evolution de la cicatrisation des plaies chez les lapins	117
Figure 3.33	Evolution du processus cicatriciel des plaies chez les lapins	119

Figure 3.34	Evolution de la profondeur des plaies dans le temps	121
Figure 3.35	Evaluation du bourgeonnement dans le temps	122
Figure 3.36	Evaluation des œdèmes dans le temps	123
Figure 3.37	Evaluation de l'épaisseur de la croûte dans le temps	124
Figure 3.38	Contraction des plaies dans le temps	125
Figure 3.39	Evolution pondérale des lapins	128
Figure 3.40	Evolution de la cicatrisation chez les lapins du 1 ^{er} lot	129
Figure 3.41	Evolution de la cicatrisation chez les lapins du 2 ^{ème} lot	129
Figure 3.42	Evolution de la cicatrisation chez les lapins du 3 ^{ème} lot	129
Figure 3.43	Pourcentage de réduction des zones brûlées	131
Figure 3.44	Évolution du processus de cicatrisation	132
Figure 3.45	Structure histologique de la peau saine	133
Figure 3.46	Structure histologique de la peau traitée par la crème à base de l'huile essentielle du bois	134
Figure 3.47	Structure histologique de la peau traitée par la crème à base de l'huile essentielle des aiguilles	134
Figure 3.48	Structure histologique de la peau traitée par la crème à base de l'huile essentielle des cônes	135
Figure 3.49	Structure histologique de la peau traitée par le Madécassol	135
Figure 3.50	Structure histologique de la peau traitée par le Placebo	136
Tableau 1.1	Activités biologiques des composés phénoliques	23
Tableau 2.1	Composition des crèmes dermiques à base des huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas	48
Tableau 2.2	Echelle de cotation de l'irritation primaire cutanée	56
Tableau 2.3	Échelle de cotation de l'évolution de la cicatrisation des plaies	61
Tableau 2.4	Echelle de cotation de la cicatrisation	63
Tableau 3.1	Rendement en huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes de <i>Cedrus atlantica</i> M.	74
Tableau 3.2	Rendement en fractions polaires et apolaires des aiguilles et des cônes de <i>Cedrus atlantica</i> M.	75
Tableau 3.3	Propriétés organoleptiques des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas	76

Tableau 3.4	Potentiel d'Hydrogène des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas	78
Tableau 3.5	Densité relative des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas	78
Tableau 3.6	Indice de réfraction des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas	79
Tableau 3.7	Indice d'acide des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas	80
Tableau 3.8	Indice d'ester des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas	80
Tableau 3.9	Miscibilité à l'éthanol des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas	81
Tableau 3.10	Composition chimique des huiles essentielles de <i>Cedrus atlantica</i> M.	87
Tableau 3.11	Absorbances et concentrations des composés phénoliques	92
Tableau 3.12	Teneurs en flavonoïdes	93
Tableau 3.13	Absorbances et concentrations des tanins condensés	94
Tableau 3.14	Qualité microbiologique des crèmes dermiques à base des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas	96
Tableau 3.15	EC50 des standards et des extraits méthanoliques des aiguilles et des cônes du Cèdre de l'Atlas	102
Tableau 3.16	Résultats des tests antimicrobiens	104
Tableau 3.17	Interprétation des résultats des tests antimicrobiens	105
Tableau 3.18	Résultats du test d'irritation primaire cutanée	109

INTRODUCTION

Chaque civilisation a tissé avec les plantes des rapports bien spécifiques. Les plantes ont occupé une place de choix et ont été, pour l'Homme, un point de contact privilégié avec la nature et la santé. Entre les pratiques empiriques et les pratiques scientifiques, les découvertes thérapeutiques des plantes médicinales et les données de la phyto-pharmacopée moderne confirment, souvent, les effets que la sagesse populaire prescrivait déjà comme remèdes [1].

L'évaluation des propriétés thérapeutiques des plantes, constitue une tâche très intéressante et utile, particulièrement pour les plantes d'une utilisation rare, moins fréquente ou non connue dans la médecine et les traditions médicinales. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs [2]. D'autant plus, que l'être humain se montre de plus en plus réticent à l'emploi des molécules chimiques. Il y a donc un réel besoin de trouver des méthodes alternatives.

L'Algérie est connue pour sa diversité en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existent à l'état spontané, ainsi que par l'utilisation populaire dans l'ensemble des territoires du pays. Avec ses 3000 espèces, appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% sont endémiques, la flore algérienne cependant reste très peu exploitée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique [3 ; 4].

Dans le but de valoriser le patrimoine forestier algérien et d'élaborer de nouveaux produits exploités par l'Homme dans l'industrie des parfums, agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique, nous nous sommes intéressés au cèdre de l'Atlas ou *Cedrus atlantica* Manetti qui constitue une des principales richesses forestières de l'Algérie. Chaque année, des quantités considérables de cônes et de déchets ne sont pas exploités suite à son abattage et à son ébranchage. L'exploitation de cet arbre constitue en fait une valorisation des résidus de bois de cèdre et tout particulièrement la sciure récupérée dans les scieries.

Cedrus atlantica M. a fait l'objet de nombreux travaux, notamment, ceux menés sur son profil phytochimique [5; 6; 7; 8; 9; 10], son activité antimicrobienne [11; 12, 13], antioxydante [12; 14], larvicide [15] et antihyperalgésique [16; 17]. Cependant, à notre connaissance, l'étude de son effet anti-inflammatoire cutané ainsi que de son pouvoir cicatrisant n'a jamais fait l'objet de recherche.

Dans le contexte des travaux entrepris au niveau du laboratoire de recherche de Biotechnologies, Environnement et Santé et dans le cadre de la valorisation et du développement des plantes aromatiques et médicinales, le travail de cette thèse a pour objectifs :

- La détermination des sites sécreteurs des huiles essentielles par une étude histologique au niveau du bois, des aiguilles et des cônes de *Cedrus atlantica*.

- L'extraction des huiles essentielles et des fractions polaires et apolaires et le dosage de certains métabolites secondaires.

- La formulation de crèmes topiques à base des huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas et la réalisation des contrôles galéniques et microbiologiques sur les crèmes obtenues.

- L'évaluation de certaines activités biologiques comme l'activité antimicrobienne, l'activité antioxydante, l'indice d'irritation primaire cutanée, la tolérance cutanée, l'activité anti-inflammatoire et le pouvoir cicatrisant.

CHAPITRE 1

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. *Cedrus atlantica* M.

Espèce endémique du Maghreb, le Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*) représente l'essence noble des forêts du Maroc et de l'Algérie [18]. Il est économiquement et écologiquement l'un des arbres les plus importants de la montagne méditerranéenne [19]. Il compte parmi les résineux les plus caractéristiques de nos forêts [20].

1.1.1. Nomenclature

Le mot « *Cedrus* » dérive du nom grec de l'arbre « *Kedros* » [21], alors que le nom de l'espèce s'est définitivement associé à la chaîne de l'Atlas [22]. Plusieurs noms vernaculaires lui ont été accordés, dont :

Nom français : Cèdre de l'Atlas [3], Cèdre d'Algérie, Cèdre argenté [21].

Nom anglais: Atlas cedar [23].

Nom arabe : Arz al-atlas [24].

Nom berbère : Meddad, Beguoun [3].

1.1.2. Taxonomique

Le genre *Cedrus* est un genre ancien, qui comprend plusieurs espèces dont la valeur taxonomique a été longtemps controversée. Intégrés d'abord dans une seule espèce (*Cedrus libanotika* Link.), les cèdres ont évolué vers une distinction en quatre espèces :

- Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti).
- Le cèdre du Liban (*Cedrus libani* Richard).
- Le cèdre de Chypre (*Cedrus brevifolia* Henry).
- Le cèdre de l'Himalaya (*Cedrus deodora* Loudon) [22].

Selon ARBEZ [23] et TOTH [25], la classification taxonomique de *Cedrus atlantica* M. est la suivante :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermatophytes

Sous-embranchement : Gymnospermes

Classe : Coniferospida

Famille : Pinaceae

Sous-famille : Abiétaceae

Genre : *Cedrus*

Espèce: *Cedrus atlantica* M.

1.1.3. Description botanique

Le Cèdre de l'Atlas (Figure 1.1) a une cime conique qui s'élargit avec l'âge [26]. Il dépasse souvent 60 m de hauteur et peut vivre jusqu'à 750 ans et plus [27]. Son enracinement pivotant, ramifié et très étendu, lui assure une bonne stabilité [28]. Son écorce est épaisse, rugueuse, noirâtre, parcourue par de profonds sillons permettant de conduire l'eau des précipitations aux racines [22]. Ses rameaux sont ascendants [26]. Ses aiguilles sont persistantes et principalement regroupées en rosettes [23] de 30 à 40 aiguilles raides, dont la longueur est de 1 à 2 cm [22]. Cet arbre se caractérise par une floraison à la fin de l'été [23].

Le même individu porte des fleurs des deux sexes : des chatons mâles ovoïdes, de 2 à 3 cm de longueur et des cônes femelles lisses et résineux, atteignant à maturité 7 à 8 cm [29, 22]. Trois ans après la floraison, les cônes se désarticulent à maturité [23]. Au moment de la dissémination, les graines ailées volent loin, seul l'axe du cône persiste assez longtemps [22].

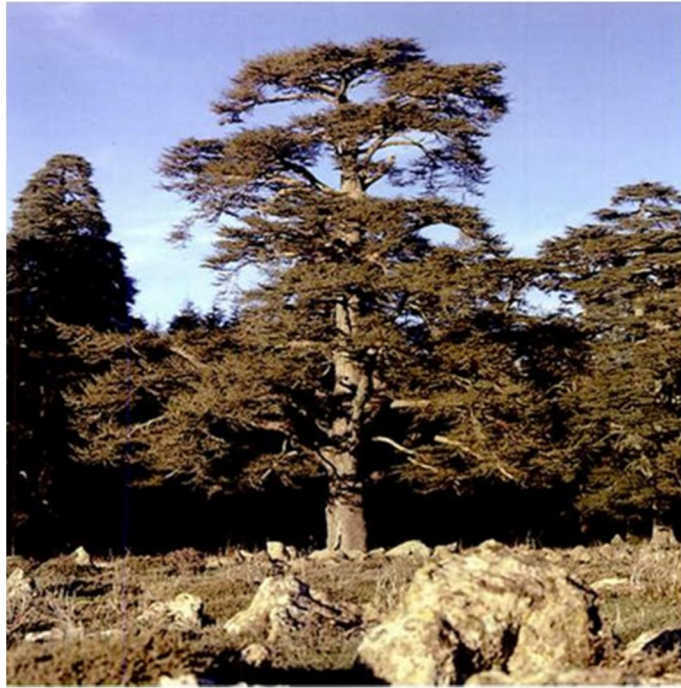


Figure 1.1: *Cedrus atlantica* M. [22]

1.1.4. Régénération

La durée de la période juvénile du cèdre de l'Atlas est de 15 à 30 ans [25]. Le cycle de reproduction s'accomplit en 3 ans. Durant la première année, la floraison et la pollinisation constitueraient des étapes déterminantes sur le potentiel de la production qualitative et quantitative des graines. La réussite de la fécondation et de la croissance des cônes de l'année $n+1$, ainsi que la maturation morphologique et physiologique des cônes de l'année $n+2$, seraient conditionnées par l'avènement d'accidents climatiques, la compétition entre organes végétatifs et reproducteurs ainsi que l'action des insectes responsables des pertes observables à tous les stades de développement. La désarticulation des cônes, sous l'effet d'une « imbibition » suivie d'un gel tissulaire, puis d'un dégel, leur permet la libération des graines vers la fin de la troisième année. Après une période de dormance variable en fonction des conditions climatiques, la germination des graines démarre à des températures proches de $+ 4^{\circ}\text{C}$ [30; 31; 25; 32; 20].

1.1.5. Habitat et écologie

Espèce essentiellement montagnarde (entre 1200 et 2800m d'altitude) [26], *Cedrus atlantica* est caractéristique des étages froids humides et subhumide [27].

C'est une espèce sensible aux fortes gelées et détruites par des températures inférieures à -25°C. Le cèdre de l'Atlas supporte les fortes sécheresses et les conditions hydriques irrégulières et s'accommode aux habitats à bilan hydrique moyen, voir déficitaire [21].

Compte tenu de sa rusticité et de son indifférence à la nature lithologique, le cèdre de l'Atlas se rencontre sur des substrats et des sols variés [33; 34], dérivant de calcaires, de basaltes, de schistes, de marnes, de granites et de grès [27].

À Chréa, les cédraies se situent essentiellement sur des schistes du Crétacé inférieur, plus ou moins argileux par endroits [33 ; 34], donnant naissance à des sols bruns lessivés sous les cédraies [35].

1.1.6. Répartition géographique

Le cèdre de l'Atlas occupe naturellement sept blocs distincts en Afrique du Nord (Figure 1.2). Quatre sont situés dans les montagnes Marocaines : les cédraies du Rif, du Moyen Atlas oriental et central et du Haut Atlas oriental et trois dans les montagnes Algériennes : les cédraies des Ouarsenis, des Aurès et du Djurdjura [22].

En Algérie, le Cèdre de l'Atlas est réparti sur 23000 hectares. Ces surfaces de cédraies très importantes, sont soumises à différents facteurs de dégradation (coupes illicites, pâturages, piétinement, incendies...) et n'ont pratiquement pas fait l'objet de pratiques sylvicoles adéquates [36].

Hors de son aire naturelle, le cèdre a été utilisé depuis longtemps dans quelques pays circum-méditerranéens, d'abords comme espèce ornementale, ensuite comme espèce de reboisement (France en 1886, Italie en 1864 et Bulgarie en 1890). L'introduction du Cèdre de l'Atlas est signalée aussi dans quelques états Américains. Cette espèce fut également introduite vers 1890 en U.R.S.S, en Crimée et en Caucase [22].

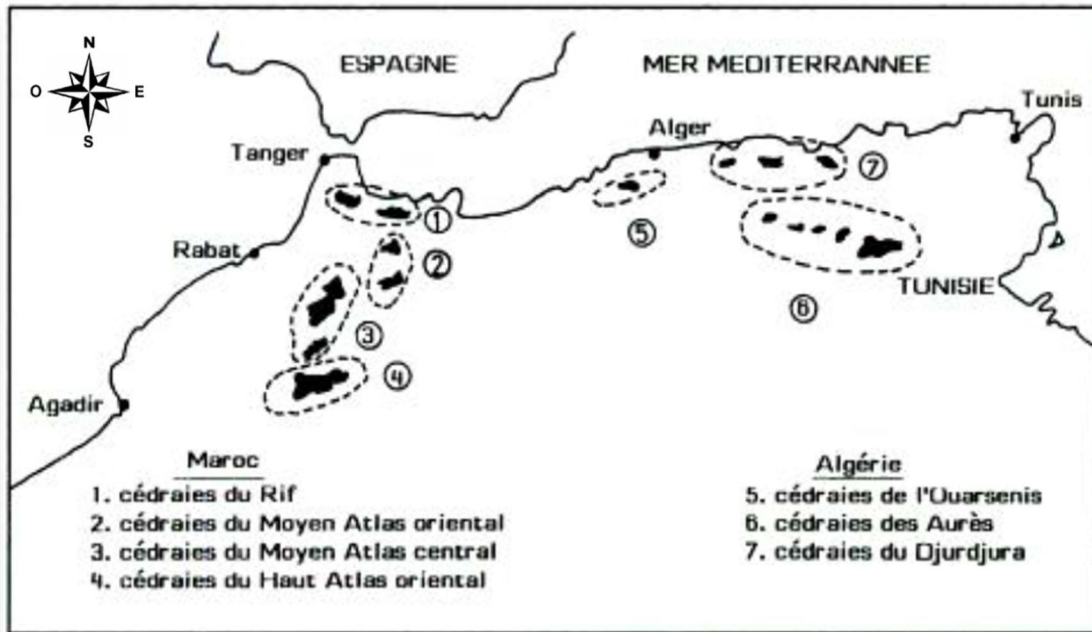


Figure 1.2: Répartition géographique du Cèdre de l'Atlas dans l'Afrique du nord [22]

1.1.7. Utilisation

Dans l'Egypte ancienne, l'huile du cèdre a été utilisée pour l'embaumement des corps des défunts [37]. Au Maroc, le cèdre de l'Atlas représente la principale source du bois d'œuvre. En France, le cèdre de l'Atlas est très largement utilisé dans le reboisement [38].

Les essences de *Cedrus atlantica* Manetti ont toujours été considérées comme des substances nobles et précieuses. Elles entrent dans la composition de nombreux produits tels que les parfums et certains produits d'hygiène [39].

En médecine traditionnelle, l'huile essentielle du cèdre de l'Atlas possède des propriétés antifongiques, antiseptiques, tonifiantes, astringentes, décongestionnantes, cicatrisantes. Elle est recommandée pour les problèmes de la peau et du cuir chevelu. D'autres effets sont rapportés tels que l'effet relaxant, lymphotonique, diurétique et lipolytique. Elle repousse également les moustiques et les mites [37; 40].

1.2. Plantes médicinales

Ce sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles [41].

1.2.1. Récolte et conservation des plantes

L'action des plantes médicinales dépend de la période et du moment de leur récolte, de leur séchage ainsi que de leur conservation. L'époque de la collecte, dans la nature ou dans une culture, est déterminée par la teneur de la plante en matière actives au cours de son cycle végétatif [42]. Il est essentiel qu'elle conserve le maximum de ses principes actifs [43].

La cueillette doit se faire préférentiellement par temps sec après le lever du soleil et après la disparition de la rosée [43 ; 44].

Pour une conservation optimale de la plante, il faut qu'elle soit débarrassée de toutes les parties mortes [44]. Le séchage et la conservation doivent se faire dans un endroit sombre, abrité et bien aéré. La température ne doit pas dépasser les 37 °C [45].

1.2.2. Substances actives des plantes médicinales

Dans leur globalité, les plantes produisent une grande variété de métabolites secondaires ayant de nombreuses activités biologiques, telles que la protection contre les herbivores, les microbes, les plantes concurrentes, l'adaptation et la pollinisation [46]. Ces métabolites sont classés en plusieurs groupes dont les plus importants sont :

1.2.2.1. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatiles contenus dans les végétaux [47].

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le monde végétal. Elles se trouvent en quantité appréciable chez environ 2000 espèces réparties en 60 familles [48; 49].

Elles peuvent se rencontrer dans toutes les parties vivantes de la plante comme les sommités fleuries, les rhizomes, les racines, les graines, les fruits, les fleurs, les feuilles, les écorces et le bois. Dans une même plante, ces huiles peuvent se retrouver à la fois dans différents organes mais la composition chimique varie d'un organe à un autre [49].

Les huiles essentielles sont rejetées par les plantes sous forme de vapeur. Ces dernières possèdent de multiples fonctions dans la nature. En effet, il a été établi qu'elles interviennent dans les interactions « végétaux-animaux » et elles constituent un moyen de communication (langage chimique) [50]. En effet, certaines essences favorisent la pollinisation en attirant les insectes et certaines servent à la défense des plantes contre les prédateurs (herbivores, insectes et micro-organismes) [51]. D'autres essences protègent les cultures en inhibant la multiplication des bactéries et des champignons [48]. Selon El ABED et KAMBOUCHE [49], Il existe également des essences qui libèrent une variété de goût et d'odeur dans l'atmosphère, elles sont employées comme saveurs et condiments en cuisine.

a. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles est généralement très complexe lié au nombre élevé de constituants présents et surtout à la diversité considérable de leurs structures [49].

Les principaux composants des huiles essentielles sont regroupés en plusieurs grandes familles :

- Esters

Ils agissent directement sur le système nerveux central et possèdent une action équilibrante et apaisante. Ils ont des propriétés anti-inflammatoires et de régénération des cellules [52].

- Phénols

Ils se caractérisent par leurs effets antiseptiques et bactéricides, protégeant ainsi l'organisme des contaminations. Ces composants sont très irritants pour la peau et les muqueuses [52].

- Aldéhydes

Ils ont une action relaxante et calmante, et sont aussi anti-inflammatoires. Ils donnent un parfum d'agrumes à certaines huiles [52].

- Cétones

Ils ont une action relaxante et sédative et possèdent des propriétés cicatrisantes. Ils permettent aussi l'élimination du mucus [52].

- Alcools

Ils font partie des molécules les plus bénéfiques contenues dans les huiles essentielles en raison de leurs propriétés antiseptiques, antivirales et analgésiques. Ils sont également immunostimulants [52].

- Terpènes

Très répandus dans l'ensemble des huiles essentielles, ils ont une action stimulante et tonique. Certains ont des propriétés antivirales, même à très basse concentration [52].

- Acides

Ils sont présents en petites quantités, mais dotés d'une action puissante. Ils sont anti-inflammatoires et sédatifs [52].

- b. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielle à partir de la matière végétale se fait par différents procédés tels que la distillation, l'enfleurage et l'expression. Le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'essence dans le végétal [49].

1.2.2.2. Composés phénoliques

Les composés phénoliques forment une grande famille de composés chimiques très divers allant des simples acides phénoliques jusqu'aux grands

polymères complexes tels que les tanins, la lignine et les flavonoïdes [53]. Ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles [54].

Les composés phénoliques sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature constituant ainsi des éléments dont la présence est considérable dans l'alimentation animale. A titre d'exemple, l'Homme consomme jusqu'à 10g de ces composés par jour [2]. Ces substances possèdent certaines activités rapportées dans le Tableau 1.1.

Tableau 1.1 : Activités biologiques des composés phénoliques

composés phénoliques	Activités	Auteurs
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes	[55]
	Antifongiques	[56]
	Antioxydantes	[57]
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses	[58]
Flavonoïdes	Antitumorales	[59]
	Anticarcinogènes	[60]
	Anti-inflammatoires	[61]
	Hypotenseurs et diurétiques	[62]
	Antioxydantes	[63]
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineuse	[62]
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène	[64]
	Antioxydantes	[65; 66]
	Antitumorales	[67]
	Antifongiques	[68]
	Anti-inflammatoires	[69]
Tannins galliques et catéchiques	Antioxydantes	[70; 71]

1.2.2.3. Flavonoïdes

L'ensemble des flavonoïdes est de structure générale C₁₅ (C₆-C₃-C₆) [53; 54; 72]. Cet ensemble comprend à lui seul plusieurs milliers de molécules dont certaines ont une très grande importance biologique [54].

1.2.2.4. Tanins

Les tanins sont des substances constituées par un mélange de glucoside et d'acide gallique [73]. Ils sont classés en tanins hydrolysables et en tanins condensés (catéchiques) [74].

Ces substances hydrosolubles de composition chimique variable présentent un caractère commun ; celui de coaguler les albumines, les métaux lourds et les alcaloïdes. Leur intérêt médicinal réside essentiellement dans leur caractère astringent : leur propriété de coaguler les albumines des muqueuses et des tissus qui crée ainsi une couche isolante et protectrice, ayant pour effet de réduire l'irritabilité et la douleur, et d'arrêter les petits saignements.

Les drogues riches en tanins sont employées le plus souvent en usage externe contre les inflammations de la cavité buccale, les catarrhes, la bronchite, les hémorragies locales, sur les brûlures et les engelures, les plaies, les inflammations dermiques, les hémorroïdes et la transpiration excessive.

En usage interne, elles sont utilisées en cas de catarrhe intestinal, de diarrhée, d'affections de la vésicule, ainsi, comme antidote (contre-poison) lors d'empoisonnement par des alcaloïdes végétaux [42].

1.2.2.5. Alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, doué de propriétés pharmacologiques marquées [75].

Les alcaloïdes se rencontrent dans toutes les parties de la plante, mais peuvent prédominer dans les feuilles, les graines, l'écorce ou dans les rhizomes [73].

Les alcaloïdes se conservent généralement bien dans les plantes séchées et sont responsables de la toxicité de certaines drogues. Peu d'alcaloïdes agissent sur le cœur, mais quelques-uns sont employés pour augmenter ou abaisser la pression sanguine, car leur action physiologique sur le système nerveux central s'exerce sur la circulation et sur la respiration, comme dépresseur ou comme excitant. L'action sur le système nerveux peut aller jusqu'à une action anti-spasmodique et mydriatique, anesthésique locale ou analgésique et narcotique. Ils sont aussi utilisés comme apéritifs [76], antalgiques, antitussifs et laxatifs [77].

1.2.2.6. Glucosides

Les glucosides sont des produits résultants du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont constitués de deux fractions, l'une, la plus souvent inactive contient un sucre tel que le glucose, qui exerce un effet favorable sur la solubilité du glucoside et son absorption, voire son transport vers tel ou tel organe. L'effet thérapeutique est déterminé par la seconde fraction qui est la plus active, dénommée aglycone (ou aglucone) [42].

Selon leur composition chimique et leurs actions physiologiques, les glucosides se répartissent en plusieurs groupes :

- Les glucosides sulfurés qui ont une action irritante sur la peau [78].
- Les glucosides dérivés de l'acide cyanhydrique, formés par un composé cyanhydrique lié à un sucre. L'action enzymatique les décompose (souvent dans la salive humaine) en acide cyanhydrique libre, qui est un poison.
- Les glucosides anthraquinoniques constituent le plus souvent des pigments cristallins, facilement labiles. Ils ont une action laxative 6-8 heures après leur absorption.
- Les glucosides phénoliques appartiennent à un groupe de substances qui dégagent un arôme très caractéristique. Ils sont classés à ce titre parmi les substances aromatiques.

- Les cardioglucosides sont des substances très importantes par leur action sur la régulation de l'activité cardiaque à des doses infinitésimales. Selon leur structure chimique, on distingue les cardénolides et les bufadiénols.
- Les saponines sont très communes dans les plantes médicinales. Elles se caractérisent par leurs propriétés moussantes constituant ainsi d'excellents émulsifiants. Certaines saponines possèdent la caractéristique d'hémolyser les globules rouges, expliquant ainsi l'effet toxique de certaines d'entre elles, qui les rend inconsommables. Par contre, d'autres irritent les muqueuses, provoquent un relâchement intestinal, augmentent les sécrétions muqueuses bronchiales. Elles sont également employées comme diurétiques et désinfectantes des voies urinaires [42].

1.3. Propriétés biologiques des plantes médicinales

1.3.1. Propriété antimicrobienne

Il est certain que la plupart des antibiotiques prescrits dérivent des microorganismes. Chaque année, sont mis sur le marché, un à trois antibiotiques [79] car chaque antibiotique a une durée de vie effective limitée au bout de laquelle les microorganismes développent des résistances [80; 81]. Les antibiotiques ne sont composés que d'une seule molécule chimique synthétique tandis que les huiles essentielles sont composées d'un ensemble de molécules chimiques anti-infectieuses naturelles différentes qui travaillent en synergie. Ceci explique le peu de cas de résistance des micro-organismes envers les huiles essentielles car il ne peut se produire de mutation vis-à-vis d'un nombre de substances chimiques, comme cela peut l'être vis-à-vis d'une seule molécule comme est le cas des antibiotiques [82]. Selon COWAN [83], les agents antimicrobiens d'origine végétale ont leur place dans l'arsenal de médicaments prescrits par les cliniciens.

Certains extraits et huiles essentielles de plantes ont montré leur efficacité pour le contrôle de la croissance d'une grande variété de micro-organismes, y compris celle des champignons filamenteux, des levures et des bactéries. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle est rattachée à certains

constituants reconnus comme antiseptiques tels que le thymol, phénol, carvacrol [84].

Selon BURT [85], le pouvoir antibactérien des huiles essentielles est attribuée à l'hydrophobicité de certains de ces composants qui leur permet de traverser facilement la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire en altérant sa perméabilité et entraînant des pertes anormales des ions, voire même des macromolécules.

1.3.2. Propriété antioxydante

Le stress oxydatif entraîne des dommages considérables à diverses biomolécules, y compris les protéines, les lipides, les lipoprotéines et l'ADN. Les dommages oxydatifs ont été impliqués dans plusieurs maladies humaines chroniques, notamment les maladies cardiovasculaires, les rhumatismes, le diabète et le cancer [86]. Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels en relation avec leurs propriétés thérapeutiques a augmenté considérablement. De nombreux travaux ont été réalisés dans le domaine de l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir des plantes médicinales et des produits agroalimentaires [87; 88 ; 89 ; 90].

1.3.2.1. Radicaux libres

C'est une espèce chimique (atome ou molécule) qui contient un électron non apparié [91]. Elle est comparée à un déchet toxique qu'il faut recycler en permanence pour éviter ses effets néfastes [92].

1.3.2.2. Source des radicaux libres

La première source des radicaux libres provient de l'activité cellulaire pour l'apport de l'énergie : chaque fois que nos cellules utilisent de l'oxygène, des radicaux libres se forment. Ils sont aussi produits au cours des inflammations, du stress chronique et ils augmentent lorsque le glucose sanguin est trop élevé.

La deuxième source des radicaux libres est externe. Des radicaux libres apparaissent lorsqu'on s'expose au soleil, lorsqu'on fume ou par la consommation des légumes traités avec des pesticides [92].

1.3.2.3. Conséquences de la présence des radicaux libres

Les radicaux libres sont extrêmement réactifs et capables d'altérer de nombreuses molécules telles que les acides nucléiques, les protéines et les lipides [93]. Ils favorisent l'apparition de certaines maladies dont la fréquence augmente avec l'âge : le cancer, les maladies cardiovasculaires, le diabète, la cataracte, la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer [94].

1.3.2.4. Antioxydants

Un antioxydant est une substance qui s'oppose à l'effet dévastateur des radicaux libres [95]. Il se définit comme une substance qui, se présente à en faible concentration par rapport à la cible oxydable, et est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de cette cible [91].

Les antioxydants se retrouvent entre autre dans les aliments qui contiennent de la vitamine E, du zinc, sélénium, cuivre et manganèse. Les caroténoïdes et les flavonoïdes constituent de très bons antioxydants [96]. Selon CAUSSE [92], on les rencontre également dans les terpènes des épices et des aromates.

1.3.3. Propriété anti-inflammatoire

1.3.3.1. Inflammation

L'atteinte physique de l'intégrité cellulaire, ou l'invasion d'agents pathogènes, entraîne une réponse inflammatoire. Les signaux de danger exogène produits par les microorganismes et les signaux de danger endogène émis par le corps conduisent à la production des médiateurs de l'inflammation. Les molécules produites lors du stress cellulaire contribuent à l'initiation, au contrôle et à l'entretien de l'inflammation. Les cytokines de l'inflammation dirigent le processus pendant que l'interféron l'amplifie. Les chémokines contribuent au recrutement des

leucocytes sur le foyer inflammatoire ; le processus implique aussi la participation de médiateurs lipidiques et de radicaux libres [97]. A la grande variété des agressions (traumatisme mécanique, nécrose cellulaire et infection) qu'ils peuvent subir, les tissus répondent presque toujours par l'inflammation. Le but de cette réaction est de détruire (ou de contenir) l'agent responsable du dommage, d'initier les processus de réparation et de rendre au tissu lésé sa fonction initiale [98].

Les signes classiques d'une inflammation sont : une rougeur, une chaleur, une douleur, un gonflement et une altération de la fonction [99].

1.3.3.2. Anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui antagonisent les processus inflammatoires [100]. Ils appartiennent à des classes chimiques différentes les unes des autres [101].

Le traitement de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens comme l'aspirine. Ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long cours [102].

Dans les pays en voie de développement, les plantes possédant une activité anti-inflammatoire pourraient constituer une alternative dans la thérapeutique anti-inflammatoire du fait de leur meilleure accessibilité et de leur moindre toxicité en général, vis-à-vis des anti-inflammatoires classiques [103].

Selon PARIS et MOYSE [104], les composés terpéniques confèrent à la plante des propriétés anti-inflammatoires. D'autre part, certains flavonoïdes inhibent la synthèse des prostaglandines, cette action leur confère une activité anti-inflammatoire. Les tanins catéchiques possèdent la propriété de diminuer la perméabilité capillaire, ce qui leur confère une activité anti-inflammatoire [105].

1.3.4. Propriété cicatrisante

1.3.4.1. Cicatrisation

Le processus cicatriciel est un phénomène biologique qui est automatiquement initié par l'organisme dès qu'il y a un dommage physique de n'importe quel tissu à l'exception des cellules nerveuses [106].

1.3.4.2. Phases de cicatrisation

La cicatrisation de la plaie s'effectue en quatre phases qui se chevauchent [107].

a. Phase vasculaire et inflammatoire

Cette phase se déclenche suite à la nécrose et à l'effraction vasculaire. Elle dure environ trois jours [108]. La phase inflammatoire implique la libération de cytokines et de facteurs de croissance, l'afflux de neutrophiles et de macrophages et la création d'une matrice initiale [109]. Selon AERTS et *al.*, [107], les signes cliniques de cette phase sont :

- Gonflement provoqué par la formation d'exsudat.
- Rougeur due à la vasodilatation.
- Chaleur due à la vasodilatation et à l'accroissement de la vascularisation.

b. Phase de prolifération ou phase de granulation

Cette phase dure deux jours jusqu'à trois semaines après la phase inflammatoire. Elle est caractérisée par l'angiogenèse (croissance de nouveaux vaisseaux sanguins), le dépôt de collagène [110], la formation du tissu de granulation, la réépithélialisation [108] et la contraction de la plaie. Les cellules endothéliales amorcent l'angiogenèse et les fibroblastes produisent du collagène et de la fibronectine pour former une nouvelle matrice extracellulaire dans le tissu de granulation [111, 112].

c. Phase de maturation

C'est la phase de remodelage de la matrice qui est caractérisée par la formation d'un réseau organisé [113]. Cette phase correspond à la fermeture de la plaie ainsi qu'au blanchissement de la cicatrice [108].

d. Phase de cicatrisation

Des couches de tissu plus profondes sont remplacées par du tissu conjonctif ou cicatriciel [107].

1.3.4.3. Produits cicatrisants

Les thérapies de cicatrisation biologique destinées à faciliter le rétablissement des mécanismes de réparation innés peuvent impliquer l'application d'agents biologiques actifs, tels que les biomolécules dérivées de plantes qui présentent des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes ou anti-inflammatoires [114]. Parmi ces molécules d'origine végétale, nous pouvons citer :

Les huiles essentielles ont le pouvoir de régénérer les tissus qui ont été abimés et de favoriser la cicatrisation des tissus. Leur pouvoir antiseptique leur permet de désinfecter en même temps les plaies en protégeant l'organisme des processus de décomposition, des microbes et de leurs éventuels déchets nocifs [52].

Les tanins favorisent la guérison des plaies par leurs propriétés astringentes, antimicrobiennes et anti-radicalaires [115; 116].

Les flavonoïdes sont également connus par leur pouvoir favorisant le processus de guérison des plaies résultant de leurs propriétés astringentes et antimicrobiennes. Ce groupe de molécules favorise la contraction des plaies et l'augmentation du taux de réépithélialisation [115; 116 ; 117; 118].

Les saponines sont efficaces comme produits cicatrisants en raison de leur activité antioxydante et antimicrobienne. Ils sont responsables de la contraction des plaies et du taux élevé de réépithélialisation [115; 116; 119].

1.3.5. Toxicité

Des substances végétales et leurs extraits sont soumis à des tests de toxicité afin qu'ils soient consommés en toute sécurité par l'Homme. Ces tests permettent également de déterminer la limite supérieure d'administration. Avant d'incorporer une plante dans une cure médicale, il est important de démontrer qu'elle n'est pas toxique et de la dénuer de tout effet secondaire indésirable [41].

CHAPITRE 2

MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel végétal

Le bois, les aiguilles et les cônes (cônes femelles fermés âgés de deux ans) de *Cedrus atlantica* M. ont été récoltés la matinée, dans les monts de Chréa (Atlas Blidéen) à une altitude de 1500 m (Figure 2.1) au cours de la période allant de Septembre à Décembre 2012.



Figure 2.1 : *Cedrus atlantica* M. des monts du parc national de Chréa
(Original, 2012)

Cet arbre a été identifié selon les clés de détermination de QUEZEL et SANTA [3]. Cette identification a été confirmée au niveau du Département de Botanique de l'École Nationale des Sciences Agronomiques-El Harrach (Alger) et au niveau du Jardin d'Essais d'El Hamma (Alger). Ainsi, les spécimens ont été

comparés à ceux de l'herbier du musée finlandais d'histoire naturelle (Université d'Helsinki).

Une partie de la sciure de bois, des aiguilles et des cônes du Cèdre de l'Atlas a été séchée à l'air libre, à l'abri de la lumière et de l'humidité, puis conservée dans des sacs en papier jusqu'à son utilisation. L'autre partie a été utilisée à l'état frais pour les extractions des huiles essentielles.

2.1.2. Matériel animal

Les animaux utilisés lors des tests pharmaco-toxicologiques proviennent de l'animalerie du complexe ANTIBIOTICAL du C.R.D (Saïdal d'El-Harrach) et de l'animalerie de l'institut Pasteur d'Alger (Annexe de Kouba).

Pour l'étude de l'activité anti-inflammatoire cutanée, vingt souris ont été utilisées. Ces souris Albinos sont de race NMRI (Naval Medical Research Institute), ayant un poids moyen de 25 à 28 g.

Pour l'étude de l'activité cicatrisante par excision, quinze rats Albinos ont été utilisés. Ces rats sont de race californienne, ayant un poids moyen de 160 à 200 g.

En tout, 54 lapins ont été utilisés pour le test d'irritation primaire cutanée, le test de tolérance locale après applications cutanées, l'étude de l'activité cicatrisante par scarification et l'étude de l'activité cicatrisante par brûlure. Ces lapins sont de race néo-zélandaises (Albinos), ayant un poids moyen de 2 à 2,5 kg.

2.1.3. Souches microbiennes

L'activité antimicrobienne a été évaluée sur neuf microorganismes différents. La plupart sont rencontrés dans diverses pathologies chez l'Homme :

- Les bactéries Gram positif : *Micrococcus luteus* ATCC 533, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Enterococcus faecalis* ATCC 2035, *Bacillus subtilis* ATCC 9372.

- Les bactéries Gram négatif : *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- Les champignons : *Candida albicans* ATCC 10231.

Ces souches ont été obtenues auprès du laboratoire de microbiologie du Centre de Recherche et de Développement de SAIDAL (Alger) du complexe Antibiotical SAIDAL de Médéa et de l'Institut Pasteur.

2.1.4. Matériel non biologique

L'ensemble des équipements, des verreries et des produits utilisés au cours de cette étude est mentionné en Appendice B.

2.2. Méthodologie

L'ensemble des analyses physico-chimiques a été réalisé dans le laboratoire de Post-graduation de Biologie Végétale du département de Biologie, et dans le laboratoire analytique du centre de recherche et de développement (CRD) Boumerdès. Ainsi que le laboratoire d'analyse physico-chimique de la filiale antibiotical de l'entreprise de fabrication des produits pharmaceutiques SAIDAL à Médéa.

Les tests biologiques ont été réalisés dans le laboratoire de recherche Biotechnologies, environnement et santé de la faculté des sciences de la nature et de la vie (Université Blida 1), la station expérimentale de l'école des sciences vétérinaires (Université Blida 1) et le laboratoire de Pharmacotoxicologie du centre de recherche et de développement SAIDAL (El Harrach).

2.2.1. Etude microscopique de *Cedrus atlantica* M.

Dans le but de localiser les sites sécréteurs des huiles essentielles dans les trois parties utilisées de cet arbre (bois, aiguilles et cônes femelles d'une année), une étude de la structure anatomique a été menée. Les coupes histologiques ont été confectionnées selon le protocole de MARTOJA [120] modifié par le laboratoire de recherche des zones arides (Université Ben Yousef Ben Khedda d'Alger).

2.2.1.1. Fixation

L'intérêt de la fixation est d'immobiliser les structures cellulaires dans un état le plus proche possible de l'état vivant.

L'organe doit être conservé dans le fixateur FAA (Formol Acide Alcool) composé de :

- Huit volumes d'éthanol 70°.
- Un volume de formaldéhyde.
- Un volume d'acide acétique glacial.

Après fixation, les organes sont trempés dans l'éthanol 70°. Ce dernier assure une bonne conservation des organes pendant plusieurs mois.

2.2.1.2. Déshydratation

La déshydratation consiste à éliminer toute l'eau qui se trouve dans les tissus. Elle se fait par le passage de l'organe dans des bains successifs d'éthanol à des concentrations de plus en plus croissantes :

- **1^{er} bain** : Ethanol 95° pendant 1 heure.
- **2^{ème} bain** : Ethanol 95° pendant 30 minutes.
- **3^{ème} bain** : Ethanol 100° pendant 45 minutes.
- **4^{ème} bain** : Ethanol 100° pendant 45 minutes.
- **5^{ème} bain** : Ethanol 100° pendant 1 heure.

Afin de ramollir le bois et les cônes, ces derniers sont trempés dans trois bains successifs de Butanol.

- **1^{er} bain** : Butanol pendant 1 heure.
- **2^{ème} bain** : Butanol pendant 24 heures.
- **3^{ème} bain** : Butanol pendant 24 heures.

2.2.1.3. Imprégnation

Les organes sont mis dans le toluène, qui permet d'éliminer toute trace d'éthanol et d'assurer une meilleure pénétration de la paraffine dans les tissus. Cette étape consiste à tremper les organes dans les bains suivants :

- **1^{er} bain** : Toluène + Alcool (1volume/1volume) pendant 30 minutes.
- **2^{ème} bain** : Toluène pur durant 30 minutes.
- **3^{ème} bain** : Toluène pur durant 30 minutes
- **4^{ème} bain** : Toluène pur durant 30 minutes.

Ensuite un bain de toluène additionné de paraffine fondue (1 volume /1volume) à 58°C pendant une heure. Ce bain permet à la paraffine de s'infiltrer progressivement dans les tissus.

2.2.1.4. Inclusion à la paraffine

La paraffine pure est coulée à chaud dans des moules constitués de deux accessoires : un support métallique et une cassette en plastique permettant l'inclusion de l'organe dans la paraffine. Après refroidissement de la paraffine au fond du moule, l'organe est plongé rapidement et orienté dans le sens des coupes à l'aide d'une pince chaude. Les blocs de paraffine démoulés sont mis à sécher à température ambiante ou par passage au réfrigérateur.

2.2.1.5. Confection et étalement des coupes

Les organes inclus dans la paraffine sont débités en coupes séries d'une épaisseur de 7 µm à l'aide d'un microtome manuel. Les rubans des coupes sont recueillis sur des lames propres (dégraissées avec de l'éthanol) puis étalés à l'aide d'une eau gélatineuse à 1%. Ces coupes sont déplissées sur une plaque chauffante réglée à 40°C. Les lames sont ensuite égouttées et mises à sécher à température ambiante.

2.2.1.6. Déparaffinage

Le déparaffinage sert à enlever la paraffine des tissus pour faciliter la pénétration des colorants, cette étape est assurée par trois bains de toluène :

- Un bain de toluène pur pendant 20 minutes.
- Deux bains de toluène pur à raison de 15 minutes chacun.

2.2.1.7. Réhydratation

Elle consiste à faire passer les coupes dans :

- Trois bains d'éthanol absolu pendant 10 minutes chacun.
- Un bain du mélange d'éthanol absolu /formol (4volumes/1volume) pendant 5 minutes.

Les coupes sont ensuite rincées à l'eau courante pendant une minute.

2.2.1.8. Coloration

La coloration des coupes histologiques s'est faite en se basant sur le protocole de la double coloration selon BENSALÉM-BENDJELLOUL [121]. Ce protocole comporte les étapes suivantes :

- Les coupes ont été plongées dans l'eau de Javel à 12° durant 15 minutes pour vider les cellules de leurs contenus.
- Après un rinçage à l'eau courante (20 min), les coupes ont été traitées à l'acide acétique (10%) pendant 1 à 2 min afin de faciliter la diffusion des colorants.
- Elles ont été ensuite lavées à l'eau 10 à 20 min et placées dans le vert de méthyle pendant 5 à 10 min.
- Après rinçage à l'eau courante 10 à 20 min, les coupes ont été plongées dans le rouge Congo pendant 10 min.
- Après, ces coupes ont été rincées à l'eau courante.

2.2.1.9. Montage

Il se fait par le dépôt de 2 à 3 gouttes du liquide de montage sur chaque lame. L'échantillon est ensuite recouvert par une lamelle en prenant soin d'éviter la formation des bulles d'air.

2.2.1.10. Observation

L'observation est faite sous Microscope photonique aux grossissements : G:40x et G:100x.

2.2.2. Extraction

2.2.2.1. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation de la sciure de bois, des aiguilles et des cônes, à l'aide d'un distillateur de type Clevenger pendant 4 h. Ces huiles ont été conservées au froid dans des bouteilles sombres avant leur utilisation pour les différents tests.

Le rendement en huile essentielle a été évalué par rapport à la matière sèche à partir de :

- Trois échantillons de 120 g de sciure de bois frais.
- Trois échantillons de 225 g d'aiguilles fraîches.
- Trois échantillons de 350 g de cônes frais.

2.2.2.2. Extraction des fractions polaires et apolaires

Après broyage de la matière végétale sèche (bois, aiguilles puis cônes), nous avons procédé à l'extraction au soxhlet. Le solvant utilisé est l'éther de pétrole pour la fraction apolaire et le méthanol pour la fraction polaire.

Dans le soxhlet, nous avons inséré une cartouche contenant la poudre végétale (12gr de bois, 12.07 gr d'aiguilles ou 16.75 gr de cônes). Ensuite, nous

avons introduit 300 ml d'éther de pétrole dans un ballon chauffé. L'extraction s'est poursuivie jusqu'à épuisement de la matière végétale.

Une fois l'opération terminée, la cartouche est enlevée de l'appareil à l'aide d'une pince. Après séchage de la poudre végétale, nous avons répété la même opération mais en utilisant le méthanol.

Les extraits ainsi obtenus sont filtrés et concentrés à l'évaporateur rotatif.

2.2.3. Etude analytique

Pour la caractérisation physico-chimique des huiles essentielles et des extraits du cèdre de l'Atlas, nous avons réalisé plusieurs analyses, la majorité des analyses ont été répétées trois fois.

2.2.3.1. Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau a été déterminée en plaçant des échantillons frais (bois, aiguilles et cônes) de poids déterminé dans une étuve portée à 70°C.

Les échantillons ont été pesés, à des intervalles de temps réguliers, jusqu'à l'obtention de poids constants [122].

2.2.3.2. Etude analytique des huiles essentielles

a. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles

Les différentes caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur et odeur) des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes du Cèdre de l'Atlas ont été notées.

b. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles ont été déterminées selon des protocoles précis en suivant les normes requises par l'organisation internationale de normalisation et la Pharmacopée Européenne [123; 124].

- Potentiel d'Hydrogène (pH)

Le potentiel d'hydrogène ou pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre en mesurant la différence de potentiel entre 2 électrodes plongées dans l'huile essentielle en question [125].

- Densité relative à 20°C

La densité relative d'une substance est le rapport entre la masse d'un volume donné de cette substance et la masse d'un volume égal d'eau à 20°C [124].

Un volume de 1 ml de chaque huile essentielle a été prélevé à l'aide d'une micropipette puis pesé avec une balance analytique de précision en prenant en considération le coefficient de correction de température:

$$d^{20} = \left(\frac{m_{HE}}{m_{H_2O}} \right) + (0,00073 \times [T^\circ \text{échant} - 20])$$

d²⁰ : Densité relative à 20°C.

m HE : Masse de l'huile essentielle en gramme.

m H₂O : Masse de l'eau en gramme.

T° échant : Température de l'échantillon en °C.

- Indice de réfraction à 20 °C

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux, de longueur d'onde déterminée, passant de l'air à l'huile essentielle [124].

Le réfractomètre a été réglé en mesurant l'indice de réfraction de l'eau distillée qui doit être de 1,333 à une température de 20°C. Après ouverture du prisme secondaire, une goutte d'huile essentielle à analyser a été déposée au centre.

La lecture a été réalisée à une température (T'). Le calcul de l'indice de réfraction, à la température de référence qui est de 20 °C, est effectué selon l'équation suivante :

$$(IR) = nt' + 0,0004 (20 - T')$$

nt' : valeur de lecture obtenue à la température T'.

T' : température en °C de l'échantillon.

- Indice d'acide

C'est la quantité d'hydroxyde de potassium (KOH) en mg nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle. Les acides libres sont neutralisés par une solution éthanolique titrée de KOH [123].

Une prise d'essai de 2 g de l'huile essentielle à analyser a été introduite dans un ballon. Un volume de 5 ml d'éthanol (95°) avec 5 gouttes d'indicateur coloré (rouge de phénol) ont été ajoutés. L'ensemble a été titré avec une solution de KOH (0,02 mol/l) à l'aide d'une burette, jusqu'à obtention d'un virage de couleur persistant durant 30 sec. A la fin, le volume de la solution KOH utilisée a été noté [124].

Le calcul de l'indice d'acide a été fait selon l'équation suivante :

$$IA = \frac{V \times C \times 56,11}{m}$$

V : volume (ml) de KOH utilisé pour le titrage

C : concentration (mol/l) de KOH

m: masse (g) de la prise d'essai

- Indice d'ester

L'indice d'esters est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la saponification des esters présents dans 1 g de substance.

La solution provenant de la détermination de l'indice d'acide a été introduite dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux. Une quantité de 25 ml de solution KOH (0,5 mol/l) a été ajoutée. Après une heure de chauffage puis refroidissement. Un volume de 20 ml d'eau et 5 gouttes de solution de rouge de phénol ont été ajoutés. La titration de l'excès de KOH est effectuée avec une solution d'acide chlorhydrique (0,5 mol/l).

Un essai à blanc (eau distillée au lieu de l'huile essentielle) dans les mêmes conditions a été réalisé. L'indice d'ester est calculé par l'équation suivante [124]:

$$IE = 28,05 (V_0 - V_1)$$

V_0 : volume (ml) de solution d'HCl (essai de l'eau distillée)

V_1 : volume (ml) de solution d'HCl (essai de l'huile essentielle)

- Miscibilité à l'éthanol

La miscibilité des huiles essentielles a été déterminée dans de l'éthanol à 90°. Un volume de 1ml de chaque huile essentielle a été mis dans un tube à essai. L'ajout de l'éthanol a été fait par titration avec agitation continue. La miscibilité a été évaluée par la détermination du volume de l'éthanol nécessaire à la disparition du trouble dans le mélange huile essentielle/éthanol [123].

c. Analyse des huiles essentielles par CG/SM

L'analyse des huiles essentielles a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM). Le couplage a été effectué entre un chromatographe de type « HP-6890 série II » et un spectromètre de masse « 5973 N MS, ionisation par impact électronique ».

Cette analyse a été réalisée dans les conditions suivantes :

- Injection manuelle (mode Split)
- Température de l'injecteur : 250°C
- Colonne HP-5 (5% phenylmethylsiloxane) de 30m de longueur et 0.32 mm de diamètre, l'épaisseur du film 0.25 µm avec une pression de 1bars.

Programmation de la température du four :

- $T_i = 38^\circ\text{C}$.
- Une pente de $6^\circ\text{C}/\text{min}$ jusqu'à $T_f = 250^\circ\text{C}$.

2.2.3.3. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ont été déterminés en utilisant le réactif de Folin Ciocaltheu selon la méthode de KAHKONEN et *al.*, [126] et MOHD-ESA et *al.*, [127].

Un volume de 0,2 ml de chaque extrait méthanolique (1mg/ml) a été mélangé avec 1ml du réactif de Folin Ciocaltheu dilué au 1/10, puis additionné de 0,8 ml de solution de Bicarbonate de Sodium à 7,5%. Le mélange a été laissé à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance a été mesuré à 765 nm, en utilisant un Spectrophotomètre UV-Visible (WPA Lightwave II).

Les résultats des composés phénoliques sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide Gallique dans un gramme de matière sèche.

2.2.3.4. Flavonoïdes

Le taux des flavonoïdes a été déterminé selon la méthode de KUMARAN et KARUNAKARAN [128] et ABDEL-HAMEED [129].

Cette méthode est basée sur la formation d'un complexe « Aluminium-Flavonoïde » ayant une absorption maximale à 415 nm. Une quantité de 100 μl de chaque extrait méthanolique (10mg/ml) a été mélangée avec 100 μl de trichlorure d'aluminium dilué à 20% dans du méthanol additionné d'une goutte de l'acide acétique. Le volume obtenu a été ajusté avec du méthanol jusqu'à 5 ml. L'absorbance a été mesuré après 40 min.

Le blanc a été préparé avec 100 μl de l'extrait méthanolique et l'acide acétique (une goutte) ajusté avec du méthanol jusqu'à 5 ml.

L'absorption de la solution standard de Rutine diluée dans le méthanol (0,5 mg/ml) a été mesurée dans les mêmes conditions.

Le contenu de l'extrait méthanolique en flavonoïdes a été calculé en équivalent de Rutine par la formule suivante :

$$X=(A.m_0)/(A_0.m)$$

X : teneur en flavonoïdes (mg/mg de l'extrait méthanolique en équivalent Rutine)

A : absorption de la solution de l'extrait méthanolique

A₀: absorption de la solution standard de Rutine

m : poids de l'extrait méthanolique (mg)

m₀: poids de la Rutine (mg)

2.2.3.5. Tanins

a. Analyse qualitative

Une quantité de 100 mg de chaque extrait méthanolique a été diluée dans 10 ml de méthanol 80%. Après agitation, chaque solution obtenue a été mise dans un tube. L'ajout de FeCl₃ 01% permet de détecter la présence ou l'absence de tanins .La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques [130 ; 131].

b. Analyse quantitative

Les tanins condensés (catéchiques) ont été déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide [132]. Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré dont l'absorbance est mesurée à 500 nm.

Un mélange de 0,5 ml d'une solution aqueuse à base de chaque extrait méthanolique (5mg/ml pour l'extrait des aiguilles et 10mg/ml pour l'extrait des cônes) et 4,5 ml du réactif de vanilline (mélange de 3 ml de vanilline à 4% dans le méthanol et 1,5 ml d'HCl) a été maintenu à 20°C pendant 15 min avant la détermination de l'absorbance à 500 nm.

Les blancs ont été préparés en remplaçant le réactif par le mélange méthanol-acide.

La catéchine a été utilisée comme standard et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche.

2.2.3.6. Saponines

Leur présence a été déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse qui correspond au degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminés. Deux gramme de chaque matière végétale sèche broyée ont été utilisés pour préparer une décoction avec 100 ml d'eau. Le mélange a été porté à ébullition pendant 30 min, après refroidissement et filtration, la décoction a été réajustée à 100 ml avec de l'eau distillée. A partir de cette solution mère, 10 tubes (1,3 cm de diamètre interne) ont été remplis de 1, 2, 3,...10 ml. Le volume final étant réajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chacun des tubes a été agité énergiquement en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15 min en position verticale, la hauteur de la mousse persistante a été relevée en cm. Si elle est proche de 1 cm dans le X^e tube, alors l'indice de mousse est calculé par la formule suivante :

$$I = \text{hauteur de mousse (en cm) dans le X}^e \text{ tube} \times 5 / 0,0x$$

La présence de saponines dans la matière végétale est confirmée avec un indice supérieur à 100 [131].

2.2.4. Crèmes dermiques

2.2.4.1. Formulation des crèmes dermiques

La forme pharmaceutique choisie est une préparation semi-solide, qui est selon la PHARMACOPEE EUROPEENNE [124] destinée à être appliquée sur la peau ou sur certaines muqueuses afin d'exercer une action locale ou transdermique de substances actives.

La préparation semi-solide confectionnée est de type crème hydrophile (émulsion Lipophile / Hydrophile) où la phase continue ou dispersante est aqueuse et les gouttelettes de la phase huileuse sont dispersées [105]. Les crèmes hydrophiles constituent généralement les préparations de choix pour le traitement des dermatoses aiguës et subaiguës et elles peuvent être appliquées

sur une peau humide [133]. Il est à noter aussi que le principe de base impliqué dans la cicatrisation des plaies est de fournir un environnement de cicatrisation humide pour restaurer la continuité anatomique et la fonction de la partie touchée [134].

Selon KALOUSTIAN et HADJI-MINAGLOU [97], la nature de l'excipient joue un rôle dans la pénétration transcutanée des molécules aromatiques. En effet, une molécule passera d'autant mieux la barrière cutanée qu'elle a peu d'affinité pour son support. Ainsi le véhicule idéal pour une molécule lipophile est de nature hydrophile.

Afin de tirer profit des propriétés antihyperalgésiques des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas [16 ; 17], l'émulsion lipophile/hydrophile constitue le meilleur choix car selon KALOUSTIAN et HADJI-MINAGLOU [97], ce type d'émulsion permet une distribution systémique via la circulation sanguine générale, contrairement à l'émulsion hydrophile/lipophile qui permet une pénétration et une diffusion localisées.

Les ingrédients utilisés lors de la formulation des crèmes sont consignés dans le Tableau suivant :

Tableau 2.1 : Composition des crèmes dermiques à base des huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas [124 ; 135]

	Excipients	Synonymes	Rôles	Points de fusion	(%)
Phase huileuse	Huile de vaseline	Paraffine liquide ou huile de paraffine	constituant de base utilisé pour sa consistance	38°-60°C	15
	Macrogol 1000	Polyoxyéthylène	Emulsifiant, gélifiant et agent de solubilisation pour les huiles essentielles	44-45°C	5
	Acide stéarique	Stéarine	Émulsifiant de type L/H et excellent facteur de consistance	69°-70°C	4
	Alcool cétylique	Alcool hétérocyclique	Agent de consistance dans les crèmes et améliorant de stabilité dans les émulsions L/H	46°-52°C	4
	Alcool cétostéarylique	Emulgine	Agent de consistance, augmente la viscosité et agit comme émulsifiant L/H, H/L.	49°-56°C	2
	Huile essentielle (bois, aiguilles ou cônes)				0,3
Phase aqueuse	Eau distillée				65
	Glycérine	Glycérol	humectant et émollissant	8-17°C	5
	Trolamine	Tri-éthanolamine	Régulateur de pH et agent émulsifiant	20°-21°C	quantité suffisante pour atteindre un pH=7

Les trois crèmes dermiques ont été préparées selon le protocole de fabrication d'une émulsion classique [136] :

- Préparation de la phase huileuse par le dépôt des quantités appropriées d'huile de vaseline, de Macrogol 1000, d'acide stéarique, et des tensioactifs (alcool cétylique et alcool cétostéarylique) dans un bécher.

- Préparation de la phase aqueuse par le mélange de l'eau distillée avec la glycérine dans un autre bécher.

- La mise des deux béchers contenant les deux phases au bain-marie à 70°C jusqu'à fusion complète de tous les composés.

- Le mélange des deux phases à l'aide d'un homogénéisateur, en versant un mince filet de la phase hydrophile dans la phase lipophile. Les deux phases doivent être à la même température afin d'éviter la formation des grumeaux.

- L'émulsification est l'étape critique qui permet de fractionner les gouttelettes de la phase dispersée (huileuse). Elle est réalisée toujours sur le mélange des deux phases à chaud jusqu'au refroidissement. Le battage violent n'est pas recommandé, car il introduit de l'air dans l'émulsion. Ce qui nuit à la conservation.

- L'ajout des huiles essentielles des aiguilles, du bois et des cônes séparément à une température ambiante (25-30°C), sous une homogénéisation continue.

- L'ajout du trolamine sous agitation modérée afin d'amener la valeur de pH à 7.

2.2.4.2. Contrôle des crèmes dermiques

Plusieurs analyses ont été effectuées afin de définir les caractéristiques des préparations topiques obtenues selon des méthodes homologuées [137].

a. Contrôle organoleptique

Ce contrôle a consisté à l'appréciation de la texture, de l'odeur et de la couleur des trois crèmes préparées.

b. Contrôle d'homogénéité

Concernant le contrôle de l'homogénéité, une demi-heure après la préparation des crèmes, une goutte de chacune de ces dernières est placée entre lame et lamelle pour l'observation microscopique afin d'apprécier l'homogénéité de l'émulsion.

c. Contrôle physico-chimique

- Détermination du pH

Le potentiel d'hydrogène a été déterminé à l'aide d'un pH -mètre équipé d'une électrode après dilution de chaque crème au $1/10^{\text{ème}}$ dans de l'eau distillée.

- Evaluation de la stabilité et du vieillissement accéléré

L'instabilité des crèmes a été appréciée par l'observation de la coalescence des gouttes ou le déphasage après 30 mn de centrifugation à vitesse constante (4500 tr/mn).

d. Contrôle microbiologique

Afin de vérifier la conformité des produits aux critères microbiologiques, nous avons utilisé les méthodes décrites par la Pharmacopée Européenne [138]. Ces méthodes ont pour objectif la recherche et le dénombrement des germes aérobies viables totaux et la recherche des germes spécifiés.

Pour éviter toute contamination extrinsèque des produits à examiner, Les essais ont été effectués dans des conditions d'asepsie ; sous une hotte à flux laminaire.

- Recherche et dénombrement des germes aérobies viables totaux

· Préparation des échantillons

La préparation des échantillons dépend des caractéristiques physico-chimiques de ces dernières. Les crèmes préparées sont insolubles dans l'eau. La préparation des dilutions au 1/10^{ème} a été effectuée en mettant en suspension 10 g de chaque crème dans une solution tampon peptonée au chlorure de sodium au pH 7,0 (90ml) additionnée d'un agent tensioactif (polysorbate 80) à la concentration de 1 g/l pour faciliter la mise en suspension.

· Filtration sur membrane

Des quantités de 10 ml de chaque solution mère (équivalent de 1g de produit) ont été introduites dans le dispositif de filtration sous vide puis filtrées rapidement à travers des membranes filtrantes ayant une porosité de 0,45 µm.

· Incubation des membranes filtrantes

La membrane destinée au dénombrement des bactéries a été déposée à la surface d'un milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja (TSA) puis incubée à 30-35 °C durant 3 à 5 jours. L'autre membrane destinée au dénombrement des moisissures et des levures a été déposée à la surface d'un milieu Sabouraud dextrose-gélosé puis incubée à 20-25 °C pendant 5 à 7 jours.

- Recherche et dénombrement des microorganismes spécifiés

La recherche des microorganismes spécifiés a été réalisée par l'emploi de certains milieux sélectifs.

· Recherche des Entérobactéries et certaines autres bactéries Gram négatif

Chaque crème à analyser a été diluée au 1/10^{ème} dans un milieu nutritif (Bouillon lactosé) puis incubée à 35°C pendant 2 heures. Après agitation, un volume de 1 ml du milieu préparé est introduit dans un milieu d'enrichissement (Mossel) puis incubé à 35°C pendant 18 à 48 h. Des subcultures ont été faites sur

un milieu d'isolement (VRBG). Ces dernières ont été incubées à 35°C pendant 24 h.

Ø Recherche d'*Escherichia coli*

La solution mère a été préparée en diluant 10 g de chaque crème dans 90 ml de milieu liquide aux peptones de caséine et de soja (Bouillon soja). Après incubation à 35°C pendant 24 h, un volume de 1 ml est ensemencé dans 100 ml de milieu liquide de bouillon soja (BS). L'incubation est faite à 43°C pendant 24 h. Après, des subcultures ont été faites sur milieu gélosé de Mac Conkey. Ces dernières ont été incubées à 35°C pendant 24 à 72 h. La croissance de colonies rouges indique la présence possible d'*E. coli*. La confirmation se fait par des tests biochimiques appropriés.

Ø Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*

A partir de la solution mère précédemment détaillée, des subcultures sur milieu Cétrimide ont été préparées puis incubées à 35°C pendant 72 heures. L'apparition de colonies bleue à bleu vert indique la présence éventuelle de *Pseudomonas aeruginosa*. La confirmation se fait par des tests biochimiques appropriés.

Ø Recherche de *Staphylococcus aureus*

L'étape d'enrichissement a été faite de la même manière que celle précédemment décrite. Les subcultures ont été préparées sur milieu sélectif Chapman avec une température d'incubation de 35°C pendant 24 h. la présence de colonies jaunes ou blanches entourées d'une zone jaune indique la présence possible de *S. aureus*. La confirmation se fait par des tests d'identification.

Ø Interprétation des résultats

Les crèmes dermiques satisfont aux normes de la Pharmacopée Européenne [138] si :

- Le nombre de germes aérobies totaux ≤ 200 UFC/g.
- Le nombre total de moisissures et de levures ≤ 20 UFC/g.

- Le nombre d'entérobactéries $\leq 10\text{UFC/g}$.
- Il y a absence de colonies sur les différents milieux sélectifs.

2.2.5. Tests biologiques

2.2.5.1. Activité antiradicalaire

Plusieurs méthodes sont utilisées pour mesurer le pouvoir antioxydant des extraits de plantes [139 ; 140]. Dans cette étude, pour évaluer l'activité antiradicalaire des extraits méthanoliques, la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil) a été adoptée [141; 142; 143; 144].

Le principe se résume à la réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil par les substances antiradicalaires.

L'expérimentation a été effectuée en utilisant un spectrophotomètre UV-VIS à longueur d'onde de 517 nm. La solution de DPPH est obtenue en dissolvant 2 mg de la poudre dans 50 ml de Méthanol. Un volume de 2ml de la solution de DPPH a été ajouté à 100 μl d'une solution contenant les antioxydants de référence à différentes concentrations (Acide Gallique, Rutine, Quercetine, α tocophérol et acide ascorbique). Les extraits méthanoliques ont été préparés selon la même méthode. La mesure de la variation de l'absorbance a été faite après 30 min à l'obscurité.

Le pourcentage d'inhibition de l'activité oxydante est calculé selon la formule suivante [145; 146; 147]:

$$\text{SC} = \left\{ \frac{\text{Absorbance du témoin} - \text{Absorbance de l'antioxydant}}{\text{Absorbance du témoin}} \right\} \times 100$$

Le graphique du Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration a permis de déterminer la SC 50 (concentration correspondant à 50% d'inhibition).

2.2.5.2. Activité antimicrobienne

Cette partie traite de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes, ainsi que les extraits méthanoliques des aiguilles

et des cônes du cèdre de l'Atlas en la comparant avec celle du Chloramphénicol 30µg et l'Amphotéricine B (10 µg/disque). Afin de déceler leur pouvoir antimicrobien, nous avons adopté la méthode de diffusion sur gélose selon RIOS et *al.*, [148], FRENEY et *al.*, [149] et NAJJAA et *al.*, [150].

Les huiles essentielles ont été testées à l'état pur tandis que les extraits méthanoliques ont été dilués dans la DMSO (Diméthyl de sulfoxyde) à une concentration de 300 mg /ml.

Les microorganismes de référence ont étéensemencés sur un milieu Gélose nutritive pour les bactéries et sur un milieu Sabouraud pour les champignons. Ensuite, deux à trois colonies isolées ont été prélevées et introduites dans 5 ml d'eau physiologique stérile. La concentration des suspensions utilisées a été unifiée en ajustant la densité optique à 0,5 à 570 nm.

A l'aide d'un écouvillon, une quantité de la suspension de bactéries ou de champignons a été prélevé pour ensemencer le milieu de culture adéquat pour chaque type de microorganisme (Muller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons). Des disques absorbants stériles de 6 mm imprégnés de 10 µl de chaque solution à tester ont été déposés sur les géloses inoculées de souches à raison de trois disques par boîte pour chaque solution.

Après incubation à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 25°C pendant 48h pour les champignons, l'activité antimicrobienne a été évaluée par la mesure de la zone d'inhibition qui correspond au diamètre de la zone où la croissance microbienne est visiblement absente en prenant en considération le diamètre de 6 mm du disque utilisé.

Des contrôles négatifs ont été préparés en utilisant des disques imprégnés du solvant utilisé pour la dilution de l'extrait méthanolique (DMSO).

Une analyse de la variance à un seul facteur (ANOVA), suivi du test Post hoc (Tukey) ont été réalisés par le logiciel SPSS 17.00 (niveau de signification fixé à 5%) afin d'étudier d'homogénéité des zones d'inhibition semblables.

2.2.5.3. Test d'irritation primaire cutanée

Le test d'irritation primaire cutanée est fondée sur l'observation des réactions cutanées provoquées par l'application unique d'un produit. Les effets s'échelonnent d'une légère rougeur (érythème) à des modifications sévères comme l'œdème, l'escarre, la nécrose, l'hyperplasie ou l'effet corrosif [151].

Ce test a été réalisé sur neuf lapins répartis sur trois lots (à raison de trois lapins par lot) :

1^{er} lot : Les lapins ont été traités par l'huile essentielle du bois du cèdre de l'Atlas.

2^{ème} lot : Les lapins ont été traités par l'huile essentielle des aiguilles du cèdre de l'Atlas.

3^{ème} lot : Les lapins ont été traités par l'huile essentielle des cônes du cèdre de l'Atlas.

La veille de l'application des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas, les flancs des lapins ont été tondus avec précaution de manière à éviter toute irritation. Trois scarifications parallèles de l'épiderme sur une longueur d'environ 5 cm, espacées de 0.5 cm ont été pratiquées au niveau du flanc droit de chaque animal. Une heure plus tard, une quantité de 0,5 g d'huile essentielle a été appliquée directement sur la peau (zones scarifiées et non scarifiées).

L'irritation primaire cutanée a été appréciée aux sites d'application à l'aide d'une échelle d'évaluation numérique permettant de coter les érythèmes et la formation d'œdèmes (Tableau 2.2) après 24 h. L'indice IPC est calculé par la formule suivante :

$$\text{IPC} = \text{Somme des valeurs de l'érythème et de l'œdème} / 6 \text{ (2 flancs pour 3 lapins)}$$

Tableau 2.2 : Echelle de cotation de l'irritation primaire cutanée

Echelle	Erythème et formation d'escarres	Formation d'œdème
0	Pas d'érythème	Pas d'œdème
1	Léger érythème (à peine visible)	Très léger œdème (à peine visible)
2	Erythème bien visible	Léger œdème (contours bien définis et gonflement apparent)
3	Erythème important	Œdème moyen (épaisseur environ 1 mm)
4	Erythème grave (rouge pourpre) avec ou sans escarres (lésions profondes)	Œdème grave (épaisseur supérieure à 1 mm et surface supérieure à celle de la zone d'application)

Selon la gravité des effets observés, les produits sont classés en ;

- Non irritant : $IPC \leq 0,5$.
- Légèrement irritant : $0,5 < IPC \leq 2$.
- Irritant : $2 < IPC \leq 5$.
- Très irritant : $5 < IPC \leq 8$ [152].

2.2.5.4. Test de tolérance locale après applications cutanées itératives

Cette méthode est utilisée pour apprécier l'agressivité superficielle cutanée d'un produit par applications itératives, en système ouvert, pendant vingt-huit jours consécutifs [151].

Quatre lots de trois lapins chacun ont été constitués. Les flancs de chaque animal ont été tondus sur 8 centimètres de largeur et 15 centimètres de longueur, en laissant intact le poil présent au niveau du rachis, afin de bien séparer les deux plages, la droite et la gauche.

Les lapins des trois premiers lots ont été traités respectivement par la crème dermique à base de l'huile essentielle du bois, la crème dermique à base de l'huile

essentielle des aiguilles et enfin la crème dermique à base de l'huile essentielle des cônes. Alors que les lapins du 4^{ème} lot ont servi de témoins.

Les crèmes ont été appliquées durant 28 jours consécutifs sur le flanc droit des lapins à raison de 4 g par animal et par jour.

Il nous est apparu utile de tester des crèmes avec des doses plus élevées en huiles essentielles (0,5%), de façon à faire apparaître les effets nocifs.

Pendant la période de traitement, des examens cliniques ont été réalisés quotidiennement en faisant des observations macroscopiques des flancs traités. Ce test peut mettre en évidence certains effets tels que le dessèchement, la desquamation ou les gerçures de la peau liés aux propriétés dégraissantes des substances [152].

2.2.5.5. Activité anti-inflammatoire

Cette technique repose sur la détermination de l'action inhibitrice des crèmes dermiques à base des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas à 0,3% sur des inflammations cutanées provoquées par l'application locale d'un produit à base d'huile de croton sur les oreilles des souris. Les étapes suivies sont celles du protocole de BACKHOUSE et *al.*, [153].

La solution irritante à base d'huile de croton a été préparée en mélangeant 1 ml d'huile de croton avec 19 ml d'Acétone. Le produit de référence utilisé (témoin positif) est le gel de Diclofenac de Sodum à une concentration de 1%.

Ce test a été réalisé sur 20 souris maintenues à jeun pendant 18h avant le début de l'expérience. Ces souris ont été réparties sur quatre lots:

- 1^{er} lot :** Les oreilles droites des souris ont été traitées par la crème dermique à base de l'huile essentielle du bois du cèdre de l'Atlas à 0,3%.
- 2^{ème} lot :** Les oreilles droites des souris ont été traitées par la crème dermique à base de l'huile essentielle des aiguilles du cèdre de l'Atlas à 0,3%.

3^{ème} lot : Les oreilles droites des souris ont été traitées par la crème dermique à base de l'huile essentielle des cônes du cèdre de l'Atlas à 0,3%.

4^{ème} lot : Les oreilles droites des souris ont été traitées par le produit de référence (Gel de Diclofenac de Sodum à 1%).

- Au temps T_0

Une quantité de 10 μ l de la solution irritante a été appliquée sur la surface interne du pavillon de l'oreille droite et gauche de chaque souris avec une micropipette, puis frottée de bas en haut avec du coton.

Une quantité de 0.5 mg des crèmes à base des huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas à 0,3% et du produit de référence a été appliquée sur l'oreille droite de chaque souris des lots 1, 2, 3 et 4. Sachant que l'oreille gauche de chaque souris sert de contrôle.

- Au temps $T_0 + 4h$

Les souris ont été sacrifiées puis les oreilles droite et gauche de chaque souris ont été sectionnées suivant l'arête cartilagineuse. Des disques de 6 mm de diamètre ont été coupés de chaque oreille. Ces disques ont été pesés en utilisant une balance de précision (Figure 2.2).

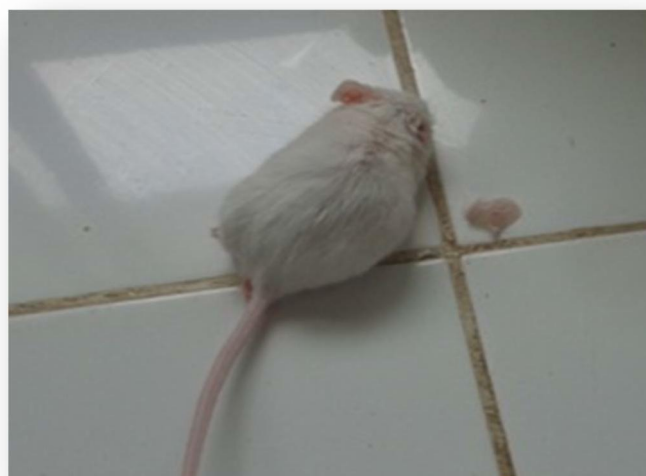


Figure 2.2 : Souris sacrifiée avec oreille coupée (Original, 2014)

- Lecture

Les moyennes arithmétiques massiques des disques des oreilles droites et des oreilles gauches ont été calculées pour chaque lot. Le pourcentage de réduction de l'œdème des oreilles traitées par rapport au contrôle a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Réduction de l'œdème (\%)} = [(OG - OD)/OG] \times 100$$

OD : moyenne des poids des oreilles droites

OG : moyenne des poids des oreilles gauches

- Etude statistique

L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel statistique (SPSS Statistics 17.0).

La première analyse a concerné la comparaison du poids des oreilles traitées et non traitées dans chaque lot de souris afin de déterminer l'efficacité de chaque traitement en utilisant le test t de Student. Une différence significative est représentée par un Sig < 0,05 ; n=5, représente le nombre d'expériences par groupe.

Une deuxième analyse a été effectuée par la comparaison des pourcentages de réduction des œdèmes traités par les quatre produits testés par l'application d'un test ANOVA (Analyse de variance).

Avec un seuil de signification $\alpha = 0,05 \%$ et avec les probabilités suivantes :

- Si Sig > 0.05 : la différence est non significative.
- Si Sig < 0.05 : la différence est significative.

2.2.5.6. Activité cicatrisante

Le pouvoir cicatrisant des crèmes dermiques formulées à base des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas, du Madécassol® et du Placebo a été testé par trois méthodes différentes :

a. Méthode de scarification

Ce test a pour objectif d'évaluer la cicatrisation des scarifications traitées par les trois crèmes formulées à base des huiles essentielles (0,3 %) du Cèdre de l'Atlas en comparant les résultats avec ceux des témoins positifs et négatifs selon la méthode décrite par Arvouet-Grand et *al.*,[152].

L'étude a porté sur cinq lots de trois lapins chacun, préalablement rasés sur les deux flancs. Une série de trois scarifications parallèles sur une longueur d'environ 5 cm, espacées de 0,5 cm environ a été appliquée sur chaque flanc.

Les lapins des trois premiers lots ont été traités respectivement avec la crème à base de l'huile essentielle du bois, la crème à base de l'huile essentielle des aiguilles et la crème à base de l'huile essentielle des cônes. Les lapins du quatrième lot ont été traités avec le produit de référence Madécassol® qui a servi de témoin positif et les lapins du cinquième lot ont été traités avec le Placebo qui a servi de témoin négatif. Ces produits ont été appliqués quotidiennement à raison de 5g sur le flanc droit de chaque animal pendant 14 jours alors que le flanc gauche a servi de témoin.

Des observations macroscopiques ont été réalisées avant chaque nouvelle application sachant que ces dernières tenaient compte des paramètres suivants :

- L'évolution de la longueur de la plaie
- La présence ou l'absence de bourgeon
- L'adhésion des parois
- L'apparition ou non d'œdème

Une échelle de cotation (Tableau 2.3) a été établie pour suivre l'évolution du processus de la cicatrisation.

Tableau 2.3 : Échelle de cotation de l'évolution de la cicatrisation des plaies

Échelle	Cicatrisation
0	Absente
1	Légère
2	Moyenne
3	Bonne
4	Excellente

- Etude statistique

La première analyse a été réalisée par comparaison des longueurs des plaies traitées et non traitées de chaque lot de lapins afin de déterminer l'efficacité de chaque traitement en utilisant le test t de Student. Une différence significative est représentée par un p ou Sig (bilatérale) < 0,05.

Une deuxième analyse a été effectuée par la comparaison de l'évolution de la cicatrisation des plaies de scarification traitées par les cinq produits testés par l'application d'un test ANOVA (Analyse de variance).

Avec un seuil de signification $\alpha = 0,05 \%$ et avec les probabilités suivantes :

- Si Sig > 0.05 : la différence est non significative.
- Si Sig < 0.05 : la différence est significative.

Une troisième analyse a été exécutée (test post hoc) afin de comparer l'efficacité des produits en examinant les échantillons deux à deux. Le test de Tukey, quant à lui, a permis de déterminer les sous-ensembles homogènes.

b. Méthode d'excision

Cette étude a pour but d'évaluer la cicatrisation chez les rats après excision de la peau et application des trois crèmes à base des huiles essentielles (0,3 %) du Cèdre de l'Atlas, du Madécassol et du placebo selon la méthode décrite par Arvouet-Grand et al.,[152].

Lors de l'expérimentation, les rats ont été répartis en trois lots de cinq rats chacun, comme il est indiqué ci dessous:

- 1^{er} lot :**
- La 1^{ère} plaie de chaque rat n'est pas traitée.
 - La 2^{ème} plaie de chaque rat est traitée par le placebo.
- 2^{ème} lot :**
- La 1^{ère} plaie de chaque rat est traitée par la crème dermique à base de l'huile essentielle du bois.
 - La 2^{ème} plaie de chaque rat est traitée par la crème dermique à base de l'huile essentielle des aiguilles.
- 3^{ème} lot :**
- La 1^{ère} plaie de chaque rat est traitée par la crème dermique à base de l'huile essentielle des cônes.
 - La 2^{ème} plaie de chaque rat est traitée par le Madécassol.

Après injection intramusculaire de la kétamine (2 ml/kg), deux plaies circulaires d'environ 2 cm² de surface ont été réalisées dans la partie dorsale de chaque rat (préalablement rasé) à l'aide d'une poinçonneuse à main.

Chaque animal a été placé dans une cage individuelle où il recevait de la nourriture et de l'eau durant toute la période du traitement.

Les crèmes dermiques ont été appliquées quotidiennement pendant 14 jours. L'observation macroscopique réalisée avant chaque nouvelle application a tenu compte des cinq paramètres suivants :

- La surface de la plaie.
- La profondeur de la plaie.
- L'apparition ou non de bourgeon.
- L'apparition ou non d'œdème.
- L'épaisseur de la croûte et son renouvellement.

La surface des plaies déterminée par le logiciel AutoCAD 2010 est exprimée en centimètres carré. Ainsi, le pourcentage de contraction des plaies a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de contraction} = (S_{j_0} - S_{j_n}) \times 100 / S_{j_0}$$

S_{j_0} : surface de la plaie au jour J_0 .

S_{j_n} : surface de la plaie au jour j_n .

Afin de suivre l'évolution du processus de cicatrisation en tenant compte des quatre paramètres restants. Chacun de ces derniers a été évalué par des valeurs numériques de 0 à 4 comme l'indique le tableau suivant :

Tableau 2.4: Echelle de cotation de la cicatrisation [152]

		Paramètre			
		Profondeur	Bourgeon	Œdème	Epaisseur de la croûte
Echelle	0	Profondeur Nulle	Absence de bourgeon	Pas d'œdème	Pas de croûte
	1	Légèrement creusé	Petit bourgeon	Très léger œdème	Début de croûte
	2	Peu profond	Gros bourgeon central	Œdème visible	Croûte en voie d'épaississement
	3	Assez Profond	Bourgeonnement massif	Œdème moyen	Croûte épaisse
	4	Très profond	Excès de bourgeonnement	Œdème grave	Croûte très épaisse, granuleuse et bombée

Dans l'étude statistique, la comparaison entre les pourcentages de contraction des plaies soignées par les différents produits testés après 14 jours de traitement est faite par une analyse de variance à un seul facteur (ANOVA).

La comparaison deux à deux entre les pourcentages de contraction des plaies soignées par les différents produits est effectuée par le test post hoc.

c. Méthode de brûlure thermique

Le principe de cette étude consiste à l'application des produits à tester et du produit cicatrisant de référence sur des brûlures thermiques préalablement provoquées [154].

La veille de l'expérimentation, neufs lapins albinos répartis en trois lots ont été tondus sur toute la partie dorsale parallèle à l'axe vertébrale, par une tondeuse électrique, afin de dégager une surface d'environ 20 x 8 cm. La surface rasée a été nettoyée avec de l'éthanol à 70%.

Le jour du test, les animaux ont été anesthésiés par injection intramusculaire de Calmivet® (Acepromazine 0.4%; 0.4 mg / kg, I.M.) et de kétamine (0.3 ml/kg, I.M.) sur le flanc droit, afin de provoquer une bonne sédation. L'anesthésie a été complétée par une infiltration d'un anesthésique local Xylocaïne® (Lidocaine à 20 mg/ml) au niveau des surfaces à brûler.

Les lapins ont été brûlés à l'aide d'une masse lot (tige métallique à base circulaire de 2 cm de diamètre). Cette dernière a été chauffée au bain marie durant 3 min à une température de 100°C, afin de provoquer une brûlure. Les brûlures ont été appliquées dans six endroits espacés de 5 cm répartis sur les deux côtés situés à environ 4 cm de la ligne médiane dorsale, allant de la tête vers la queue.

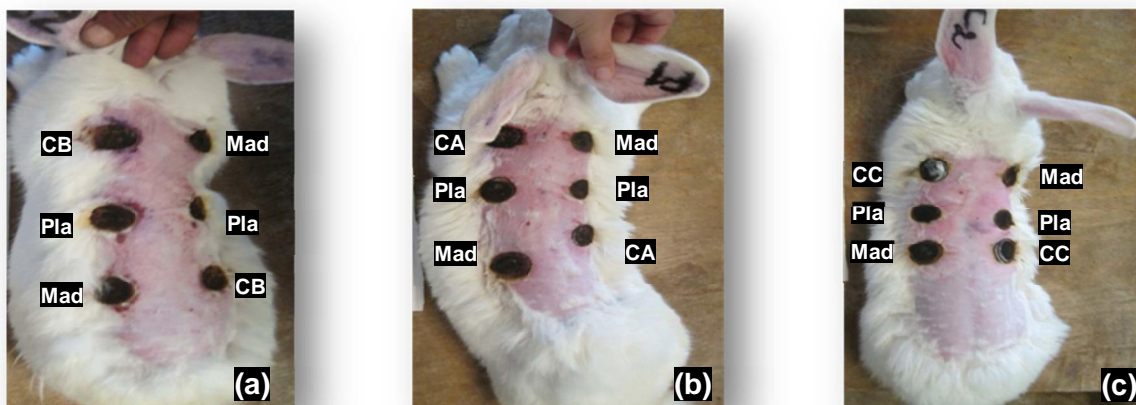
Le traitement des brûlures a été fait par application de 0.7g de chaque crème dermique de façon biquotidienne (matin et soir) pendant 30 jours. L'application des traitements a été effectuée comme suit (Figure 2.3) :

- La première brûlure à droite et la troisième brûlure à gauche des lapins des trois lots ont été traitées avec le produit de référence Madécassol® (Hydrocotyle à 1%).
- Les deux secondes brûlures à droite et à gauche des lapins des trois lots ont été traitées avec le placebo (crème neutre).
- La troisième brûlure à droite et la première brûlure à gauche des lapins du 1^{er} lot ont été traitées par la crème dermique à base de l'huile essentielle du bois (0,3 %) du cèdre de l'Atlas.

- La troisième brûlure à droite et la première brûlure à gauche des lapins du 2^{ème} lot ont été traitées par la crème dermique à base de l'huile essentielle des aiguilles (0,3 %) du cèdre de l'Atlas.
- La troisième brûlure à droite et la première brûlure à gauche des lapins du 3^{ème} lot ont été traitées par la crème dermique à base de l'huile essentielle des cônes (0,3 %) du cèdre de l'Atlas.

Les lapins ont été pesés chaque jour durant toute la période du traitement.

Les cicatrices ont été photographiées le 5^{ème}, le 10^{ème}, le 20^{ème} et le 30^{ème} jour après rasage des poils adjacents. La superficie de chaque plaies a été évaluée par la reprise des bordures des cicatrices sur papier calque et le calcul des surfaces des cicatrices en cm², par le logiciel AUTOCAD 2007.



CB : crème à base de l'huile essentielle du bois
 CA : crème à base de l'huile essentielle des aiguilles
 CC : crème à base de l'huile essentielle des cônes
 Mad : Madécassol®
 Pla : Placebo

Figure 2.3: Application des crèmes dermiques sur les plaies (a) lapin du 1^{er} lot, (b) lapin du 2^{ème} lot, (c) lapin du 3^{ème} lot

Chaque jour, la superficie des cicatrices traitées par la même crème est représentée par la moyenne arithmétique des six essais effectués pour chaque lot. Le pourcentage de réduction de la cicatrice est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Réduction de la plaie (\%)} = (S_{j1} - S_{jn}) / S_{j1} \times 100$$

S_{j1} : Surface de la plaie au jour 1

S_{jn} : Surface de la plaie au jour n

- Etude histopathologique

Des sections de la peau ont été coupées immédiatement à la fin de l'expérimentation. Elles ont été mises dans une solution de formol à 10% pour fixer les tissus. Le jour de l'analyse, les échantillons ont été déshydratés par une séquence de bain d'éthanol à concentrations croissantes (alcool 80°, 95°, 100°) pendant 3 min (l'intérêt de la déshydratation est d'éliminer le fixateur). L'éthanol est ensuite remplacé par des solutions de xylène miscible à la paraffine pendant 3 min avec un automate à inclusion. Une fois totalement imprégné les échantillons ont été intégrés avec de la paraffine liquide à 60°C afin de solidifier le tissu.

Les sections de peau ont été inclus ensuite dans des moules remplis de paraffine chauffée. Après, des coupes fines ont été effectuées (5 µm) avec un microtome. Ces dernières ont été ensuite placées dans un bain marie à une température comprise entre 43 et 45°C puis étalées sur des lames. Ces lames ont été par la suite séchées pendant une heure à l'étuve (45°C). Le déparaffinage des lames par deux bains d'alcool (80° -100°) pendant 3 minutes, et un bain de xylène (95°-100°) pendant 5 minutes chacun. Enfin, un rinçage à l'eau courante a été effectué.

La coloration des lames s'est faite à base de l'hématoxyline (3 à 5 minutes) suivie d'un rinçage à l'eau courante pendant 5 minutes puis une introduction des lames dans l'éosine pendant 30 secondes suivie d'un autre rinçage à l'eau courante pendant 5 min et enfin séchage des lames à l'étuve. Le montage des lamelles a été effectué avec une résine synthétique afin d'effectuer une observation microscopique [155 ; 156].

- Etude statistique

L'analyse statistique a été réalisée grâce à un logiciel statistique (SPSS Statistics 17.0). Dans cette analyse, la comparaison entre les évolutions pondérales des lapins des trois lots ainsi que la comparaison des pourcentages de réduction des plaies sur les trois lots sont basées sur le test ANOVA (Analysis of Variance).

La comparaison multiple entre les pourcentages de réduction des plaies des différents lots est effectuée par le test post hoc .Avec un seuil de signification $\alpha = 0,05 \%$ et avec les probabilités suivantes :

- Si $p > 0.05$: la différence est non significative.
- Si $p < 0.05$: la différence est significative. Il faut donc procéder à un test post-hoc afin de déterminer laquelle des comparaisons des groupes, pris deux à deux, est significativement différente.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 Résultats de l'étude microscopique

Une étude microscopique de la structure histologique du bois, des aiguilles et des cônes du cèdre de l'Atlas a été menée afin d'élucider la répartition histologique des structures responsables de la sécrétion des huiles essentielles.

Selon KUBECZKA et SCHULTZE [157], les huiles essentielles et les oléorésines des conifères sont secrétées et accumulées dans des structures anatomiques caractéristiques, ce sont les canaux excréteurs schizogènes. Ces structures, provenant de l'écartement des cellules sécrétrices dans le tissu végétal, peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante.

3.1.1. Bois

Après coloration des coupes transversales au niveau du bois du Cèdre de l'Atlas, nous avons pu observer des structures telles que le bois d'été, le bois de printemps, les rayons médullaires et les canaux excréteurs (Figure 3.1).

Le bois d'été (de couleur bleue foncée) est formé de trachéides de faible diamètre à parois épaisses. Par contre, le bois de printemps (de couleur bleue claire) est constitué de trachéides de fort diamètre et à parois plus fines. Les rayons médullaires sont de type monosérié, formés d'une seule ligne de cellules allongées traversant le bois d'été et le bois de printemps radialement. Ainsi, les canaux excréteurs apparaissent comme des groupements de cellules ménageant entre elles des cavités dans lesquelles leurs sécrétions se déversent (Figure 3.1).

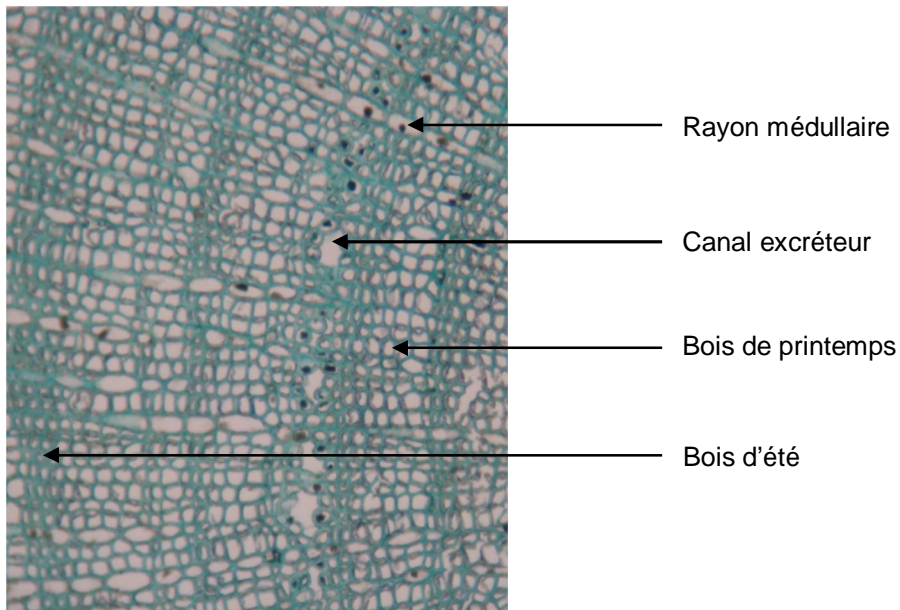


Figure 3.1 : Coupe transversale au niveau du bois du Cèdre de l'Atlas (G:100X)

En comparant nos coupes histologiques avec celles obtenues par El AZZOUZI et KELLER [38], nous déduisons que les canaux excréteurs sont des canaux résinifères (Figure 3.2 et Figure 3.3). Ces derniers sont les lieux de sécrétion des huiles essentielles dans le bois du cèdre de l'Atlas.

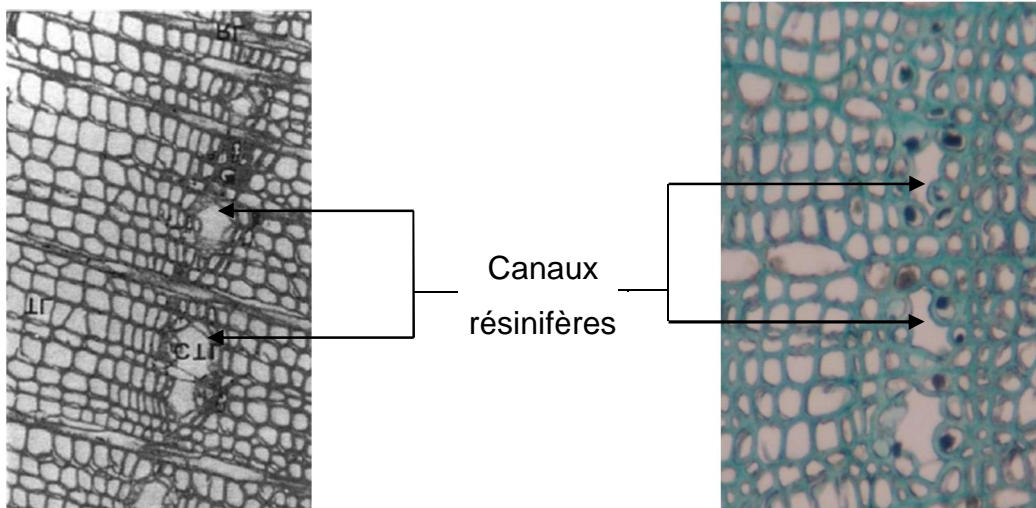


Figure 3.2 : Canaux résinifères au niveau d'une coupe transversale du bois du cèdre de l'Atlas du Maroc [38]

Figure 3.3 : Canaux résinifères au niveau d'une coupe transversale du bois du cèdre de l'Atlas de l'Algérie

Selon EI AZZOUZI et KELLER [38], Le bois du cèdre ne présente pas de canaux résinifères normaux, mais, des canaux traumatiques longitudinaux, généralement formés à la suite d'une blessure de l'assise cambiale. Ils sont groupés en série tangentielle, formés par des espaces intercellulaires tubulaires, de longueur indéterminée, autour desquels on trouve une couche de cellules sécrétrices.

3.1.2. Aiguille

En partant de la périphérie vers le centre, les coupes histologiques ont montré que la structure de l'aiguille comporte les éléments suivants :

- Une seule strate de cellules épidermiques lignifiées cutinisées interrompues par des stomates.
- Une seule strate de cellules hypodermiques avec des parois épaisses.
- Un mésophylle formé de cellules parenchymateuses chlorophylliennes palissadiques à l'extérieur et de cellules parenchymateuses chlorophylliennes dessinant quelques replis à l'intérieur.
- Un cylindre central séparé du mésophylle par un endoderme formé d'une seule assise cellulaire (Figure 3.4).

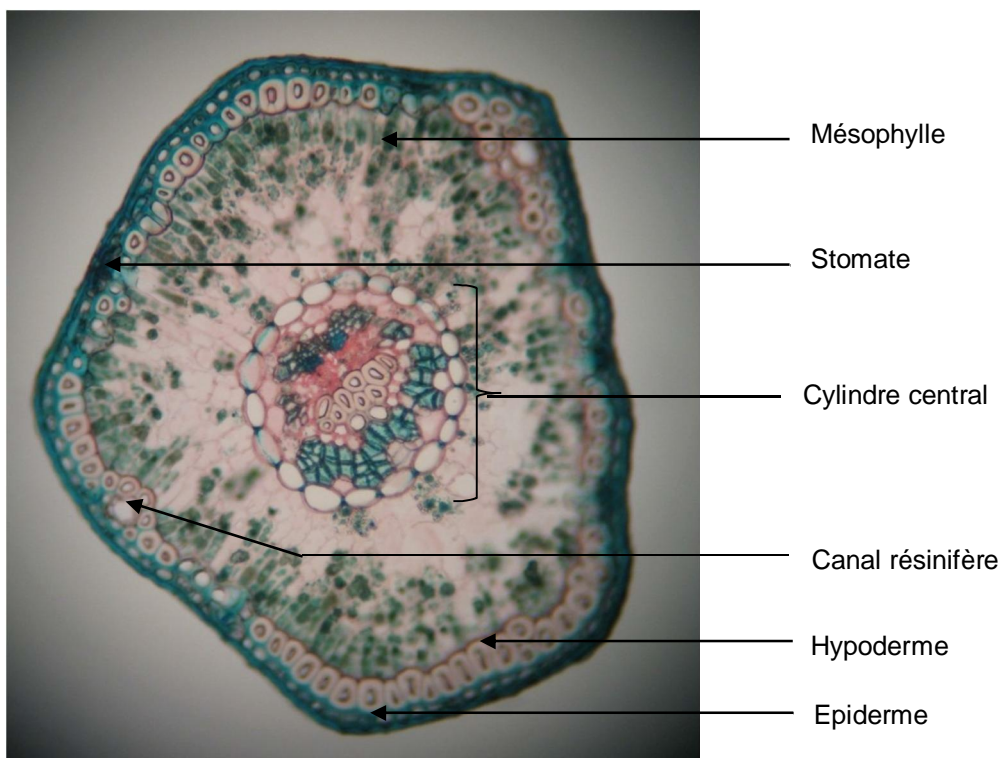


Figure 3.4 : Coupe transversale de l'aiguille du Cèdre de l'Atlas G:40 x

Le cylindre central comprend un tissu de transfusion formé par des cellules parenchymateuses (cellules vivantes) et des trachéides (cellules mortes). Ce tissu entoure deux faisceaux criblo-vasculaires formés du xylème et du phloème séparés par une mince lame de cambium. Les tissus conducteurs sont de type primaire et secondaire. La croissance du xylème secondaire et du phloème secondaire repousse petit à petit vers la périphérie les tissus conducteurs primaires qui finissent écrasés (Figure 3.5).

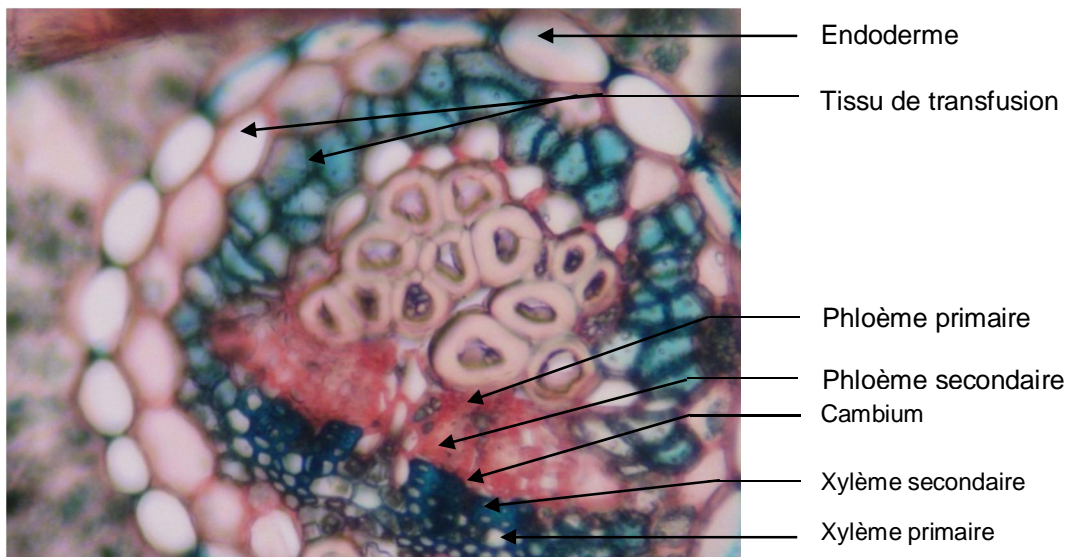


Figure 3.5 : Cylindre central de l'aiguille du cèdre de l'Atlas G:400x

Les structures responsables de la sécrétion des huiles essentielles sont des canaux résinifères circulaires situés entre l'épiderme et l'hypoderme (Figure 3.6).

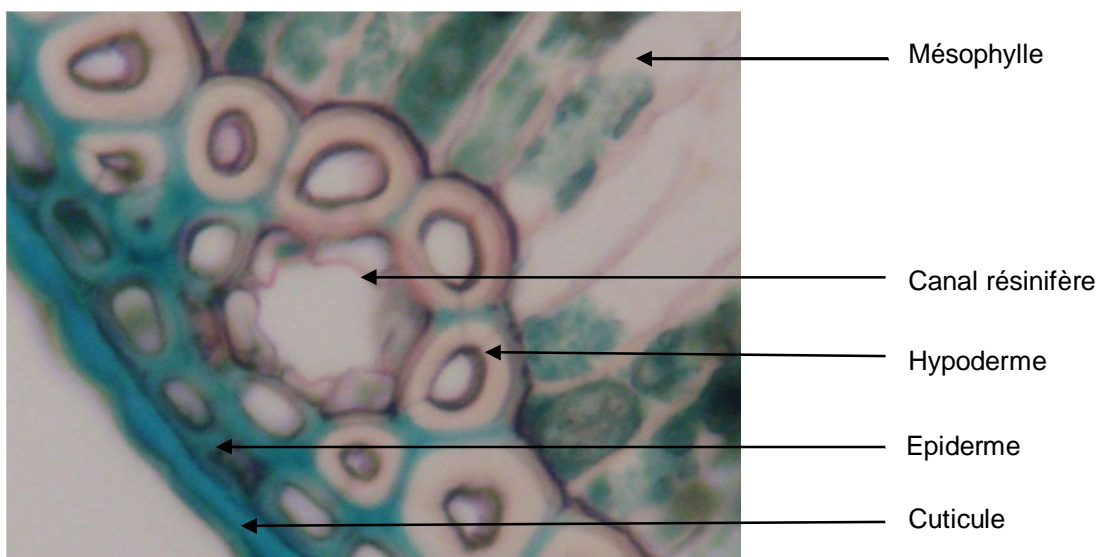


Figure 3.6 : Canal résinifère dans l'aiguille du cèdre de l'Atlas G:400x

3.1.3. Cône

Le cône femelle du cèdre de l'Atlas est constitué d'écailles ovulifères insérés sur un axe central (Figure 3.7).

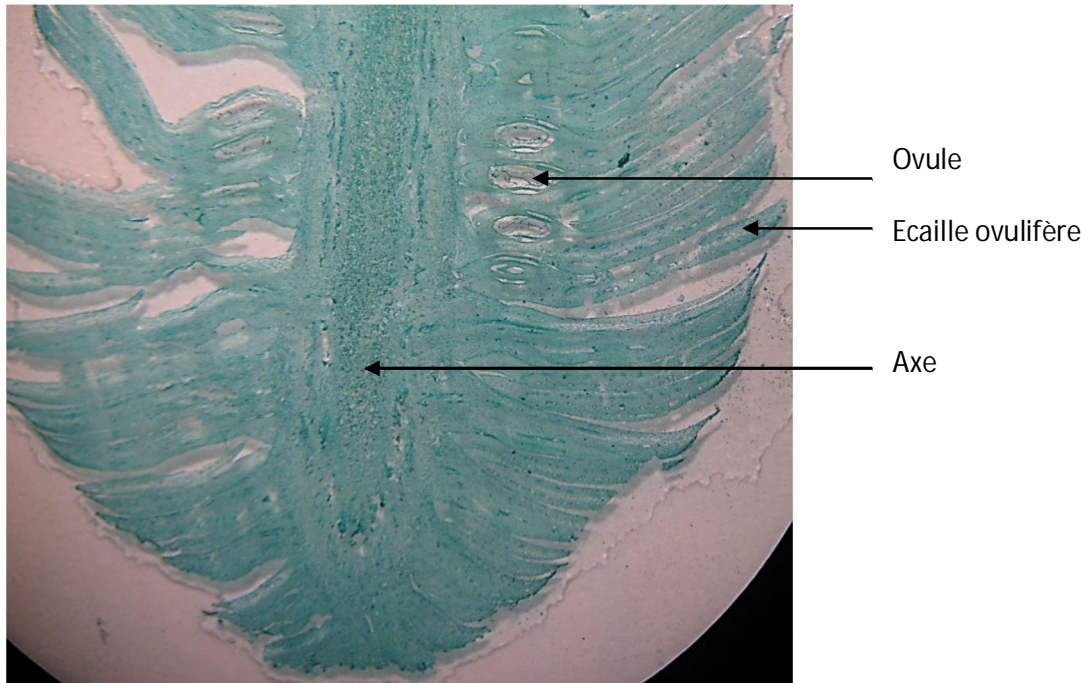


Figure 3.7 : Coupe longitudinale du cône femelle du cèdre de l'Atlas G:25x

L'étude microscopique de l'écaille ovulifère des cônes femelles a révélé la présence des canaux résinifères responsables de la sécrétion des huiles essentielles (Figure 3.8).

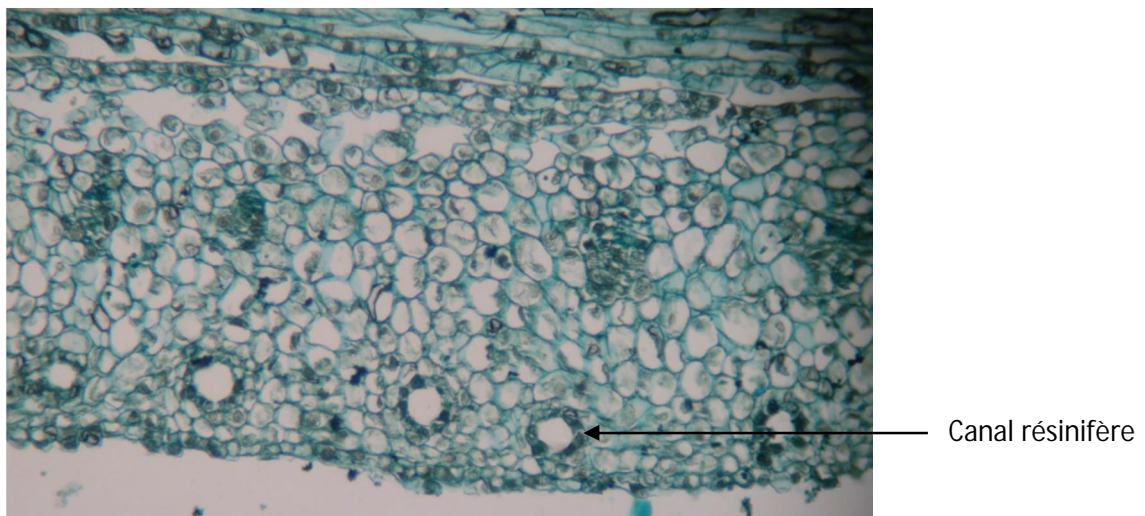


Figure 3.8 : Coupe longitudinale d'écaille ovulifère du cèdre de l'Atlas G:100x

3.2. Résultats de l'étude analytique

3.2.1. Teneurs en eau

L'analyse de nos échantillons (détail en Appendice D), a montré une teneur en eau importante dans les cônes. Elle est de l'ordre de $84,15\% \pm 0,0016$ signifiant ainsi que le 4/5 du poids des cônes frais est constitué par l'eau. Par contre les teneurs en eau dans les aiguilles et dans le bois sont beaucoup plus faibles avec des pourcentages qui avoisinent les 50% (Figure 3.9).

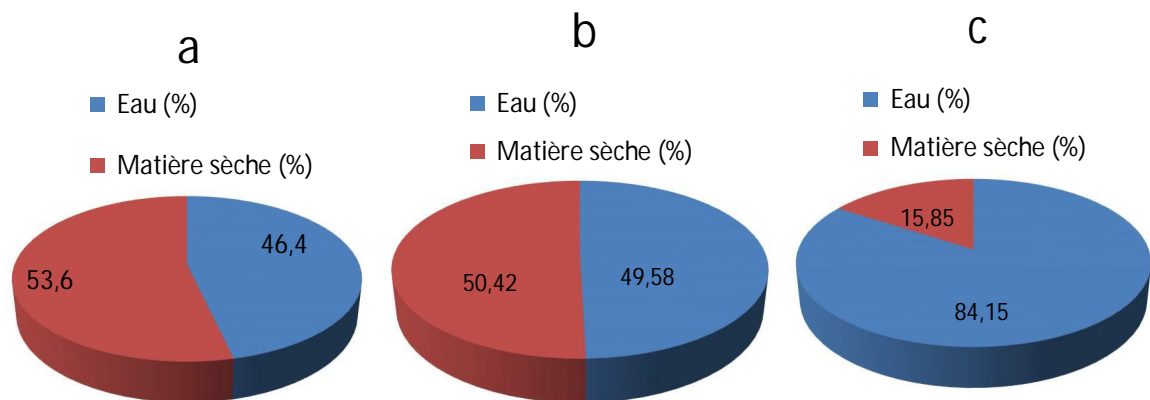


Figure 3.9 : Teneur en eau : (a) Bois, (b) Aiguilles, (c) Cônes

La teneur élevée en eau dans les cônes du cèdre de l'Atlas est probablement dû au phénomène d'imbibition qui correspond à notre période de récolte. Car selon ADDAR et *al.*, [20] ce phénomène précède le gel tissulaire puis le dégel qui permet la libération des graines vers la troisième année.

3.2.2. Rendement en huiles essentielles

Les extractions réalisées par hydrodistillation sur les différentes parties étudiées (Tableau 3.1) du Cèdre de l'Atlas, nous ont permis d'obtenir en terme d'huile essentielle : $1,35 \text{ g} \pm 0,03$ pour 120 g de bois frais, $0,133 \text{ g} \pm 0,003$ pour 225 g d'aiguilles fraîches et $2,13 \text{ g} \pm 0,073$ pour 350 g de cônes frais. Le rendement de ces extractions est donc de l'ordre de $2,1\% \pm 0,05$, $0,12\% \pm 0,003$ et $3,83\% \pm 0,129$ respectivement (Détails en Appendice D).

Tableau 3.1 : Rendement en huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes de *Cedrus atlantica* M.

	Bois	Aiguilles	Cônes
Poids de la matière végétale fraîche (g)	120	225	350
Poids de l'huile essentielle (g)	1,35 ± 0,03	0,13 ± 0,003	2,13 ± 0,073
Rendement %	2,1% ± 0,05	0,12% ± 0,003	3,83% ± 0,129

D'après ces résultats, nous constatons, que le rendement des aiguilles en huile essentielle est largement inférieur à celui du bois et des cônes. Il est intéressant aussi de noter que les rendements du bois et des cônes sont relativement supérieurs à ceux des plantes industriellement exploitées comme source d'huile essentielle. Comme c'est le cas du Thym (1%) [158], de la Lavande (0,8-2,8%), de la Menthe (0,5-1%), du Nérolin (0,5-1%) du Laurier (0,1-0,35%) [159], du Cyprès (0,22%) [160] et du Genévrier (1,62%) [161]

L'hydrodistillation de la sciure du bois de *Cedrus atlantica* M. a fourni un rendement en huile essentielle (2,1%) inférieur à celui obtenu par SATRANI et *al.*, [11] dans leur étude sur le bois de la même espèce du Moyen Atlas Central du Maroc (2,78%). Ce taux est également inférieur à ceux obtenus par la technique d'entraînement à la vapeur (2,56%) et la technique d'hydrodistillation (2,55%) signalés par ABERCHANE et FECHTAL [162] dans leur travail sur la sciure du bois du cèdre de l'Atlas du même pays. Dans notre étude, le rendement légèrement inférieur obtenu peut être expliqué par la période de bûcheronnage du bois (après floraison).

Dans cette étude, le rendement des aiguilles est de 0,12% alors que les travaux de DERWICH et *al.*, [163] ont montré que le taux de l'huile essentielle dans les aiguilles du cèdre de l'Atlas du Maroc (région de Boulmane) est largement supérieur (1,82%). Ceci peut être expliqué par la différente période de récolte, car cette dernière a été faite le mois d'Août, avant l'apparition des chatons.

Le rendement en huiles essentielles des cônes de *Cedrus atlantica* M. de Chréa est de 3,83% ; largement supérieur à 0,62% obtenu par PAUN et *al.*, [12] sur les cônes du Moyen Atlas du Maroc. Cette différence est probablement due à la durée d'hydrodistillation (4h et 3h respectivement) et le degré de maturité des cônes (récolte printanière et estivale respectivement), sachant que la maturité des cônes est achevée en Automne.

Selon SATRANI et *al.*, [164], le rendement en huile essentielle dépend de nombreux facteurs tels que le stade de croissance, les conditions pédoclimatiques et la technique d'extraction.

3.2.3. Rendement en fraction polaire et apolaire

Les composés polaires et apolaires récupérés après extraction au soxhlet ont été pesés pour déterminer le poids sec résultant. Le rendement a été déterminé par rapport à 100g de matière végétale sèche. Les résultats sont rapportés dans le tableau 3.2 (Détails en Appendice D).

Tableau 3.2: Rendement en fractions polaires et apolaires des aiguilles et des cônes de *Cedrus atlantica* M.

Partie utilisée	Fraction	Rendement %
Bois	Polaire	0,58
	Apolaire	3
Aiguilles	Polaire	31,07
	Apolaire	5,38
Cônes	Polaire	6,15
	Apolaire	6,57

Le rendement en fraction polaire des aiguilles représente le rendement le plus important avec un pourcentage marquant de 31,07%. Par contre, le rendement du bois en fraction polaire (0,58%) est trop faible empêchant ainsi la réalisation des études analytique et biologique sur cet extrait.

3.2.4. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles

Les différentes caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur et odeur) des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes du Cèdre de l'Atlas ont été notées (Tableau 3.3).

Tableau 3.3 : Propriétés organoleptiques des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas

	Huiles essentielles		
	Bois	Aiguilles	Cônes
Aspect	Liquide, très légèrement épaisse	Liquide, limpide	Liquide, limpide
Couleur	Jaune	Légèrement jaunâtre	Incolore
Odeur	Douce, boisée, rappelant celles des conifères et de résine	Boisée, légèrement acide	Légèrement boisée avec une note rappelant celle du citron

Les caractéristiques organoleptiques diffèrent selon l'huile essentielle étudiée. Ces huiles essentielles sont d'un aspect liquide limpide à l'exception de l'huile essentielle du bois qui est très légèrement épaisse. Ainsi, La couleur des huiles essentielles étudiées varie du jaune à l'incolore.

Chaque huile essentielle étudiée présente une odeur particulière avec une senteur de bois commune aux trois huiles essentielles. Ceci est probablement due à la présence des molécules suivantes : le β -Pinène (5,94% dans l'huile essentielle des cônes) [165; 166], le δ -Cadinène (4,08% et 4,55% respectivement dans l'huile essentielle du bois et l'huile essentielle des aiguilles) [167], le p -Cymène (0,36 % dans l'huile essentielle des cônes) [166], la Caryophyllène (0,29% dans l'huile essentielle des cônes) [167] et le Bornéol (0,02% dans l'huile essentielle des aiguilles) [168].

Selon BURONZO [52], l'huile essentielle du bois du cèdre de l'Atlas est une huile au parfum chaud, boisé et harmonieux.

ZRIRA et GHANMI [169] ont décrit l'huile essentielle obtenue après hydrodistillation de la sciure du bois du cèdre de l'Atlas de la région d'Azrou (Maroc) comme une huile de couleur jaune clair avec une forte odeur.

Dans une étude menée par UEHARA et *al.*, [10] sur les constituants odorants de l'huile essentielle du bois de *Cedrus atlantica* du Maroc, l'odeur de cette dernière a été décrite comme étant douce reflétant l'odeur typique du bois ce qui concorde avec nos résultats.

Dans leurs travaux menés sur l'huile essentielle de la partie aérienne (Aiguilles, rameaux et bois) du cèdre de l'Atlas du Maroc (Montagnes du Moyen Atlas), EZ ZOUBI et *al.*, [15] ont mentionné que la couleur de cette dernière est jaune d'or léger et que son odeur est boisée, résineuse, avec une note rappelant celle des urines.

Les huiles essentielles sont des produits de composition assez complexe renfermant des principes volatiles [170]. La perception des signes odorants des mélanges complexes est un produit des interactions au niveau des récepteurs olfactifs et des interactions lors du traitement neuronal de l'information olfactive. Dans le cas d'un mélange de substances odorantes, une compétition peut se produire au niveau des récepteurs olfactifs et des interactions inhibitrices peuvent avoir lieu au niveau neuronal. Par conséquent, la perception d'un mélange odorant n'est pas une simple somme des percepts des composants non mélangés [171; 172].

Selon UEHARA et *al.*, [10], même les panélistes expriment de grandes différences dans la perception olfactive des mélanges complexes, en raison de la sélectivité, de la sensibilité et de la variabilité interindividuelle du système olfactif humain.

3.2.5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Selon les recommandations de l'Afssaps, mais également celles des Pharmacopée Européenne et française, ainsi que les normes ISO et NF, les contrôles physicochimiques des huiles essentielles sont nécessaires pour évaluer leur qualité (qualitologie) [97].

3.2.5.1. Potentiel d'Hydrogène (pH)

Le potentiel d'Hydrogène des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas (Tableau 3.4) varie entre un minimum de 3,45 pour les cônes et un maximum de 4,68 pour le Bois. Les huiles essentielles de bonne qualité ont un pH inférieur à 5,8 et sont par conséquent légèrement acide [173].

Tableau 3.4 : Potentiel d'Hydrogène des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas

	Huiles essentielles		
	Bois	Aiguilles	Cônes
pH	4,68	4,04	3,45

3.2.5.2. Densité relative à 20°C

La détermination de la densité relative peut être considérée comme un critère de pureté pour les huiles essentielles [97]. La densité des huiles essentielles est la plus souvent inférieure à celle de l'eau [174]. Ce qui correspond aux résultats de cette étude qui ne dépasse pas une valeur de 0,92 (Tableau 3.5).

Tableau 3.5 : Densité relative des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas

	Huiles essentielles		
	Bois	Aiguilles	Cônes
Densité relative	0,92	0,92	0,9

Selon CHALCHAT et *al.*, [175], la densité relative de l'huile essentielle du bois du cèdre de l'Atlas du Maroc est comprise entre 0,933 et 0,939.

3.2.5.3. Indice de réfraction à 20 °C

La détermination de l'indice de réfraction pour une huile essentielle permet seulement de vérifier si elle est conforme aux normes établies. En aucun cas, l'indice de réfraction ne pourrait servir pour l'identification d'une huile essentielle inconnue, car plusieurs huiles essentielles peuvent présenter les mêmes indices de réfraction [97].

L'indice de réfraction des huiles essentielles est généralement élevé. Il est supérieur à celui de l'eau à 20°C = 1,3356 [176]. Ces dernières sont le plus souvent optiquement actives car elles contiennent des molécules asymétriques [49]. La norme AFNOR [177] préconise un indice de réfraction, compris entre 1,450 et 1,513 pour les huiles essentielles de haute qualité, et considère que celles dont l'indice de réfraction dépasse un seuil de 1,513 sont de qualité moindre. Selon ce qui précède et au vu des résultats obtenus (Tableau 3.6), nous pouvons conclure que les huiles essentielles étudiées sont de bonne qualité du moment que leurs indices de réfraction fluctuent entre 1,47 et 1,512.

Tableau 3.6 : Indice de réfraction des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas

	Huiles essentielles		
	Bois	Aiguilles	Cônes
Indice de réfraction	1,51	1,512	1,47

Dans leurs travaux menés sur l'huile essentielle du bois du cèdre de l'Atlas du Maroc, CHALCHAT et *al.*, [175] ont indiqué que l'indice de réfraction varie entre 1,5080 et 1,5131. Ces résultats concordent avec nos résultats.

3.2.5.4. Indice d'acide

Selon CAN BASER et BUCHBAUER [178], l'indice d'acide nous renseigne sur la bonne conservation des huiles essentielles dans des récipients foncés et hermétiques. Ainsi, ce dernier augmente le long du processus de vieillissement d'une huile, du moment qu'il dépend de l'oxydation des aldéhydes et l'hydrolyse

des esters. Un indice d'acide inférieur à 2 est une preuve de bonne conservation de l'essence (faible quantité d'acides libres) [179].

Les indices d'acide des huiles essentielles analysées ont montré des taux inférieurs à l'unité (Tableau 3.7). Ces indices faibles prouvent que les huiles sont stables et ne provoquent pas d'oxydation inquiétante. Car, l'huile, en s'oxydant, se dégrade rapidement et provoque une augmentation de l'indice d'acide.

Tableau 3.7 : Indice d'acide des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas

	Huiles essentielles		
	Bois	Aiguilles	Cônes
Indice d'acide	0,85	0,30	0,43

Les résultats de l'étude menée par CHALCHAT et *al.*, [175], indiquent que l'indice d'acide de l'huile essentielle du bois du cèdre de l'Atlas poussant au Maroc est de l'ordre de 0,5.

3.2.5.5. Indice d'ester

Pour mieux caractériser la qualité des huiles essentielles, l'indice d'ester a été évalué. La valeur la plus élevée est celle des cônes (41,78) suivie par celle de l'huile essentielle du bois (14,25). La plus faible est celle de l'huile essentielle des aiguilles (7,01) (Tableau 3.8). Les huiles essentielles de très bonne qualité renferment une très grande quantité d'esters [180].

Tableau 3.8 : Indice d'ester des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas

	Huiles essentielles		
	Bois	Aiguilles	Cônes
Indice d'ester	14,25	7,01	41,78

Selon l'étude menée par CHALCHAT et *al.*, [175], l'indice d'ester de l'huile essentielle du bois est largement supérieur à celui de l'huile essentielle du bois de la même espèce du Maroc qui varie entre 2,9 et 3,4.

3.2.5.6. Miscibilité à l'éthanol

Très souvent les huiles essentielles, de caractère lipophile, sont solubles dans les solvants organiques. Une composition chimique, riche en terpénoïdes et souvent en molécules polaires, permet la solubilisation des huiles essentielles dans l'éthanol. Cependant, il peut arriver que les molécules polaires en trop faible quantité empêchent la solubilisation dans l'alcool [97]. Il faut souligner que les huiles riches en composés oxygénés sont plus solubles dans l'éthanol dilué que celles riches en hydrocarbures. De plus, les huiles vieilles ou mal conservées présentent souvent une solubilité réduite [178].

Dans cette étude, l'huile essentielle des aiguilles est l'huile essentielle la moins soluble dans l'éthanol, suivi par l'huile essentielle des cônes et enfin l'huile essentielle du bois (Tableau 3.9).

Tableau 3.9 : Miscibilité à l'éthanol des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas

	Huiles essentielles		
	Bois	Aiguilles	Cônes
Miscibilité à l'éthanol	4,5	10	6

3.2.6. Analyse des huiles essentielles par CG/SM

Les huiles essentielles extraites des différentes parties étudiées du cèdre de l'Atlas ont été analysées par la technique de la chromatographie gazeuse selon la méthode précédemment expliquée. Au total, nous avons identifié 35 composés (Figure 3.10, 3.11 et 3.12) correspondant respectivement à 76,31%, 70,46% et 82,55% de l'ensemble des constituants contenus dans les huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes de cette espèce.

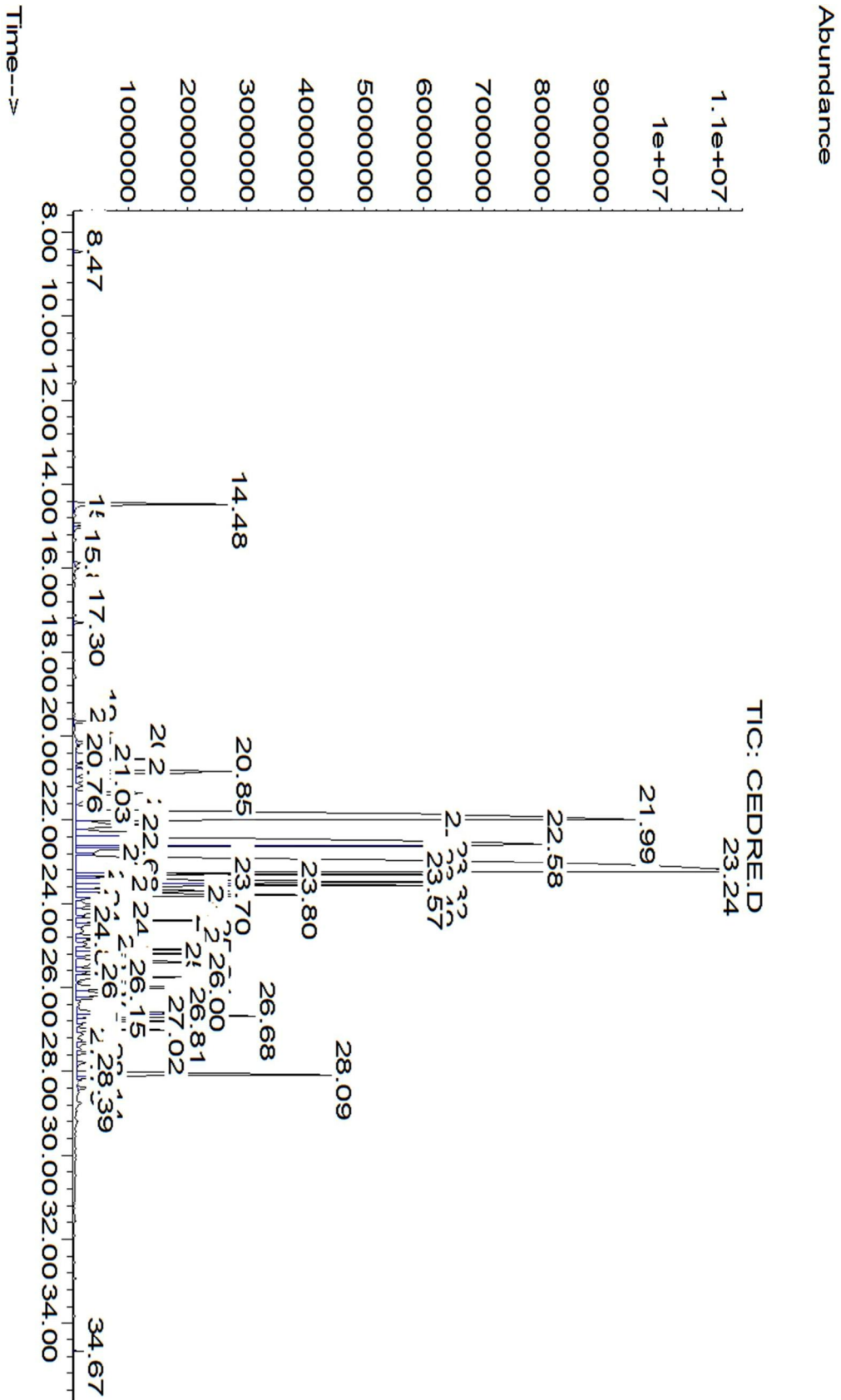


Figure 3.10 : Profil chromatographique de l'huile essentielle du bois de *Cedrus atlantica* M.

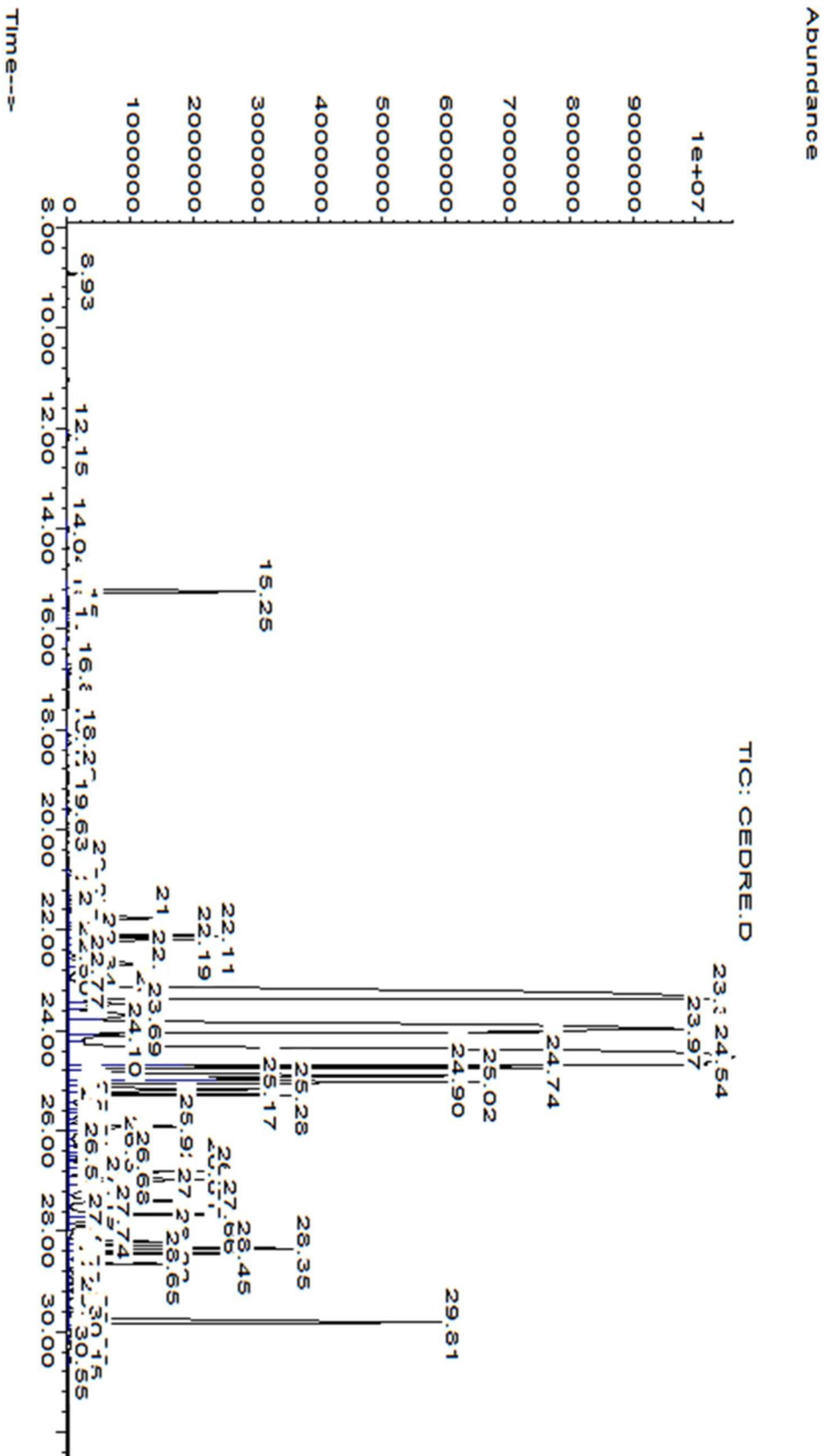


Figure 3.11 : Profil chromatographique de l'huile essentielle des aiguilles de *Cedrus atlantica* M.

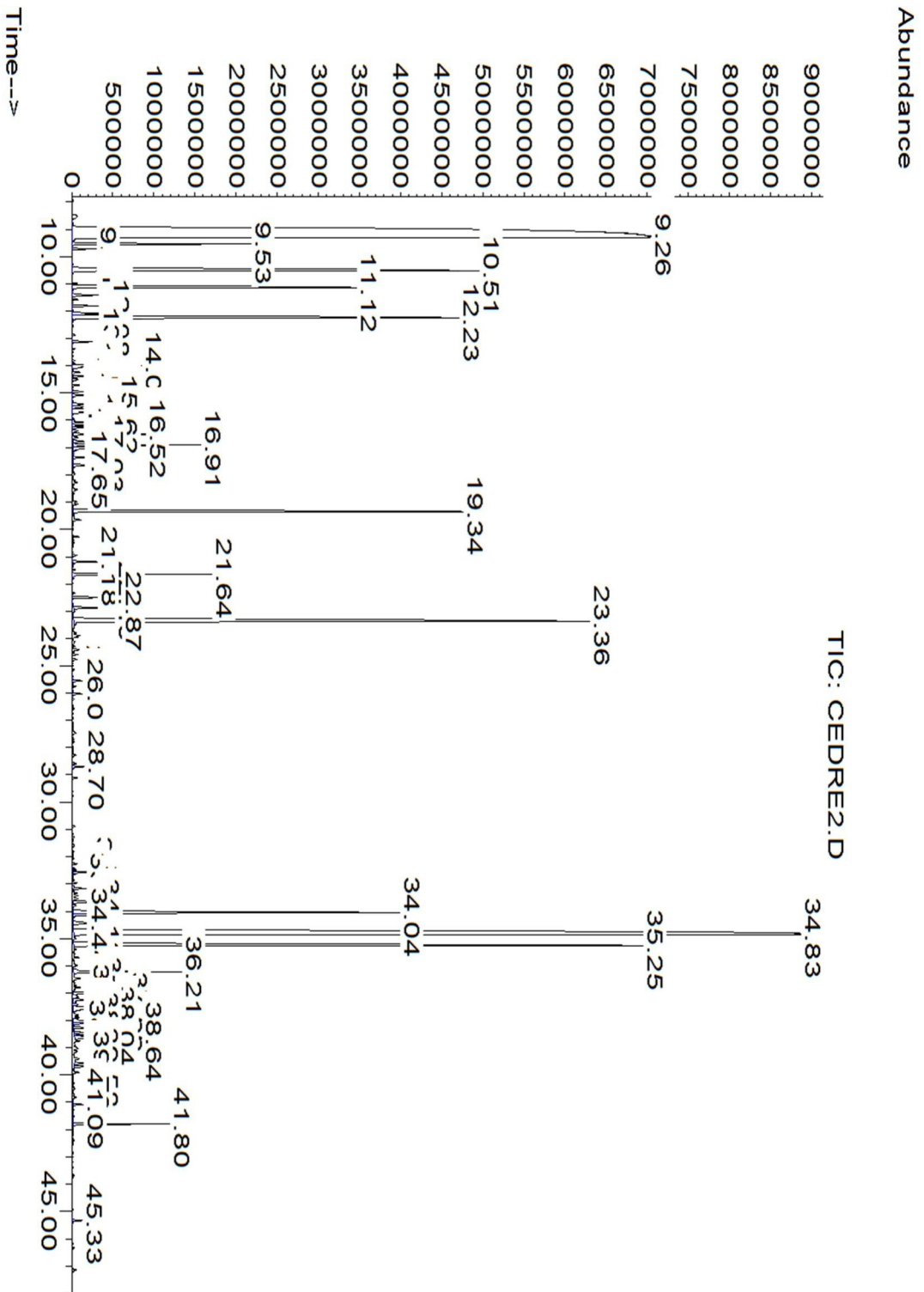


Figure 3.12 : Profil chromatographique de l'huile essentielle des cônes de *Cedrus atlantica* M.

Les constituants de l'huile essentielle du bois se répartissent en deux composés monoterpéniques (1,39%) et 14 composés sesquiterpéniques. Les sesquiterpénoïdes prédominent (74,92%) avec le β -Himachalène (31,55%) comme constituant majoritaire. L' α -Himachalène (15,00%), le Longifolène (11,22%) et le δ -Cadinène (4,08%) suivent.

L'huile essentielle des aiguilles de sa part est constituée de treize composés dont huit composés sont des sesquiterpénoïdes (69,03%) et cinq composés sont des monoterpénoïdes (1,43%). Les composés majoritaires de cette huile sont les mêmes que ceux de l'huile essentielles du bois avec un même ordre de prédominance et de légères variations de pourcentages (Figure 3.13) : le β -Himachalène (30,08%) comme constituant majoritaire. Suivi par l' α -Himachalène (16,38%), le Longifolène (14,45%) et le δ -Cadinène (4,55%).

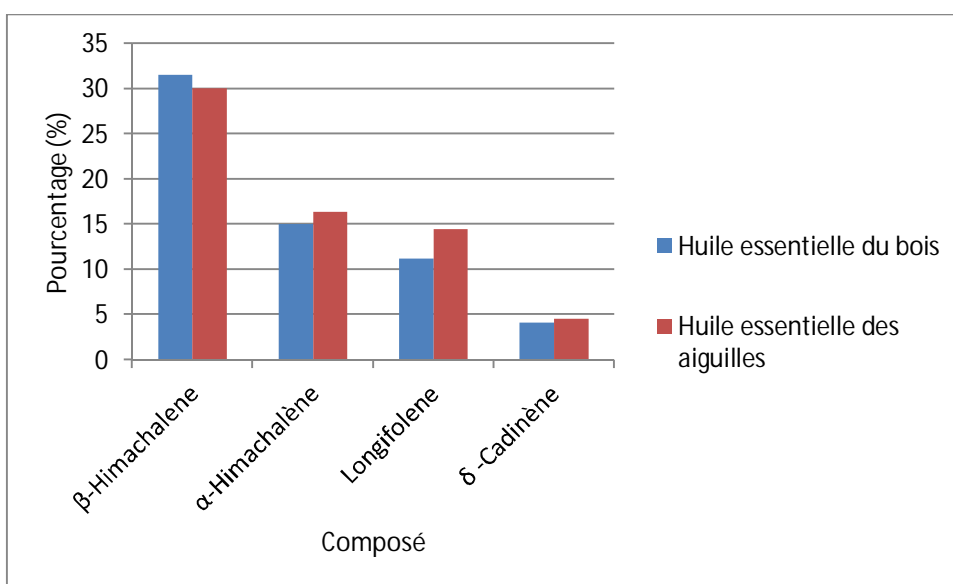


Figure 3.13 : Pourcentage des composés majoritaires des huiles essentielles du bois et des aiguilles

Contrairement aux autres huiles, l'huile essentielle des cônes a été dominée par la présence des monoterpénoïdes (54,58%) avec une présence considérable des diterpénoïdes (27,50%). Deux composés majoritaires sont remarquablement présents dans cette huile, l'un faisant partie des hydrocarbures monoterpéniques et qui est l' α - Pinène (33,20%) et l'autre faisant partie des alcools diterpéniques et qui est le Manool (17,40%). Ces deux composés

constituent à eux seuls 50,60% de l'ensemble des constituants identifiés. D'autres composés ont été identifiés avec des teneurs notables. Ce sont essentiellement le Phyllocladène (6,96%), le β -Pinène (5,94%), le Limonène (4,83%), le Bornylacetate (3,42%), le β -Myrcène (3,14%) et le Sclarene (3,14%).

Le profil chimique de l'huile essentielle des cônes du cèdre d'Atlas est caractérisé par une présence considérable du Manool (17,40%). Selon les travaux de RHAFOURI et *al.*, [13], rares sont les plantes qui contiennent un pourcentage élevé en cet alcool terpénique.

Selon RHAFOURI et *al.*, [13], plusieurs études [181; 182] ont montré que le manool est un composé intermédiaire très utilisé dans l'hémisynthèse de certains composés utilisés en parfumerie et aussi dans l'hémisynthèse de certaines molécules bioactives comme l'agelasine D [183]. Sur la base de ces résultats, l'utilisation de l'huile essentielle des cônes du cèdre d'Atlas contenant un pourcentage important en ce composé terpénique peut être envisagée dans différents secteurs.

Nous notons que les huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes du cèdre de l'Atlas sont dominées par les hydrocarbures terpéniques avec les pourcentages appropriées suivants 72,45%, 69,09% et 60,31%. Il est à noter que le pourcentage des alcools terpéniques dans l'huile essentielle des cônes reste toujours considérable (18,82%).

Les composés identifiés sont listés suivant l'ordre d'élution dans le tableau suivant :

Tableau 3. 10 : Composition chimique des huiles essentielles de *Cedrus atlantica*.

N°	Composé	Formule chimique	Classe chimique	Huile essentielle du bois		Huile essentielle des aiguilles		Huile essentielle des cônes	
				TR (min)	(%)	TR (min)	(%)	TR (min)	(%)
1	α - Pinène	C ₁₀ H ₁₆	Hydrocarbure Monoterpénique	8,46	0,06	8,92	0,05	9,26	33,20
2	Comphene	C ₁₀ H ₁₆	Hydrocarbure Monoterpénique					9,53	1,15
3	β -Pinène	C ₁₀ H ₁₆	Hydrocarbure Monoterpénique					10,51	5,94
4	β -Myrcene	C ₁₀ H ₁₆	Hydrocarbure Monoterpénique					11,12	3,14
5	β -Phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	Hydrocarbure Monoterpénique					11,41	0,22
6	α -Terpinène	C ₁₀ H ₁₆	Hydrocarbure Monoterpénique					11,80	0,17
7	ρ -Cymène	C ₁₀ H ₁₄	Hydrocarbure Monoterpénique					12,08	0,36
8	Limonène	C ₁₀ H ₁₆	Hydrocarbure Monoterpénique					12,23	4,83
9	D-Limonène	C ₁₀ H ₁₆	Hydrocarbure Monoterpénique			12,15	0,02		
10	γ -Terpinene	C ₁₀ H ₁₆	Hydrocarbure Monoterpénique					13,13	0,18
11	Terpinolene	C ₁₀ H ₁₆	Hydrocarbure Monoterpénique					14,00	0,55
12	Limonaketone	C ₉ H ₁₄ O	Cétone Monoterpénique	14,48	1,33	15,25	1,30		
13	Bornéol	C ₁₀ H ₁₈ O	Alcool Monoterpénique			16,17	0,02		
14	Terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	Alcool Monoterpénique					16,52	0,50
15	α -Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	Alcool monoterpénique			16,88	0,04	16,91	0,92
16	Bornylacetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	Ester monoterpénique					19,34	3,42
17	α -Longipinene	C ₁₅ H ₂₄	Hydrocarbure sesquiterpénique	19,66	0,16				
18	Isolongifolene, 4,5,9,10-dehydro-	C ₁₅ H ₂₂	Hydrocarbure sesquiterpénique	20,56	1,34				
19	δ -selinene	C ₁₅ H ₂₄	Hydrocarbure sesquiterpénique	20,85	1,88				
20	α -Cedrene	C ₁₅ H ₂₄	Hydrocarbure sesquiterpénique	21,26	0,34	22,33	0,25		

N°	Composé	Formule chimique	Classe chimique	Huile essentielle du bois		Huile essentielle des aiguilles		Huile essentielle des cônes	
				TR (min)	(%)	TR (min)	(%)	TR (min)	(%)
22	Himachala-2,4-diene	C ₁₅ H ₂₄	Hydrocarbure sesquiterpénique	21,35	1,22	22,66	0,81		
23	α-Himachalène	C ₁₅ H ₂₄	Hydrocarbure sesquiterpénique	21,99	15,00	23,34	16,38		
24	Longifolene	C ₁₅ H ₂₄	Hydrocarbure sesquiterpénique	22,58	11,22	23,97	14,45	21,18	0,18
25	β-Himachalene	C ₁₅ H ₂₄	Hydrocarbure sesquiterpénique	23,24	31,55	24,53	30,08		
26	Isolongifolène	C ₁₅ H ₂₄	Hydrocarbure sesquiterpénique	23,31	2,27	24,73	2,44		
27	δ -Cadinène	C ₁₅ H ₂₄	Hydrocarbure sesquiterpénique	23,49	4,08	24,90	4,55		
28	Cadina-1(10),6,8-triene	C ₁₅ H ₂₂	Hydrocarbure sesquiterpénique	23,71	1,09				
29	Cadala-1(10),3,8-triene	C ₁₅ H ₂₂	Hydrocarbure sesquiterpénique	23,80	2,25				
30	Caryophyllène	C ₁₅ H ₂₄	Hydrocarbure sesquiterpénique					22,49	0,29
31	3-Isobutyl-4,5-dimethyl-3H-isobenzofuran-1-one	C ₁₄ H ₁₈ O ₂	Ester sesquiterpénique	24,41	1,15				
32	Cubenol	C ₁₅ H ₂₆ O	Alcoolsesquiterpénique	25,39	1,38				
33	Sclarene	C ₂₀ H ₃₂	Hydrocarbure diterpénique					34,05	3,14
34	Manool	C ₂₀ H ₃₄ O	Alcool diterpenique					34,83	17,40
35	Phyllocladene	C ₂₀ H ₃₂	Hydrocarbure diterpénique					35,25	6,96
Monoterpénoides%				1,39		1,43		54,58	
Sesquiterpénoides%				74,92		69,03		0,47	
Diterpénoides%				0,00		0,00		27,50	
Hydrocarbures terpéniques				72,45		69,09		60,31	
Alcools terpéniques				1,38		0,07		18,82	
Cétones terpéniques				1,33		1,30		0,00	
Esters terpéniques				1,15		0,00		3,42	
Total %				76,31		70,46		82,55	

Les études effectuées par ABERCHANE et *al.*, [5] sur l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur de la sciure du bois du cèdre de l'Atlas du Maroc ont montré que celle-ci est constituée majoritairement par le β -himachalène (33,81%), le E- α -atlantone (11,24%), l' α -himachalène (10,87%), le γ -himachalène (6,89%) et la déodarone (4,15%). Une étude ultérieure effectuée par SATRANI et *al.*, [11] sur la même huile essentielle de la même région (technique d'hydrodistillation) a dévoilé la richesse de cette dernière en E- α -atlantone (28,75%), le β -himachalène (14,62%), l'himachalol (7,11%), l' α -himachalène (5,72%), la Z- α -atlantone (5,16%), le γ -himachalène (4,82%) et la deodarone (4,42%). L'huile essentielle du bois du cèdre de l'Algérie est également riche en sesquiterpènes. En effet, une étude réalisée par DAHOUN et *al.*, [184] sur le spécimen de Chréa a démontré que le β -himachalène (13,6%), la E- α -atlantone (10,8%) et l'époxyhémachalène (8,7%) sont les composés majoritaires. Ainsi, dans des échantillons provenant de la forêt de Bainem (près d'Alger), l'himachalol (28,1%) est le composé majoritaire, à côté du β -caryophyllène (6,0%), de l' α -Pinène (5,6%), du β -Himachalène (3,7%), du γ -Himachalène (2,3%) et de l' α -Himachalène (2,1%) [6]. L'huile essentielle qui a fait l'objet de notre étude se distingue par la dominance du β -Himachalène (31,55%), de l' α -Himachalène (15,00%), du Longifolène (11,22%) et de δ -Cadinène (4,08%). Ceci révèle qu'il y a une différence qualitative pour certains composés majoritaires des huiles essentielles en comparaison avec les études précédemment citées avec la présence commune de certains composés majoritaires comme c'est le cas pour le β -himachalène et l' α -Himachalène.

Les résultats des analyses effectuées par DERWICH et *al.*, [163] sur l'huile essentielle des aiguilles du Cèdre de l'Atlas du Maroc (Région de Tichoukt) ont révélé la présence des composés majoritaires suivants: l' α -pinène (14,85%) suivi par l'himachalène (10,14%), le β -himachalène (9,89%), le σ -himachalène (7,62%), le cis- α -atlantone (6,78%), l'himachalol (5,26%) et l' α -himachalène (4,15%). Nous remarquons ainsi quelques différences qualitatives avec nos résultats tout en notant l'existence de deux composés majoritaires en commun. Ces derniers présentent des proportions dissemblables et qui sont respectivement 9,89% contre 30,08% pour le β -Himachalène et 4,15% contre 16,38% pour l' α -Himachalène.

L'huile essentielle des aiguilles du cèdre de l'Atlas a fait aussi l'objet de deux autres travaux. Celui de LAHLOU [185] mené sur un échantillon en provenance du Rabat (Maroc) et celui de BOUDARENE et *al.*, [6] mené sur un échantillon en provenance de la forêt de Bainem (Algérie). Dans ces deux études, les composés majoritaires de cette huile essentielle sont totalement différents des résultats obtenus dans cette étude.

Dans la première étude, la composition chimique de l'huile essentielle est dominée par les hydrocarbures monoterpéniques tels que l' α -Pinène (34%), le β -Pinène (32%) et le Myrcène (17%). Par contre, dans la seconde l'huile essentielle est constituée principalement de monoterpènes tels que l' α -Pinène (18%) et l' α -Terpinéol (7%) et de sesquiterpènes tels que le β -Caryophyllène (9%) et l'oxyde de Caryophyllène (10%).

L'analyse par CG /MS de l'huile essentielle des cônes a révélé la présence de composés majoritaires totalement différents de ceux trouvés par PAUN et *al.*, [12] dans leur étude sur l'huile essentielle de la même partie du cèdre de l'Atlas du Maroc. Cette dernière a dévoilé la dominance des constituants suivants : le β -Himachalène (29,4%), l' α -longipinene (20,75%), le β -chamigrene (14,39%), le longifolene (11,61%) et l' α -Himachalène (5,1%).

Les études faites par BOUDARENE et *al.*, [7], sur la composition chimique de l'huile essentielle des graines du cèdre de l'Atlas de l'Algérie (région Ouled Yacoub (OY) et la région de Tala Guilef (TG)) et celles de RHAFOURI et *al.*, [13] du Maroc ont démontré la présence respective de certains composés en communs avec les composés majoritaires de notre étude, tels que : l' α - Pinène (37,1%, 5,5% et 46.16%), le manool (8,3%, 20,7% et 25,47%), le β -Pinène (8,06%, 1,8% et 5,95%), le Bornylacetate (5,4%, 4% et 10,18%) et le β -Myrcène (3,6%, 0,6% et 0,11%). Ces résultats montrent que la dominance de certains constituants dans la composition chimique des huiles essentielles des graines des trois études précédemment citées est aussi retrouvée dans la composition chimique des huiles essentielles des cônes de notre étude. Ainsi, nous avons enregistré la présence du Limonène dans l'huile essentielle des graines et des cônes du cèdre Algérien (2,5% pour OY, 0,6% pour TG et 4,83% pour notre

étude) et son absence dans l'huile essentielle des graines du cèdre Marocain ce qui est en accord avec les constatations de RHAFOURI et *al.*,[13].

Les variations rencontrées dans la composition chimique des huiles essentielles, du point de vue qualitatif et quantitatif sont tributaires de certains facteurs écologiques, de la partie de la plante utilisée, de son âge, de la période de son cycle végétatif, ou même des facteurs génétiques [186; 187; 188; 189; 190]. Ainsi selon RHAFOURI et *al.*,[13], la différence apparue entre la composition chimique des huiles essentielles du cèdre d'Atlas Algérien et le cèdre d'Atlas Marocain peut être attribuée à certains facteurs climatiques et géographiques tels que l'altitude et le type de sol.

3.2.7. Composés phénoliques

Après avoir préparé l'acide gallique à différentes concentrations (0 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, 50 mg/ml, 60 mg/ml, 70 mg/ml, 80 mg/ml, 100 mg/ml), nous avons obtenu une corrélation hautement significative entre la concentration de l'acide gallique et l'absorbance moyenne ($r=0,993$). Ainsi la courbe d'étalonnage montre la linéarité de l'absorbance en fonction des différentes concentrations (Figure 3.14). Les mesures de la densité optique ont été effectuées à la longueur d'onde de 765 nm (détail en Appendice D).

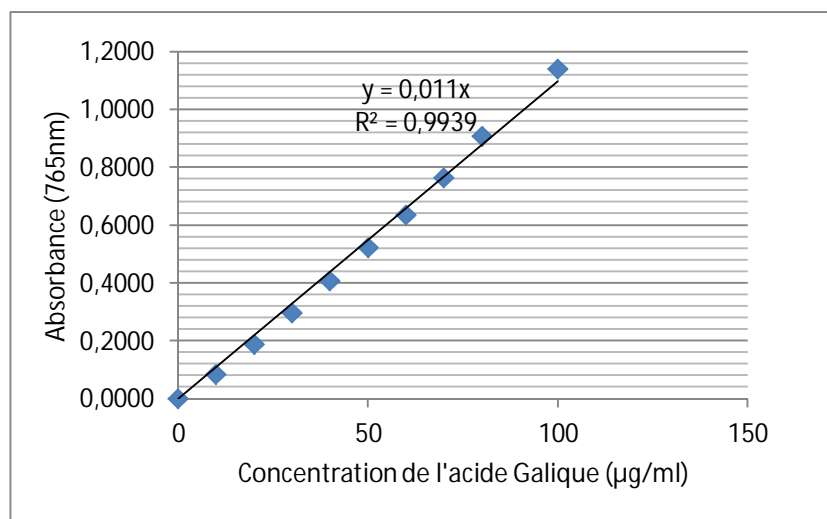


Figure 3.14 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques

Les résultats ont montré que la concentration des composés phénoliques dans les aiguilles du cèdre de l'Atlas est beaucoup plus élevée que dans les cônes de cet arbre (Tableau 3.11). Elle est respectivement de $13,9 \pm 0,36$ mg d'équivalent d'acide Gallique/g d'aiguilles sèches et $3,91 \pm 0,14$ mg d'équivalent d'acide Gallique/g de cônes secs (Détails en Appendice D).

Les conditions climatiques de l'habitat (température élevée, forte exposition solaire, sécheresse et salinité) stimulent la biosynthèse de métabolites secondaires tels que les composés phénoliques. En effet, le contenu phénolique d'une plante dépend d'un nombre de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (l'environnement) [191;192].

Tableau 3.11 : Absorbances et concentrations des composés phénoliques

	Aiguilles (1mg/ml)	Cônes (0,5mg/ml)
Absorbance de l'extrait méthanolique	$0,461 \pm 0,0225$	$0,318 \pm 0,014$
Concentration des composés phénoliques dans l'extrait méthanolique (mg de GAE/g)	$44,72 \pm 1,16$	$63,63 \pm 2,29$
Concentration des composés phénoliques dans le matériel végétal sec (mg de GAE/g)	$13,9 \pm 0,36$	$3,91 \pm 0,14$

3.2.8. Flavonoïdes

La raison principale pour laquelle nous avons choisi cette classe de composés phénoliques, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe la plus importante des composés phénoliques, avec plus de 5000 composés déjà décrits [193]. Ainsi, Les flavonoïdes sont considérés comme les composés phénoliques les plus importants, en raison de leur large gamme d'activités chimiques et biologiques, y compris les propriétés anti-oxydantes et anti-radicalaires [126].

Les teneurs en flavonoides sont de $17,34 \pm 0,44$ mg/g d'extrait méthanolique des aiguilles en équivalent Rutine et $20,47 \pm 0,52$ mg/g d'extrait

méthanolique des cônes en équivalent Rutine. Ces teneurs représentent respectivement 38,78% et 32,22% de l'ensemble des composés phénoliques.

Tableau 3.12 : Teneurs en flavonoïdes

	Aiguilles	Cônes
teneur en flavonoïdes (mg/g de l'extrait méthanolique en équivalent Rutine)	17,34 ± 0,44	20,47 ± 0,52
teneur en flavonoïdes (mg/g de matériel végétal sec en équivalent Rutine)	5,39 ± 0,14	1,26 ± 0,03

FADEL et *al.*, [14] ont signalé une concentration de $16,86 \pm 5,318\mu\text{g}$ en équivalent Quercetine/mg d'extrait éthanolique de la partie aérienne du cèdre de l'Atlas dans la région des Aurès.

3.2.9. Tanins

3.2.9.1. Analyse qualitative

La réaction du FeCl_3 avec nos échantillons a produit une couleur brune verdâtre, signifiant ainsi que les extraits méthanoliques des aiguilles et des cônes du cèdre de l'Atlas contiennent des tannins catéchiques (condensés). Ce résultat est en accord avec les observations de SCALBERT et *al.*, [194], selon lesquelles les tanins condensés ont été identifiés chez les gymnospermes et les angiospermes. Par contre, les tanins hydrolysables sont limités à quelques ordres de dicotylédones. Selon PARIS et MOYSE [104], les tanins possèdent des propriétés anti-inflammatoires dans le cas des brûlures.

3.2.9.2. Analyse quantitative

Suite aux mesures de l'absorbance de la catéchine (Détails en Appendice D) à différentes concentrations (0 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,5 mg/ml et 1 mg/ml), nous avons obtenu la courbe d'étalonnage utilisée pour le dosage des tanins condensés (Figure 3.15). Le coefficient de détermination ($R^2=0,9394$) montre que l'équation de la droite de régression ($y=2,4363x$) est capable de déterminer 93,94% de la distribution des points. Ce

coefficient de détermination qui est très proche de 1, indique que le pouvoir prédictif est très fort.

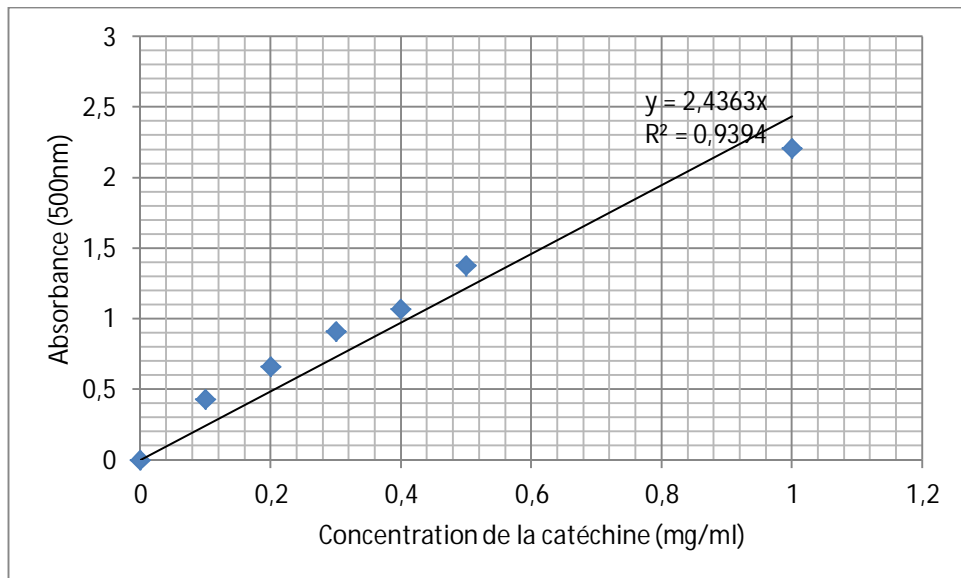


Figure 3.15: Courbe d'étalonnage pour le dosage des tanins condensés

Les résultats du dosage (Tableau 3.13) révèlent que les aiguilles de l'arbre étudié sont plus riches en tanins condensés que les cônes.

Tableau 3.13 : Absorbances et concentrations des tanins condensés

	Aiguilles (5mg/ml)	Cônes (10mg/ml)
Absorbance de l'extrait méthanolique	0,987 ± 0,011	1,120 ± 0,026
Concentration des tanins condensés dans l'extrait méthanolique (mg de EC/g)	0,81 ± 0,01	0,46 ± 0,01
Concentration des tanins condensés dans le matériel végétal sec (mg de EC/g)	0,25 ± 0,003	0,03 ± 0,001

3.2.10. Saponines

La hauteur de la mousse obtenue est inférieure à 1 cm dans l'ensemble des tubes contenant les décoctés aqueux des cônes et du bois. Ces résultats montrent l'absence des saponines dans les cônes et le bois du Cèdre de l'Atlas.

Concernant le décocté aqueux des aiguilles, une mousse de 1 cm a été détectée dans le 6^{ème} tube, signifiant ainsi que l'indice de mousse est de 83. Selon DOHOU et *al.*, [131], la présence de saponines dans une plante n'est confirmée qu'avec un indice supérieur à 100.

3.2.11. Contrôle des crèmes dermiques

Les crèmes dermiques formulées à base des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes du cèdre de l'Atlas ont subi une série de tests organoleptiques, physiques et microbiologiques :

3.2.11.1. Caractères organoleptiques

Les crèmes obtenues lors de nos préparations sont de couleur blanche, brillante et d'un aspect onctueux. Les odeurs qu'elles dégagent sont celles des huiles essentielles utilisées.

3.2.11.2. Homogénéité

L'examen microscopique a dévoilé un aspect homogène des émulsions étudiées, dont le diamètre moyen des particules varie de 1 à 5 μm donc les émulsions sont de type poly dispersées (différentes tailles des particules). Selon MERCIER et MARECHALE [195], un diamètre moyen des particules de la phase dispersée dans une émulsion de type L/H inférieure à 10 μm , est un critère d'homogénéité.

3.2.11.3. pH (potentiel d'Hydrogène)

Le pH des crèmes dermiques à base des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes du cèdre de l'Atlas sont par ordre de 5,38, 5,8 et 5,82. Il est à noter que ces valeurs sont très proches de celle de la peau.

Afin de contrôler la prolifération de la flore naturellement présente à la surface de la peau, le pH cutané est compris entre 5 et 5,5 (donc légèrement acide). Au contact des produits alcalins (dont le pH est supérieur à 7) ou plus acide que la peau, le pH cutané est modifié [196].

3.2.11.4. Stabilité et vieillissement accéléré

Lors du test de stabilité et vieillissement accéléré par centrifugation à vitesse constante (4500 tours/mn) pendant 30 min, aucun phénomène d'instabilité n'est apparu. La résistance des trois crèmes dermiques testées à la centrifugation (critère de stabilité) est apparue très bonne en gardant un aspect homogène sans aucun déphasage.

3.2.11.5. Qualité microbiologique

Les crèmes dermiques ont été soumises à des analyses microbiologiques visant à déterminer le taux de contaminations bactérienne et fongique et à vérifier l'absence de germes pathogènes. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau 3.14 : Qualité microbiologique des crèmes dermiques à base des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas

Germes recherchés	Crème à base de l'huile essentielle du bois (UFC/g)	Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles (UFC/g)	Crème à base de l'huile essentielle des cônes (UFC/g)	Normes de la Pharmacopée Européenne [138] (UFC/g)
Germes aérobies viables totaux	0	0	0	≤ 200
Moisissures et levures	0	0	0	≤ 20
Entérobactéries	0	0	0	≤ 10
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0

Après incubation sur géloses TSA et sur milieu Sabouraud, aucune croissance bactérienne ou fongique n'a été décelée. Aucune poussé de colonie n'a été constatée pour les germes spécifiques : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*,

Ces résultats confirment en réalité l'utilisation des huiles essentielles comme conservateurs antimicrobiens dans les préparations topiques [197].

3.3. Résultats des tests biologiques

3.3.1. Activité antiradicalaire

L'activité antiradicalaire exprime la capacité de réduction des radicaux libres. Afin d'évaluer le pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques des aiguilles et des cônes du cèdre de l'Atlas et de le comparer aux standards (acide gallique, Quercetine, acide ascorbique, Rutine et α tocophérol), nous avons opté pour la méthode au DPPH. Ce radical libre est de couleur violet sombre, cependant lorsqu'il est piégé par des substances antiradicalaires, la forme réduite confère à la solution une coloration jaune pâle. Ce virage de couleur et son intensité dépend de la nature, de la concentration et de la puissance de la substance antiradicalaire.

Les résultats exprimés en pourcentage d'activité anti-radicalaire (Détails en Appendice D) révèlent que tous les substrats testés sont des antiradicalaires.

Les courbes obtenues dans les Figure 3.16 et 3.17 montrent que le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des aiguilles et des cônes augmente en fonction de leur concentration de façon exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui signifie la réduction presque totale du DPPH en sa forme non radicalaire. Par rapport à l'extrait méthanolique des aiguilles, l'extrait méthanolique des cônes a une forte activité antiradicalaire. Le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique des cônes a atteint $89,69 \pm 0,02\%$ pour une concentration de 0,4mg/ml seulement. Cependant, nous avons remarqué que pour une concentration de 1,6mg/ml, l'extrait méthanolique des aiguilles a piégé $68,38 \pm 0,44\%$ des radicaux libres.

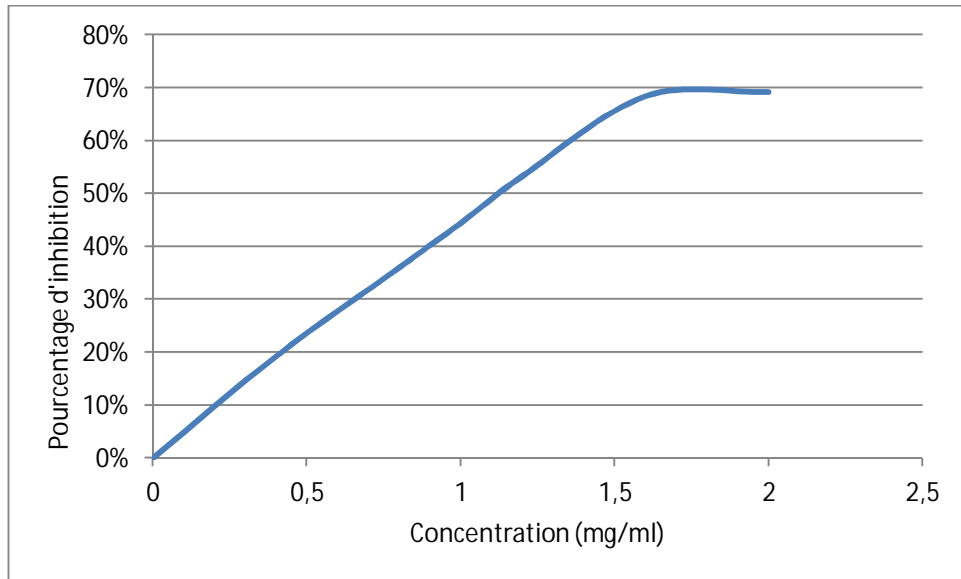


Figure 3.16: Pourcentage d'inhibition du pouvoir oxydant du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique des aiguilles

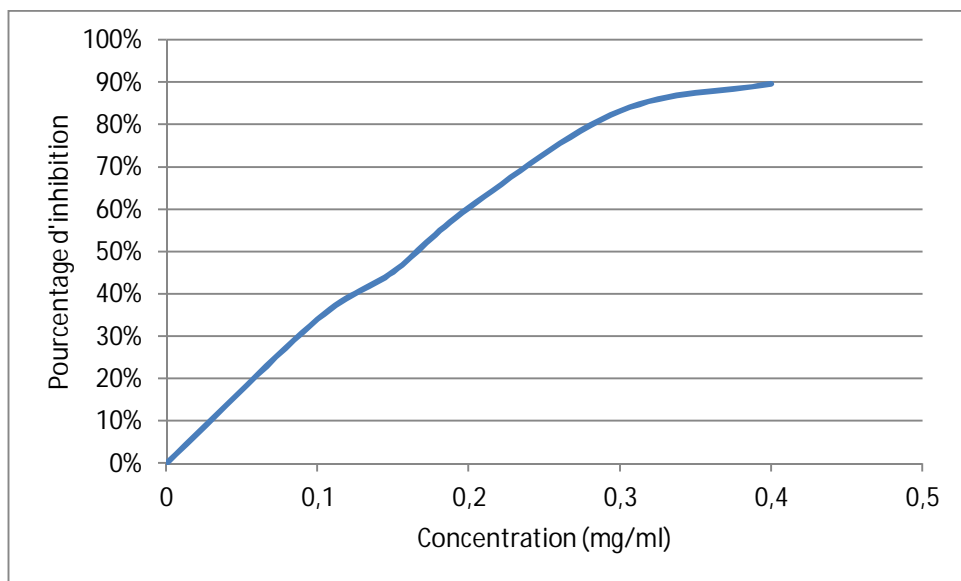


Figure 3.17: Pourcentage d'inhibition du pouvoir oxydant du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique des cônes

Les extraits méthanoliques des cônes et des aiguilles de *Cedrus atlantica* possèdent une activité antiradicalaire qui est liée à leur composition chimique. Il est difficile d'attribuer cette activité à un seul composé puisque un effet de synergie entre les différents composés peut avoir lieu. Mais, cette capacité peut probablement s'expliquer par la présence de certains métabolites actifs.

Plusieurs études ont révélé que la présence des composés phénoliques dans les plantes est associée à leurs activités antioxydantes, cela est probablement due à leurs propriétés réductrices qui les rendent des agents réducteurs ou des donneurs d'hydrogène [198; 199].

Les autres composés phénoliques mineurs ne devraient pas être négligés, car la synergie entre les différents produits chimiques doit être prise en considération dans l'activité biologique [147]. En effet, selon ARUOMA et *al.*, [63] et BAHORUN [2], les flavonoïdes sont reconnus pour leurs activités antioxydantes et d'après les travaux d'OKUDA et *al.*, [70] et d' OKAMURA et *al.*, [71], les tannins catéchiques présentent également des propriétés antioxydantes.

Ainsi, le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique des cônes qui est plus élevé que celui de l'extrait méthanolique des aiguilles peut être expliqué par les concentrations des composés phénoliques et des flavonoïdes qui sont plus élevées dans le premier extrait que dans le deuxième (Figure 3.18).

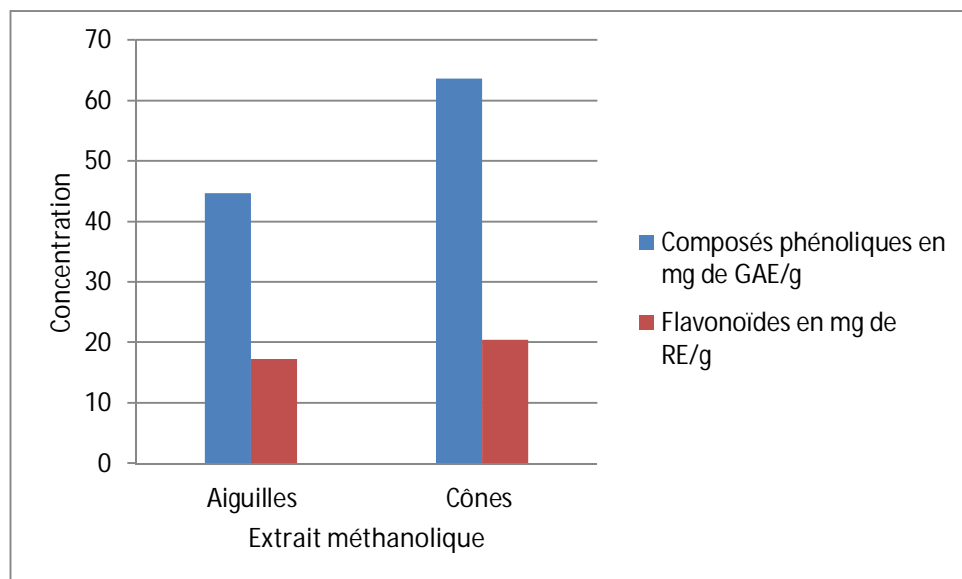


Figure 3.18 : Concentrations des composés phénoliques et des flavonoïdes dans les extraits méthanoliques des aiguilles et des cônes

Les Figures 3.19, 3.20, 3.21, 3.22 et 3.23 illustrent respectivement les variations de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration de l'acide gallique, la Quercetine, l'acide ascorbique, la Rutine et l' α tocophérol.

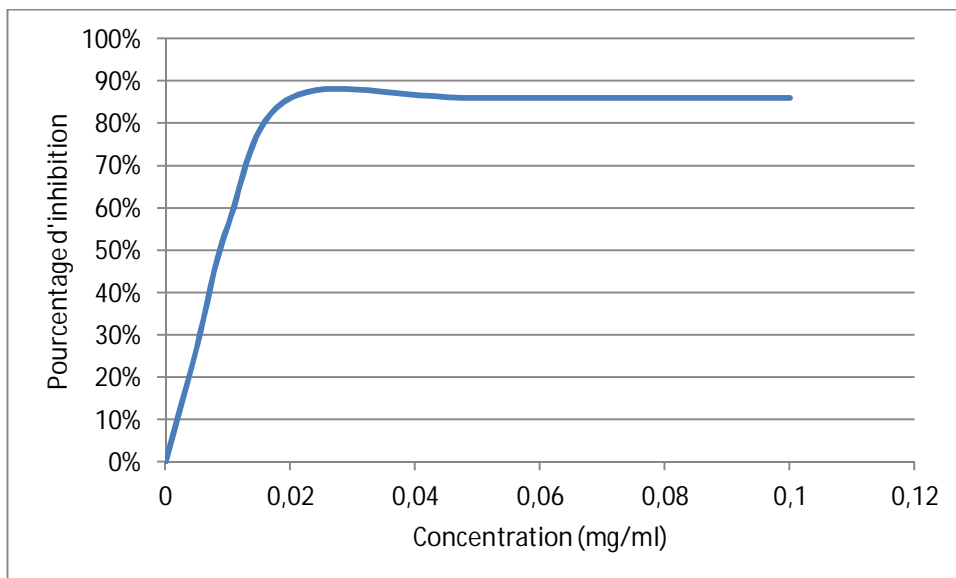


Figure 3.19: Pourcentage d'inhibition du pouvoir oxydant du DPPH en fonction de la concentration de l'acide gallique

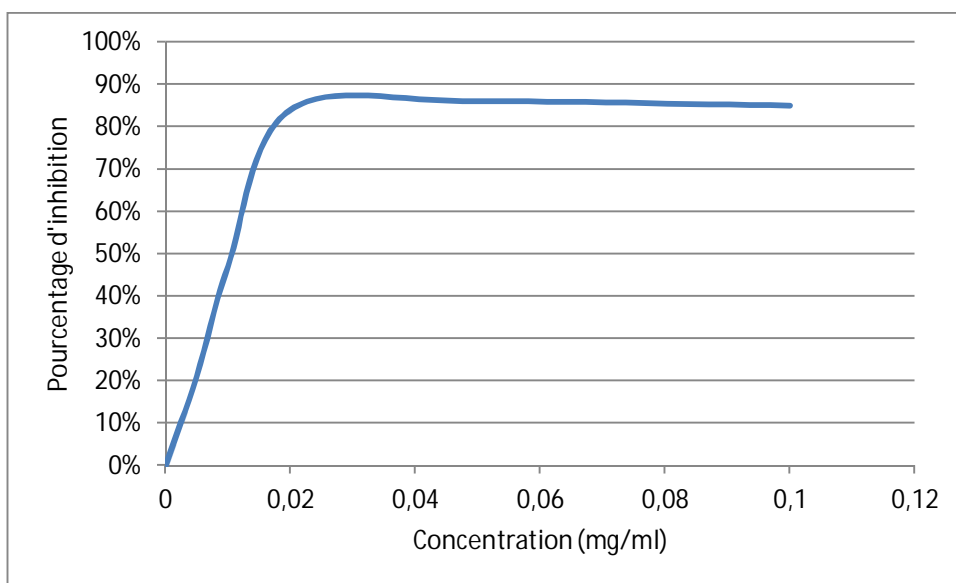


Figure 3.20: Pourcentage d'inhibition du pouvoir oxydant du DPPH en fonction de la concentration de la Quercetine

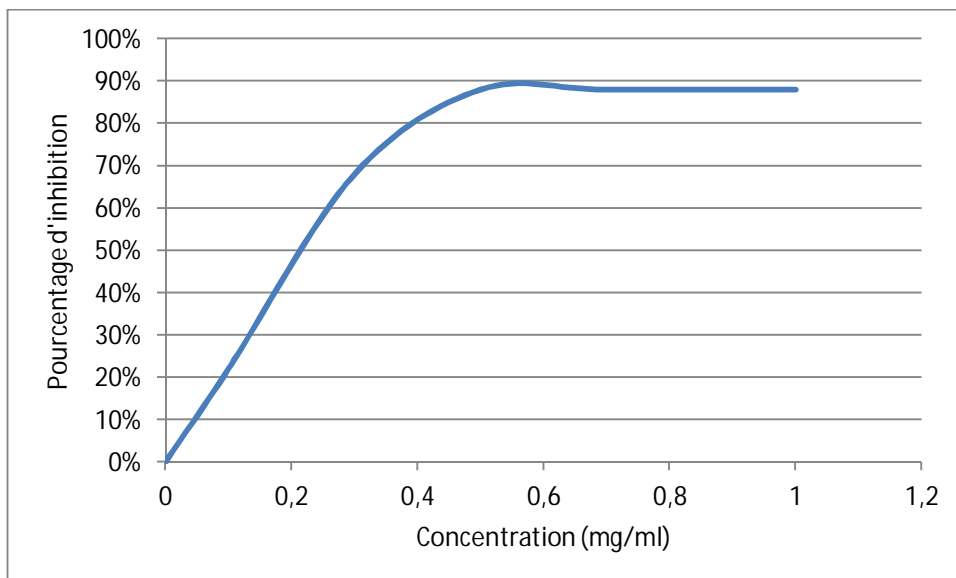


Figure 3.21: Pourcentage d'inhibition du pouvoir oxydant du DPPH en fonction de la concentration de l' α tocophérol

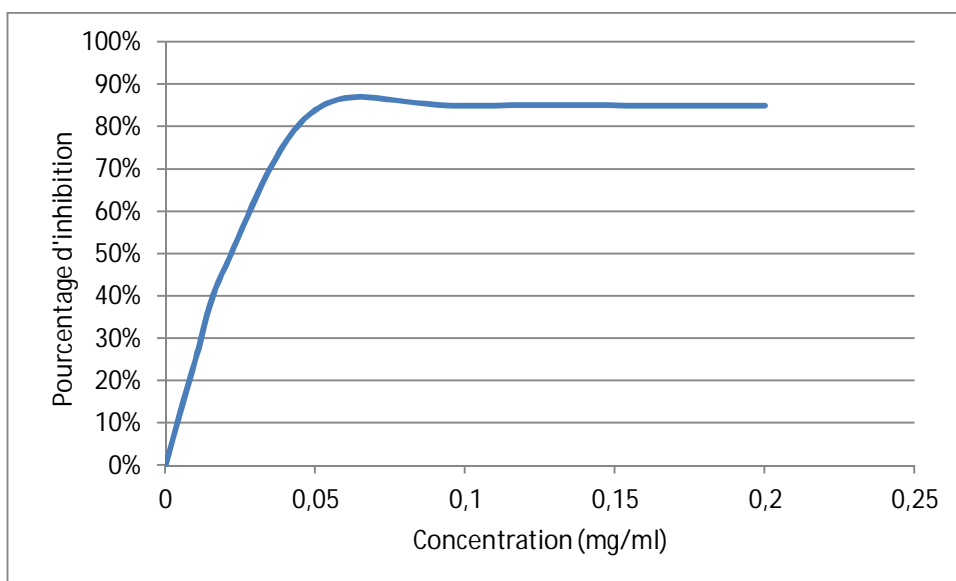


Figure 3.22 : Pourcentage d'inhibition du pouvoir oxydant du DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique

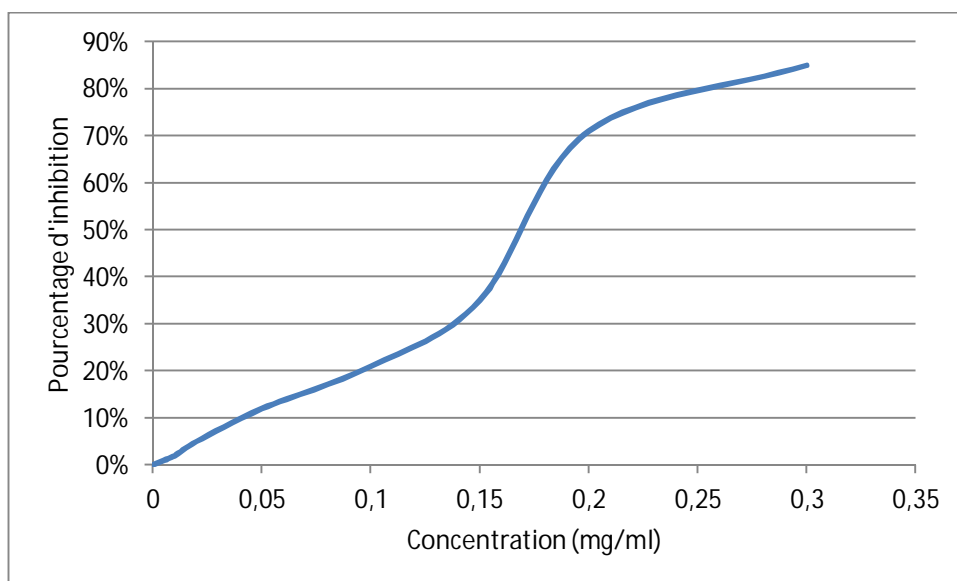


Figure 3.23: Pourcentage d'inhibition du pouvoir oxydant du DPPH en fonction de la concentration de la Rutine

L'activité antradraculaire est exprimée en EC50 (Tableau 3.15), ce paramètre a été introduit par Brand-Williams et ses collaborateurs. Il définit la concentration efficace du substrat responsable de la perte de 50% de l'activité du DPPH [200]. La plus faible valeur de la EC50 correspond au pouvoir réducteur le plus élevé. L'acide gallique, la quercétine et l'acide ascorbique ont présenté l'activité anti-radicalaire la plus élevée, suivie par l'extrait méthanolique des cônes (EC50 = 0,16 ± 0,01mg/ml). Ce dernier présente un pouvoir antioxydant plus important que celui de deux standards : Rutine et α tocophérol.

Tableau 3.15 : EC50 des standards et des extraits méthanoliques des aiguilles et des cônes du Cèdre de l'Atlas

Substrat	EC50
Acide gallique	0,01±0,00 mg/ml
Quercétine	0,01±0,00 mg/ml
Acide ascorbique	0,03±0,01 mg/ml
Extrait méthanolique des cônes	0,16± 0,01mg/ml
Rutine	0,17±0,02 mg/ml
α tocophérol	0,22±0,01mg/ml
Extrait méthanolique des aiguilles	1,12 ± 0,01mg/ml

Selon AGRAWAL et RASTOGI [201], les aiguilles du cèdre de l'Atlas sont connus pour leur contenance en Taxifoline (Flavanones), dont l'efficacité comme agent antioxydant a été approuvée par TOURNAIRE et *al.*, [202].

Les travaux effectués sur l'activité anti-radicalaire des différentes fractions polaires du cèdre de l'Atlas dévoilent que ces dernières possèdent des propriétés anti-radicalaires comme il est indiqué :

L'étude menée par NAIMI et *al.*, [203] sur l'extrait flavonoïque des graines du cèdre de l'Atlas de la région d'Azrou du Maroc, a montré que ce dernier présente un potentiel anti-radicalaire atteignant 86,29% à une concentration de 1mg/ml et une EC50 égale à 0,40 mg/ml.

Une autre étude réalisée par FADEL et *al.*, [14], sur l'extrait éthanolique de la partie aérienne du cèdre de l'Atlas de l'Aurès de l'Algérie a montré la présence d'une bonne activité anti-radicalaire avec une EC50 égale à 8,919 $\mu\text{g/ml} \pm 0,353$.

3.3.2. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour des disques contenant les solutions à tester. La lecture s'effectue par la mesure du diamètre d'inhibition observé. Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibition. Selon CAROVIC-STANKO et *al.*, [204], l'inhibition est considérée respectivement comme légère, modérée ou importante, en ayant un diamètre $D < 10\text{mm}$, $10\text{mm} \geq D \leq 15\text{mm}$, $D > 15\text{mm}$.

Les résultats de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits méthanoliques du cèdre de l'Atlas, de l'antibiotique et de l'antifongique sont rapportés dans les tableaux 3.16 et 3.17. Ces résultats représentent les zones d'inhibition en tenant compte du diamètre des disques (6 mm) et leurs interprétations.

Tableau 3.16 : Résultats des tests antimicrobiens (mm)

	Souches	HEB	HEA	HEC	EMA	EMC	DMSO	C	F
Bactéries Gram+	<i>Micrococcus luteus</i>	13,60 ±0,23	13,29 ±0,05	14,48 ±0,51	–	7,32 ±0,28	–	32,04 ±0,68	–
	<i>Staphylococcus aureus</i>	9,78 ±0,14	10,85 ±0,72	–	8,37 ±0,29	–	–	22,34 ±0,2	–
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10,07 ±0,02	12,54 ±0,68	13,51 ±1,24	8,14 ±0,23	8,05 ±0,06	–	28,55 ±0,30	–
	<i>Enterococcus faecalis</i>	12,02 ±0,12	22,96 ±0,60	32,83 ±2,28	8,67 ±0,18	9,61 ±0,25	–	22,78 ±0,36	–
	<i>Bacillus subtilis</i>	9,56 ±0,28	14,08 ±0,66	25,16 ±0,30	–	6,59 ±0,12	–	31,82 ±0,42	–
Bactéries Gram-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	–	9,75 ±0,31	–	–	–	–	34,12 ±0,47	–
	<i>Escherichia coli</i>	–	8,27 ±0,24	–	–	–	–	26,23 ±0,07	–
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7,18 ±0,04	–	–	–	–	–	13,99 ±0,75	–
chamignon	<i>Candida albicans</i>	–	9,15 ±0,33	7,42 ±0,05	–	–	–	–	9,15 ±0,15

HEB : Huile essentielle du bois

HEA: Huile essentielle des aiguilles

HEC : Huile essentielle des cônes

EMA : Extrait méthanolique des aiguilles

EMC : Extrait méthanolique des cônes

DMSO : Dimethyl de sulfoxyde

C : Chloramphenicol 30mcg

F : Amphotericine B

Ces résultats montrent que le pouvoir antimicrobien est en relation avec la nature du produit (huile essentielle ou extrait méthanolique), l'organe végétal en question (bois, aiguilles ou cônes) et la souche testée.

En général, les huiles essentielles possèdent un pouvoir antimicrobien plus important, ce qui est dû selon DAVIDSON [205] à leur caractère lipophile conduisant à leur accumulation dans les membranes, entraînant ainsi un appauvrissement d'énergie. Elles affectent les fonctions de diverses structures

moléculaires membranaires telles que les systèmes de transport, les enzymes, les canaux ioniques et les récepteurs [206].

Il est communément reconnu que les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes aux huiles essentielles [207]. Cela est dû à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram négatif est plus riche en lipo-polysaccharides, la rendant plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer [208]. Nos huiles essentielles n'ont pas échappé à cette constatation car les bactéries Gram positif se sont montrées beaucoup plus sensibles par rapport aux bactéries Gram négatif.

Tableau 3.17 : Interprétation des résultats des tests antimicrobiens

	Souches	HEB	HEA	HEC	EMA	EMC	DMSO	C	F
Bactéries Gram+	<i>Micrococcu sluteus</i>	++	++	++	-	+	-	+++	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	++	-	+	-	-	+++	-
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	++	++	++	+	+	-	+++	-
	<i>Enterococcusfa ecalis</i>	++	+++	+++	+	+	-	+++	-
	<i>Bacillus subtilis</i>	+	++	+++	-	+	-	+++	-
Bactéries Gram-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	+	-	-	-	-	+++	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	+	-	-	-	-	+++	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	-	-	-	-	-	++	-
chamignons	<i>Candida albicans</i>	-	+	+	-	-	-	-	+

HEB : Huile essentielle du bois

HEA: Huile essentielle des aiguilles

HEC : Huile essentielle des cônes

EMA : Extrait méthanolique des aiguilles

EMC : Extrait méthanolique des cônes

DMSO : Dimethyl de sulfoxide

C : Chloramphenicol 30 µg

F :Amphotericine B

+++ : Inhibition importante

++ : Inhibition modéré

+: Inhibition légère

- : Pas d'inhibition

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles varie en fonction des souches testées.

Les quatre souches microbiennes suivantes : *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis* et *Bacillus subtilis* se sont montrées sensibles vis-à-vis des trois huiles essentielles testées avec une sensibilité plus marquée à l'huile essentielle des cônes. Ce qui est probablement due à la richesse de cette dernière en alcools terpéniques qui semblent agir par la dénaturation protéique [206]. Selon SATRANI et al., [11], les composés majeurs des huiles essentielles sont classés selon leur pouvoir antimicrobien dans l'ordre décroissant suivant : alcools > cétones > hydrocarbures. Ainsi, les composés mineurs ont un rôle essentiel à jouer dans l'activité antibactérienne, cela est probablement dû aux effets synergiques avec les autres composants [85].

Enterococcus faecalis ATCC 2035 est le microorganisme Gram positif le plus sensible vis-à-vis de l'huile essentielle des cônes avec une zone d'inhibition estimée à 32,83 mm \pm 2,28 (Figure 3.24) et vis-à-vis de l'huile essentielle des aiguilles avec une zone d'inhibition estimée à 22,96 mm \pm 0,60. Ces zones d'inhibition, citées précédemment, sont plus larges que celle du Chloramphenicol 30 μ g (22,78mm \pm 0,36). *Enterococcus faecalis* est suivi par *Bacillus subtilis* ATCC 9372 par rapport à sa sensibilité à l'huile essentielle des cônes avec une zone d'inhibition moins importante de 25,16 mm \pm 0,30 (Figure 3.25).

Le test ANOVA (Appendice E) a dévoilé l'existence une différence hautement significative entre l'effet antibactérien de l'huile essentielle des cônes, l'huile essentielle des aiguilles et le Chloramphenicol contre *Enterococcus faecalis*. Une analyse statistique plus poussée (Post hoc, Tukey) a montré que l'effet de l'huile essentielle des cônes est meilleur (Sig=0,001) que celui de l'antibiotique testé dont l'effet est comparable à celui de l'huile essentielle des aiguilles (Sig=0,991).

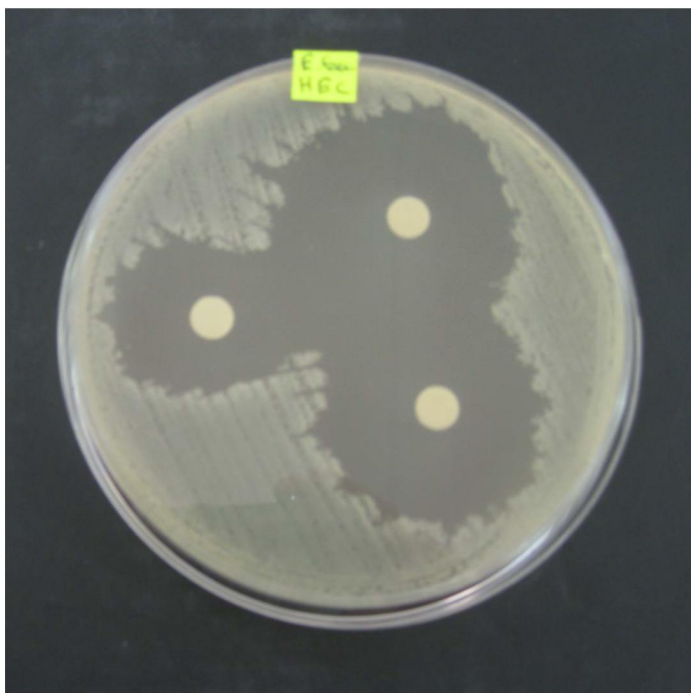


Figure 3.24 : Effet antibactérien de l'huile essentielle des cônes sur *Enterococcus faecalis* ATCC 2035

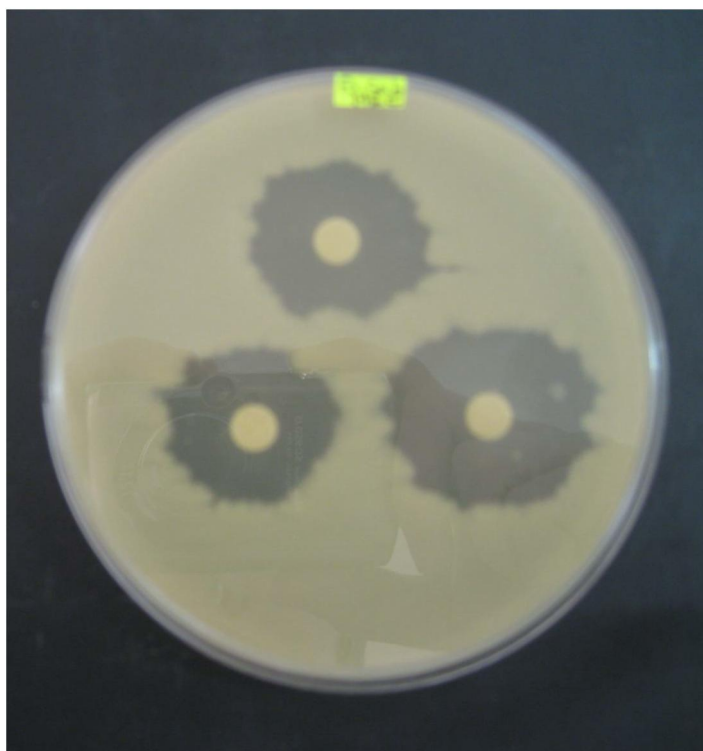


Figure 3.25 : Effet antibactérien de l'huile essentielle des cônes sur *Bacillus subtilis* ATCC 937

Les résultats obtenus par les extraits méthanoliques ont montré une faible activité antibactérienne contre les bactéries Gram positif (une légère inhibition de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 et *Enterococcus faecalis* ATCC 2035 par l'extrait méthanolique des aiguilles et une légère inhibition de toutes les bactéries Gram positif sauf *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 par l'extrait méthanolique des cônes). Ainsi, aucun pouvoir antimicrobien n'a été enregistré contre les bactéries Gram négatif et *Candida albicans* ATCC 10231. Ce pouvoir antimicrobien peut probablement s'accroître en augmentant la concentration des extraits méthanoliques, car ces derniers contiennent différents métabolites secondaires réputés pour ce type de propriétés. En effet, selon KERHARO et ADAM [209] et N'GUESSAN [210], les polyphénols, notamment les tanins catéchiques sont efficaces contre la croissance bactérienne.

L'antibiogramme consiste à rechercher la sensibilité des souches vis-à-vis d'un antibiotique et de comparer son pouvoir inhibiteur par rapport à celui des huiles essentielles et des extraits méthanoliques. Nous avons testé l'activité du Chloramphénicol 30 µg par la même méthode de diffusion sur gélose. La mesure des zones d'inhibition nous montrent que toutes les souches bactériennes sont très sensibles vis-à-vis de l'antibiotique, exceptée *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 qui est modérément sensible.

Il est à noter que les souches : *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Enterococcus faecalis* ATCC 2035 ont montré une sensibilité à toutes les huiles essentielles et aux différents extraits méthanoliques.

La croissance de *Candida albicans* ATCC 10231 a été légèrement inhibée par les huiles essentielles des aiguilles et des cônes ainsi que l'antifongique testé (Amphotéricine B).

L'étude effectuée par SATRANI et al., [11] sur l'effet antibactérien de l'huile essentielle du bois du cèdre de l'Atlas du Maroc a révélé que cette dernière inhibe la croissance de *Micrococcus luteus*, de *Staphylococcus aureus*, de *Bacillus subtilis* et de *Escherichia coli*. Cela est en accord avec nos résultats à l'exception pour le dernier germe qui s'est montré résistant dans cette étude.

Selon les travaux de PAUN et *al.*, [12] sur les bactéries associées aux intoxications alimentaires (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*), l'huile essentielle des cônes du cèdre de l'Atlas du Maroc ne présente aucun effet inhibiteur sur la croissance de ces germes. Ces résultats concordent avec ceux de notre étude.

Dans une étude menée sur les cônes du cèdre de l'Atlas de la région de Khenchla (Algérie), MAYA et *al.*, [211] ont montré que L'extrait méthanolique présente une activité antibactérienne potentielle, notamment , contre *E faecalis*. Ces constatations concordent avec nos résultats.

3.3.3. Irritation primaire cutanée

Les résultats de l'application des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas sur la peau scarifiée et non scarifiée des lapins, sont indiqués dans le tableau suivant :

Tableau 3.18 : Résultats du test d'irritation primaire cutanée

		Peau scarifiée		Peau non scarifiée		IPC
		Eryt	Oed	Eryt	Oed	
1 ^{er} lot	LP1	1	0	0	0	0,5
	LP2	1	0	0	0	
	LP3	1	0	0	0	
2 ^{ème} lot	LP1	1	0	0	0	0,66
	LP2	1	0	0	0	
	LP3	1	1	0	0	
3 ^{ème} lot	LP1	1	0	0	0	0,5
	LP2	1	0	0	0	
	LP3	1	0	0	0	

Eryt : érythème; **Oed** : œdème; **0** : absence; **1** : très léger

Cliniquement, les effets observés sont uniquement de légers érythèmes au cours des premières 24 heures. Il est à noter également une absence d'œdèmes

sauf pour un seul flanc traité par l'huile essentielle des aiguilles où un œdème très léger a été à peine visible.

En se référant à la littérature [152] et après calcul de l'indice d'irritation primaire cutané, il s'est avéré que les huiles essentielles du bois et des cônes du cèdre de l'Atlas ne sont pas irritantes ($IPC \leq 0,5$). Par contre l'huile essentielle des aiguilles est légèrement irritante ($0,5 < IPC \leq 2$).

Selon OPDYKE [212], L'huile essentielle du bois du cèdre de l'Atlas pure est légèrement irritante pour les lapins et non irritante pour les souris ou les cochons. Ainsi, après l'avoir testé à 8% sur 25 volontaires, aucun signe d'irritation ou de sensibilité n'a été enregistré.

3.3.4. Tolérance locale après applications cutanées itératives

Pour les résultats relatifs à l'état général des animaux, aucune perturbation dans le développement corporel des lapins n'a été observée. Ainsi aucun changement visible n'a été constaté chez les lapins traités par rapport au lot témoin, l'appétit et le comportement sont restés identiques au lot témoin.

Sur le plan dermatologique, la peau n'a présenté aucune anomalie. L'épaisseur de pli cutané du côté traité est identique à celle du côté témoin pour chaque lapin.

Pour l'irritation cutanée par application itérative des crèmes dermiques, la peau des animaux traités n'est jamais apparue œdémateuse. Elle est certes devenue très légèrement érythémateuse dès la première application, mais de façon transitoire est pleinement réversible.

La repousse des poils des flancs traités avec les crèmes dermiques est plus importante par rapport aux flancs témoins. Ainsi, la peau est un peu rose du côté traité. Cela est peut être due aux propriétés que possède l'huile essentielle du cèdre de l'Atlas. Elle est réputée pour son pouvoir tonifiant du cuir chevelu et son pouvoir veinotonique [213]. Nos constatations sont en accord avec celles de ÖZMEN et *al.*, [214] car selon leurs travaux, l'huile essentielle du cèdre de l'Atlas

en combinaison avec d'autres huiles d'aromathérapie est utile pour le traitement de la perte des cheveux.

Par conséquent, les crèmes dermiques à base des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas sont relativement bien tolérées chez le lapin après des applications cutanées itératives durant 28 jours.

3.3.5. Activité anti-inflammatoire

Pour évaluer le pouvoir anti-inflammatoire cutané des crèmes dermiques à base des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes du cèdre de l'Atlas à 0,3%, des expériences ont été réalisées sur des œdèmes induits par application locale d'un produit à base d'huile de croton sur les oreilles des souris. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux du gel de Diclofenac de Soduim à une concentration de 1%. (Détails en Appendice D).

Après étude statistique (test de Student), nous avons constaté que les quatre produits testés ont provoqué une réduction de l'inflammation de façon très significative (Appendice E). Cette réduction se traduit par une inhibition de la formation d'œdème au niveau des oreilles droites traitées par rapport aux oreilles gauches (non traitées).

Le calcul du pourcentage de réduction d'œdème chez les souris du 1^{er} lot traitées par la crème à base d'huile essentielle du bois a révélé un taux de 47,42%. Ce pourcentage de réduction d'œdème est suivi par celui des souris du 3^{ème} lot, traitées par la crème à base d'huile essentielle des cônes (46,45%) et celui des souris du 2^{ème} lot traitées par la crème à base d'huile essentielle des aiguilles (45,55%). Le plus faible pourcentage de réduction d'inflammation a été enregistré pour les souris du 4^{ème} lot avec un taux de 43,71%. Ces souris ont été traitées par le produit de référence Diclofenac de Soduim en gel à 1% dont l'action anti-inflammatoire est déjà prouvée (Figure 3.26).

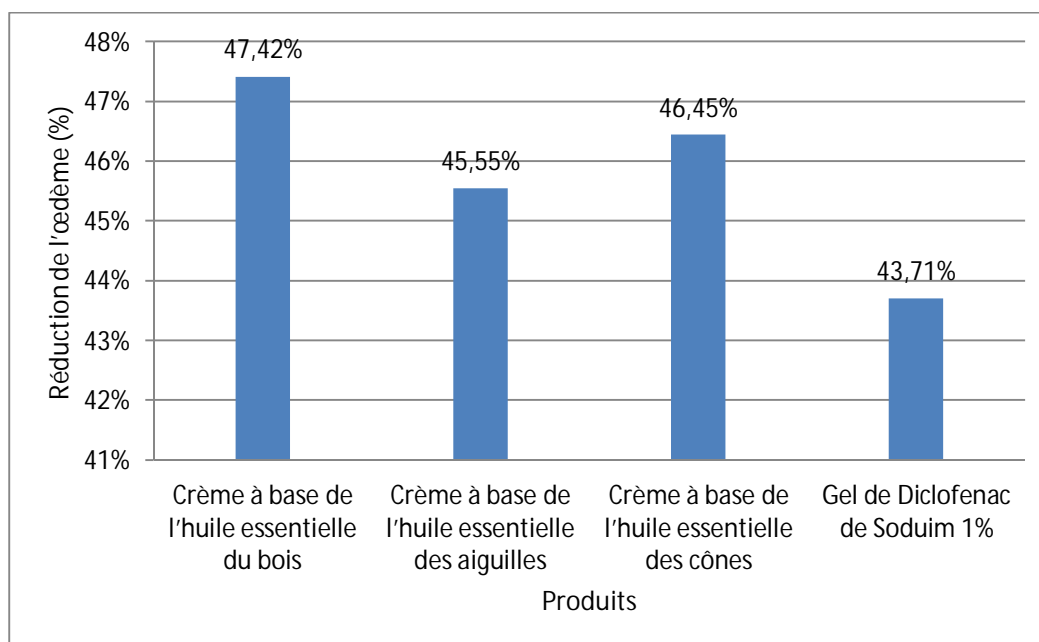


Figure 3.26: Pourcentage de réduction de l'œdème par les crèmes dermiques à base des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas et du gel de Diclofenac

L'étude statistique (Test ANOVA), a permis de déduire que les trois crèmes dermiques à base des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes de *Cedrus atlantica* M. possèdent des effets anti-inflammatoires importants avec des pourcentages de réduction d'œdème statistiquement semblables (Appendice E) à ceux d'un produit anti-inflammatoire commercialisé et dont l'efficacité a été approuvée (Diclofenac de Soduim en gel à 1%).

L'effet de l'huile de croton est dû principalement au principe actif 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA) qu'elle contient. Le TPA induit une réaction inflammatoire caractérisée par une production importante de médiateurs pro-inflammatoires, une augmentation de la perméabilité vasculaire et un œdème. Cette réaction est déclenchée par l'activation de la protéine-kinase C (PKC), qui favorise une augmentation de phospholipase A2 (PLA2). Cette enzyme catalyse l'hydrolyse des phospholipides membranaires en acide arachidonique. L'oxydation enzymatique de ce dernier par les cyclo-oxygénases ou par les lipo-oxygénases conduit à la formation des éicosanoïdes, des prostaglandines, des leucotriènes et des cytokines [215].

Les huiles essentielles possèdent pour la plupart une activité certaine sur le contrôle des médiateurs chimiques de l'inflammation [97]. Selon SAAD et *al.*, [206], plusieurs études ont montré l'effet anti-inflammatoire dû aux propriétés immunomodulatrices de certaines huiles essentielles par blocage de l'expression des cytokines intervenant dans le mécanisme inflammatoire.

A travers ce test, les résultats obtenus montrent que les crèmes dermiques ont une forte activité anti-inflammatoire, cela suggère que les huiles essentielles pourraient agir sur la phospholipase A2, la cyclo-oxygénase et/ou la lipo-oxygénase qui sont les principaux enzymes impliqués dans la libération des médiateurs pro- inflammatoires induite par le TPA. Ces propriétés anti-inflammatoires seraient liées au profil chimique de ces huiles. Les huiles essentielles, contenant en quantité importante des aldéhydes monoterpéniques possèdent, d'une manière générale, des propriétés anti-inflammatoires [216; 217; 218]. Selon Stanley et *al.*, [219]., ces molécules inhibent de façon significative la formation des cytokines pro-inflammatoires.

Plusieurs travaux impliquant des espèces voisines à *Cedrus atlantica* M. ont confirmé en général le pouvoir anti-inflammatoire du Cèdre:

Cedrus deodara est une espèce dont l'huile essentielle du bois contient principalement l' α -Himachalène(12,5%) et le β -Himachalène (43%) [220]. Cette huile essentielle dont les composés majoritaires sont semblables à ceux du cèdre de l'Atlas a montré une inhibition significative des œdèmes induits par le composé 48/80. Ce dernier est l'un des plus puissants déclencheurs de l'histamine et d'autres médiateurs de l'inflammation provenant des granulations de mastocytes, qui, à la libération, entraînent une réponse inflammatoire immédiate [221].

L'huile essentielle du bois de *C. deodara* est selon SHINDE et *al.*, [222], efficace contre les inflammations aiguës induite par le carragénine. Ce type d'œdème est sensible aux inhibiteurs de la cyclo-oxygénase impliquée dans la synthèse des prostaglandines [223].

La même huile essentielle a montrée également un effet anti-inflammatoire significatif contre les œdèmes induits par la nystatine. Antimycosique, la nystatine

induit des œdèmes par son action labilisante de la membrane lysosomale, libérant ainsi des enzymes hydrolytiques qui jouent un rôle important dans la survenue de l'inflammation. Il a été démontré que les prostaglandines sont également impliquées dans cet œdème. L'inhibition de l'œdème induit par la nystatine provoque selon SHINDE et *al.*, [221] une action stabilisatrice possible sur les membranes lysosomales et l'inhibition de la synthèse des prostaglandines.

Dans une étude menée par Tumen et *al.*, [224] sur l'huile essentielle des cônes de *Cedrus libani*, l'effet anti-inflammatoire a été examiné par la méthode de Whittle [225], basée sur l'inhibition de la perméabilité capillaire induite par l'acide acétique. Une activité anti-inflammatoire dépendante de la dose a été observée pour l'huile de cette espèce avec un pourcentage d'inhibition qui a atteint 30,5% à une dose de 200 mg / kg.

D'après ces résultats, nous pouvons déduire que les huiles essentielles de *Cedrus atlantica* et des espèces appartenant au même genre présentent des activités anti-inflammatoires.

Ainsi, les crèmes formulées à base des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas pourraient constituer une alternative dans la thérapeutique anti-inflammatoire du fait de leur meilleure accessibilité et de leur moindre toxicité en général, vis-à-vis des anti-inflammatoires classiques [103].

3.3.6. Activité cicatrisante

L'appréciation des effets cicatrisants des trois crèmes dermiques formulées à base des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas, a été réalisée par l'application de trois méthodes d'évaluation :

3.3.6.1. Méthode de scarification

Les Figures de 3.27 à 3.30 représentent l'évolution des moyennes de longueur des plaies pour les flancs traités et non traités des lapins ayant reçu les crèmes à base des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas et le Madécassol.

Nous constatons que la régression des courbes pour les plaies soignées dans les quatre premiers lots est beaucoup plus importante par rapport aux plaies témoins. De la sorte que la longueur des plaies traitées par les crèmes à base des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes ainsi que le Madécassol a baissé respectivement de 50 mm le 1^{er} jour jusqu'à 33,12 mm \pm 0,36 ; 28,24 mm \pm 1,21 ; 33,61mm \pm 1,10 et 30,8mm \pm 0,59 le 14^{ème} jour (Appendice D).

Le test statistique de Student (Appendice E) indique qu'il existe une différence hautement significative entre les longueurs des plaies dans les deux flancs des lapins des quatre lots en question (plaies ayant reçu le traitement et celles n'ayant rien reçu). Ceci indique que les crèmes à base des huiles essentielles et le Madécassol ont un effet très favorable sur la réduction de la taille des plaies.

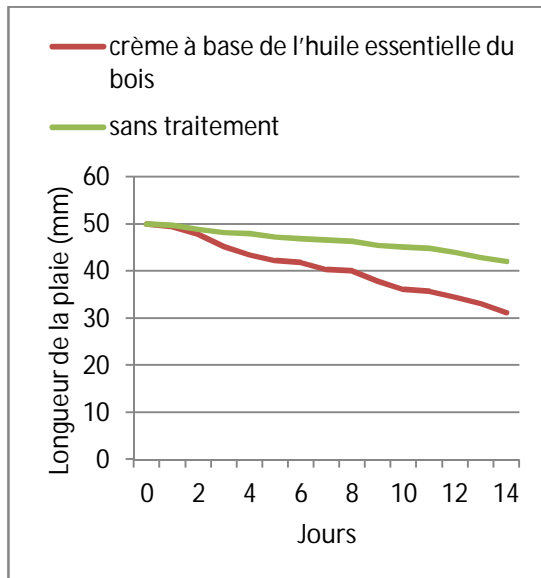


Figure 3.27: Longueur des plaies chez les lapins du 1^{er} lot

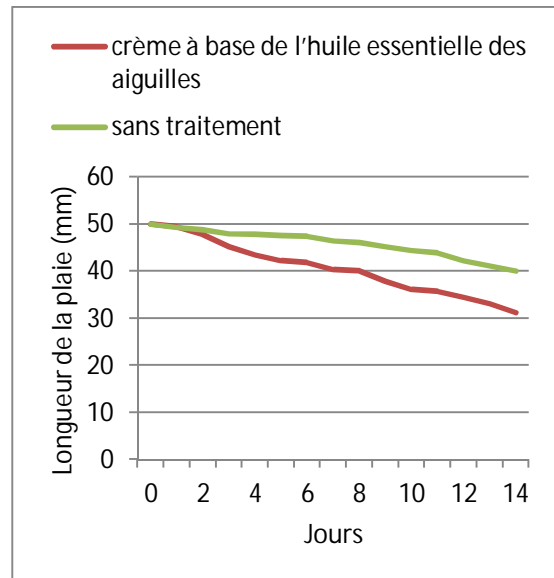


Figure 3.28: Longueur des plaies chez les lapins du 2^{ème} lot

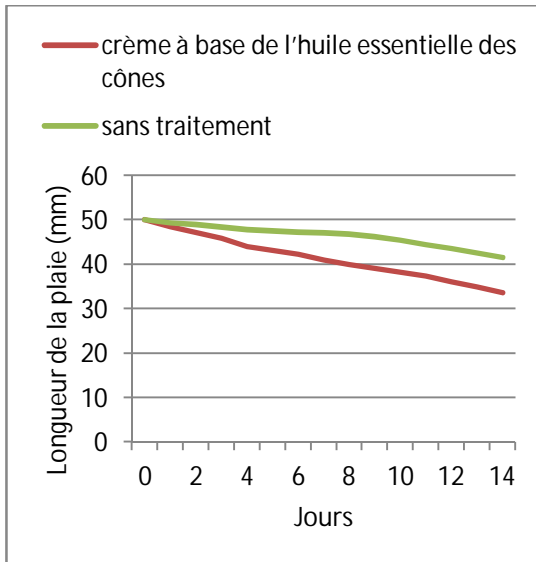


Figure 3.29 : Longueur des plaies chez les lapins du 3^{ème} lot

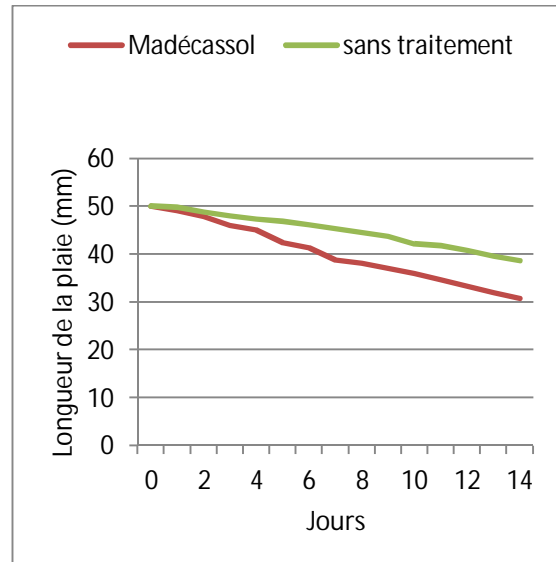


Figure 3.30 : Longueur des plaies chez les lapins du 4^{ème} lot

Dans le 5^{ème} lot, nous remarquons que la longueur des plaies ayant reçu le placebo a diminué partiellement pour atteindre $43,11 \text{ mm} \pm 0,07$ le 14^{ème} jour (Appendice D). Cette valeur n'est pas loin de celle des plaies n'ayant rien reçu. Cependant, il n'y a pas de différence significative (Appendice E) entre l'évolution des deux courbes (Figure 3.31). Toutefois, une légère réduction de la taille des plaies est remarquée. Nous supposons que ceci est lié au processus cicatriciel naturel du corps de l'animal.

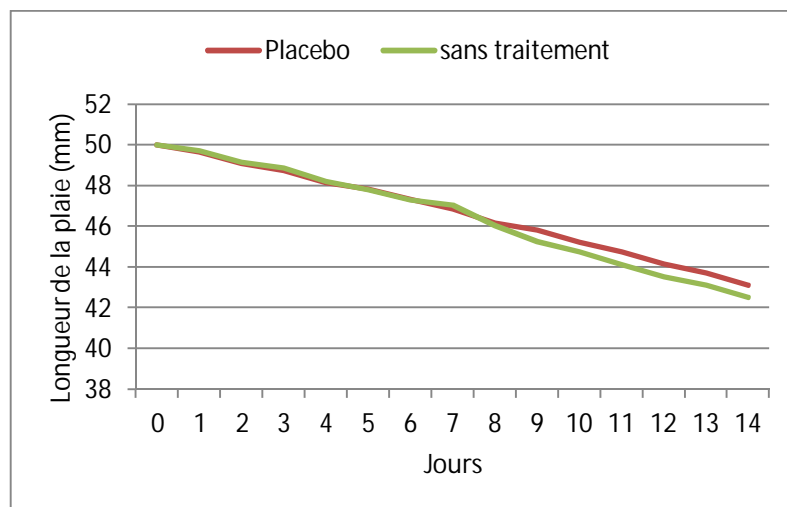


Figure 3.31: Longueur des plaies chez les lapins du 5^{ème} lot

Les résultats du suivi de l'évolution de la cicatrisation des plaies traitées par les préparations topiques en prenant en considération l'évolution de la cicatrisation des plaies non traitées sont reportés dans la Figure 3.32. Les scores obtenus pour le lot traité par la crème à base de l'huile essentielle des aiguilles sont les plus importants. Ainsi, les scores des crèmes à base des huiles essentielles du bois et des cônes ne diffèrent pas de ceux enregistrés pour le lot Madécassol. Cependant, nous constatons que le lot traité par le Placebo a enregistré des scores presque nuls.

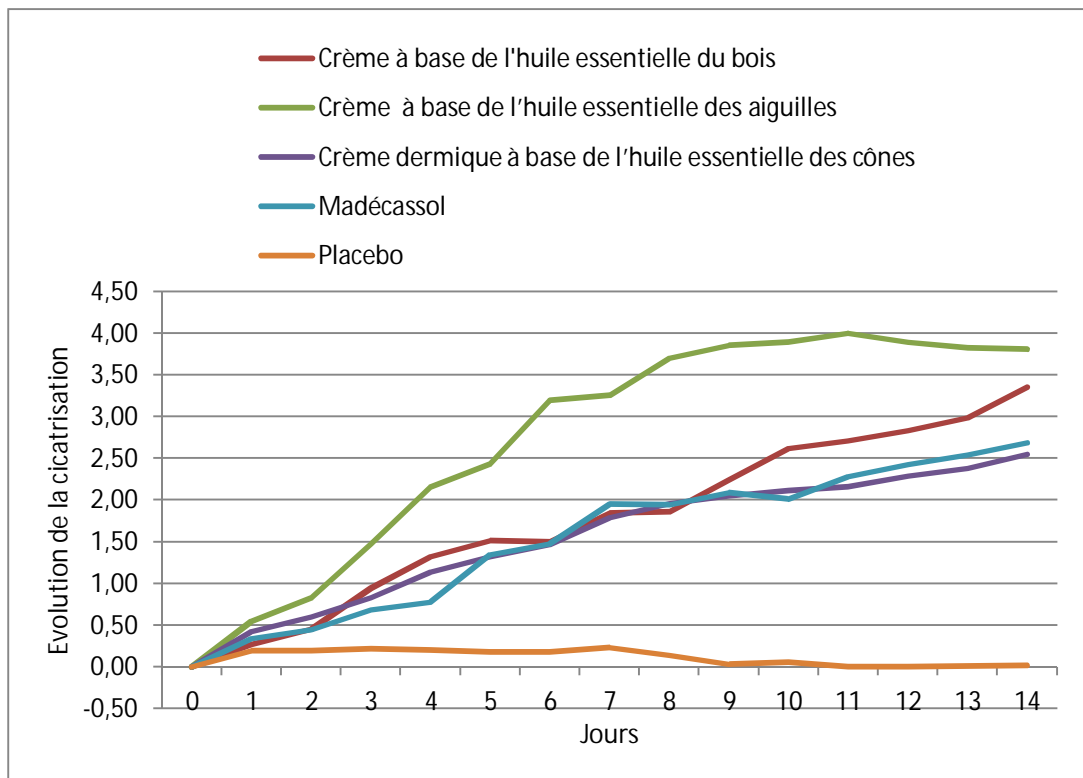


Figure 3.32: Evolution de la cicatrisation des plaies chez les lapins

L'analyse des données par le test ANOVA (Appendice E) indique que la différence entre les effets cicatrisants des cinq produits étudiés est significative ($\text{Sig} < 0,05$). Le test Post hoc (Tukey) montre qu'il existe trois sous-ensembles dont l'évolution de la cicatrisation est significativement différente. Le premier sous-ensemble est celui de la crème à base de l'huile essentielle des aiguilles où le meilleur effet cicatrisant a été enregistré. Le deuxième sous-ensemble est celui des crèmes à base des huiles essentielles du bois et des cônes ainsi que le Madécassol où les effets cicatrisants étaient significativement semblables. Enfin,

le troisième sous-ensemble est celui du Placebo où l'effet cicatrisant est le plus faible.

L'observation macroscopique de l'évolution des plaies nous a permis de constater une action très nette des crèmes dermiques à base des huiles essentielles de *C. atlantica* et du Madécassol sur la vitesse et la qualité de la cicatrisation superficielle (Figure 3.33).

Nous avons remarqué une adhésion des parois des plaies dès le 1^{er} jour pour les plaies traitées par les crèmes dermiques à base des huiles essentielles et le Madécassol, alors que les plaies traitées par le Placebo et les plaies sans traitement n'ont pas montré cette adhésion que quatre jours après.

Une apparition de bourgeons et de croûtes qui ont promptement disparus a été constatée dès les deux premiers jours au niveau des plaies soignées par les crèmes à base des huiles essentielles et du Madécassol. Contrairement aux plaies traitées par le Placebo et les plaies témoins, sur lesquelles nous avons remarqué l'apparition de granulations et de croûtes épaisses avec des œdèmes importants, du troisième au quatrième jour après les premières applications.

Nous avons remarqué également que les flancs ayant reçu les crèmes dermiques à base des huiles essentielles et le Madécassol présentent une peau lisse et nette après deux semaines de traitement. Alors que les flancs soignés par le Placebo présentent une cicatrisation partielle, en laissant des traces de plaies avec des contours distincts clairement visibles.

Nous pouvons déduire que le processus de cicatrisation est plus rapide et que la guérison est complète pour les plaies traitées par la crème à base de l'huile essentielle des aiguilles. Les plaies traitées par les crèmes à base des huiles essentielles du bois et des cônes présentent des aspects macroscopiques semblables à ceux des plaies traitées par le Madécassol. Le Placebo quant à lui n'a pas favorisé la cicatrisation ce qui confirme que les principes actifs des crèmes précédemment citées sont les seuls responsables de l'accélération de la cicatrisation des plaies superficielles.



Figure 3.33 : Evolution du processus cicatriciel des plaies chez les lapins

En dermatologie, les huiles essentielles de *Cedrus atlantica* favorisent la cicatrisation des plaies [173; 213]. Il est fort possible que cette activité est due principalement à la synergie d'action entre les différents composés des huiles essentielles. Mais aussi, certains constituants des huiles essentielles, en particulier les alcools, sont d'excellents promoteur d'absorption qui favorisent la pénétration cutanée par la dissolution du ciment lipidique intercellulaire [105], ce qui facilite le passage d'autres composés dans la circulation sanguine tel que les monoterpénoides (Bornéol, α -terpinéol, limonène) qui favorisent selon BARRETO et *al.*, [226] la cicatrisation par leur effet anti-inflammatoire, leur effet antimicrobien, leur effet anti-oxydant et leur effet favorisant la croissance des fibroblastes. Ces dernières sont les cellules responsables de la synthèse du cadre de collagène dans lequel se produit une nouvelle régénération cutanée [110].

Une fois que la peau est blessée, les micro-organismes normalement présents à la surface de la peau ont accès aux tissus sous-jacents [227]. D'après les résultats de l'activité antimicrobienne précédemment détaillée, les huiles essentielles du cèdre de l'Atlas présentent un pouvoir antimicrobien, particulièrement, contre les bactéries Gram + qui représentent la principale flore dermique résidente [105]. Ceci assure la lutte contre l'infection des plaies qui altère la cicatrisation par le prolongement de la phase inflammatoire et la formation de biofilms résistants aux traitements d'antibiotique conventionnels [228].

L'effet cicatrisant des huiles essentielles a été rapporté par plusieurs auteurs [229, 230]. Les huiles essentielles du cèdre de l'Atlas présentent un effet cicatrisant comme certaines huiles essentielles extraites de plantes médicinales telles que : *Lavandula aspic* L. [231], *Eucalyptus globulus* [232], *Pinus pinea* et *Pinus halepensis* [233], *Origanum vulgare* et *Salvia triloba* [234], *Cedrus libani* et *Abies cilicica* [224] et *Rosmarinus officinalis* [235].

3.3.6.2. Méthode d'excision

Après application journalière des cinq crèmes dermiques testées (Placebo, crèmes dermiques à base des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des

cônes du cèdre de l'Atlas à 0,3% et Madécassol), nous avons évalué par des valeurs numériques allant de 0 à 4 les différents paramètres étudiés.

a. Profondeur de la plaie

La Figure 3.34 montre que l'application des crèmes à base des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes du cèdre de l'Atlas à 0,3% pendant 14 jours a nettement réduit la profondeur des plaies. Le degré d'évaluation de cette dernière a atteint respectivement les valeurs suivantes $0,2 \pm 0,45$, $0,40 \pm 0,55$ et $0,4 \pm 0,55$ le 14^{ème} jour.

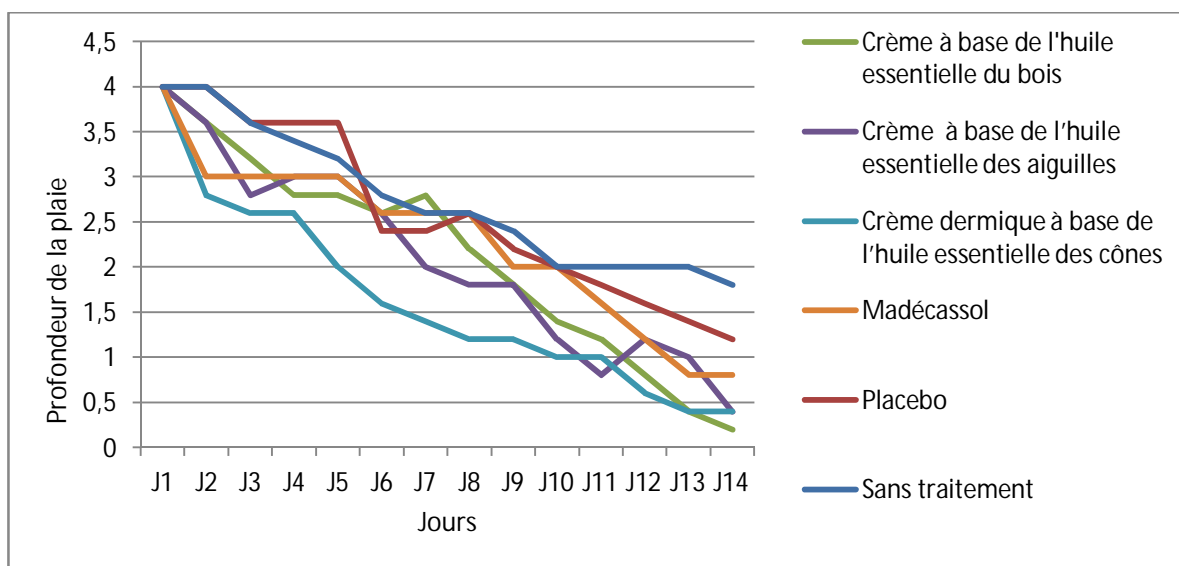


Figure 3.34 : Evolution de la profondeur des plaies dans le temps

b. Bourgeonnement

La Figure 3.35 montre que le bourgeonnement commence dès le 2^{ème} jour au niveau des plaies n'ayant subi aucun traitement ainsi que les plaies traitées par le placebo, la crème dermique à base de l'huile essentielle des cônes et le Madécassol. Ce bourgeonnement ne disparaît pas durant toute la période de traitement dans les deux premiers types de plaies précédemment cités. Dans les plaies traitées par les crèmes à base des huiles essentielles du bois et des aiguilles, les bourgeons étaient les derniers à apparaître (3^{ème} jour) et les premiers à disparaître (10^{ème} jour).

Nous avons remarqué également que les plaies n'ayant pas reçu de traitement et les plaies traitées par le Placebo ont enregistré des valeurs maximales (supérieures à 3) dans l'échelle d'évaluation de l'intensité du bourgeonnement.

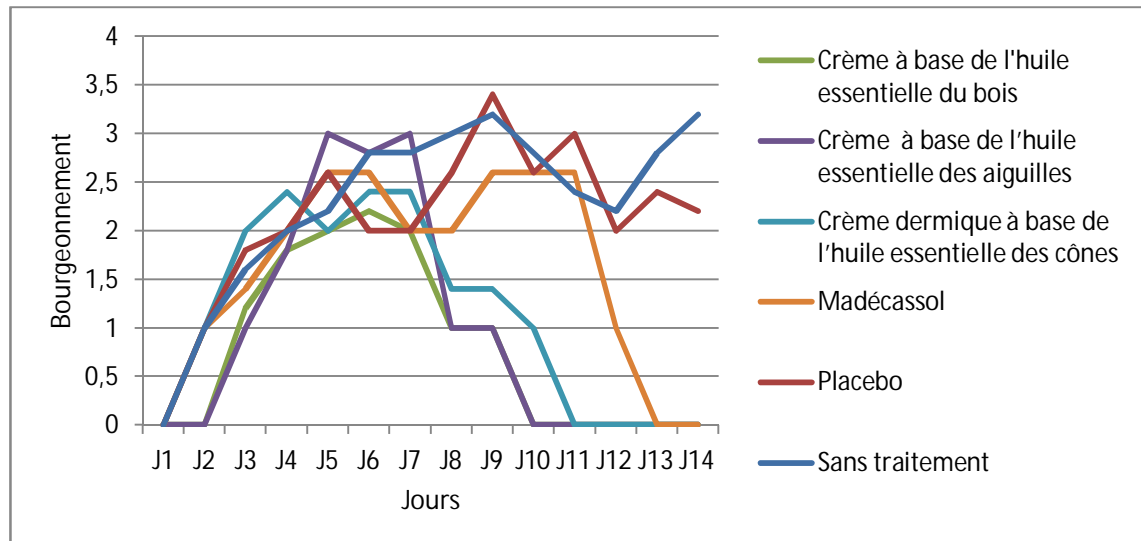


Figure 3.35 : Evaluation du bourgeonnement dans le temps

c. Œdème

Nous avons remarqué l'apparition d'un œdème dès le 2^{ème} jour dans les plaies non traitées, dans les plaies traitées par le placebo et dans les plaies traitées par la crème dermique à base de l'huile essentielle des cônes.

Pour les autres plaies, l'œdème n'apparaît qu'au 3^{ème} jour (Figure 3.36). Cet œdème s'estompe pour disparaître au 5^{ème} jour dans les plaies traitées par les crèmes dermique à base des huiles essentielles des aiguilles et des cônes et au 6^{ème} jour dans les plaies traitées par la crème dermique à base de l'huile essentielle du bois. L'œdème persiste jusqu'au 8^{ème} jour dans les plaies traitées par le Madécassol et jusqu'au 10^{ème} jour dans les plaies sans traitement et les plaies traitées par le placebo.

Nous avons remarqué que les plaies traitées par les crèmes dermiques à base des huiles essentielles des aiguilles et des cônes présentent moins d'inflammations (inférieur à 2 dans l'échelle d'évaluation des œdèmes).

Cette inflammation a duré deux jours seulement pour les plaies traitées par la crème à base de l'huile essentielle des aiguilles, trois jours pour les plaies traitées par les crèmes à base des huiles essentielles du bois et des cônes, cinq jours pour les plaies traitées par le Madécassol et huit jours pour le reste des plaies.

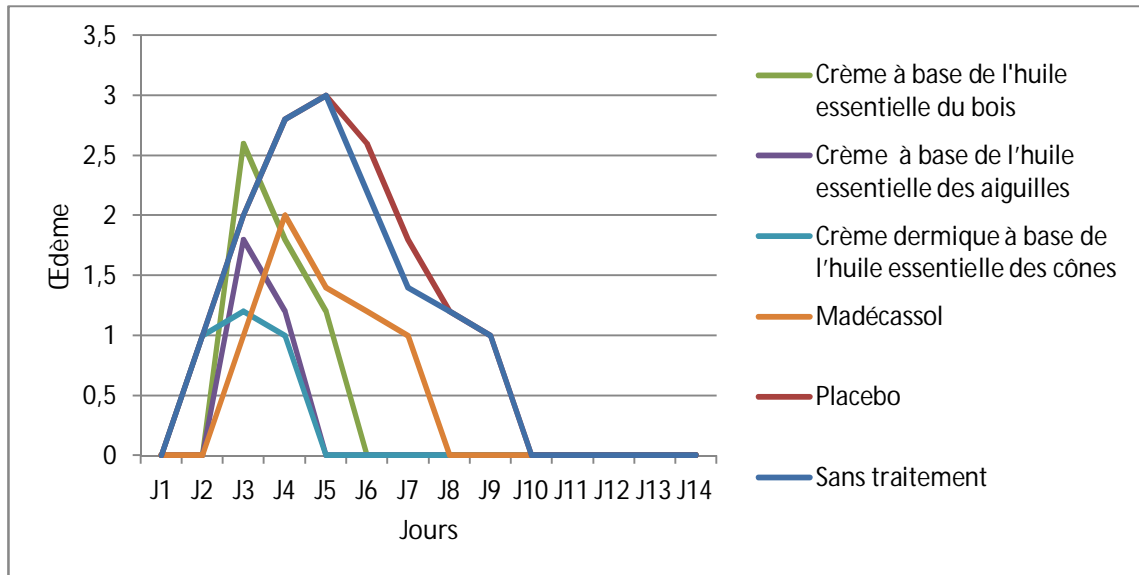


Figure 3.36: Evaluation des œdèmes dans le temps

L'inflammation constitue une étape importante dans la cicatrisation mais d'une manière modérée sans qu'elle soit gravement manifestée. Selon ADORJAN et BUCHBAUER [236], sans inflammation, les blessures et les infections ne guérissent pas et la destruction progressive des tissus continuera. Cependant, l'inflammation chronique prolongée peut être préjudiciable, empêchant le remodelage de la plaie et la synthèse de la matrice, entraînant un retard de la fermeture de la plaie et une augmentation de la douleur [237]. Ainsi, il est possible qu'un effet anti-inflammatoire puisse faciliter la cicatrisation et améliorer le confort du patient. Les études chez l'animal indiquent que les extraits ayant un effet anti-inflammatoire possèdent également une activité cicatrisante [238; 239; 240].

d. Epaisseur de la croûte

Dès les trois premiers jours, une croûte s'est formée dans toutes les plaies. Elle a persisté jusqu'au 14^{ème} jour dans les plaies sans traitement et les plaies

traitées par le placebo alors qu'elle a disparu entre le 10^{ème} et le 11^{ème} jour pour les autres plaies (Figure 3.37).

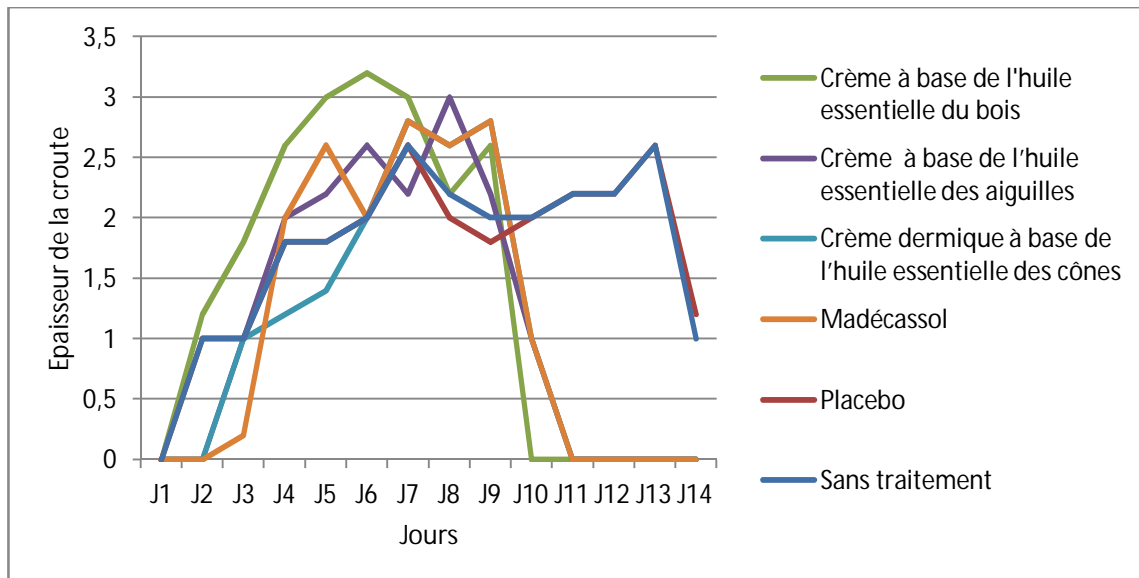


Figure 3.37: Evaluation de l'épaisseur de la croûte dans le temps

e. Contraction des plaies

La méthode d'excision est utilisée pour surveiller la contraction des plaies, en calculant le pourcentage de réduction de la surface des plaies [241].

Nous avons constaté une réduction de la surface initiale de toutes les plaies étudiées (Figure 3.38). Seulement cette contraction varie selon la crème utilisée. Elle est presque totale au 14^{ème} jour pour les crèmes à base des huiles essentielles du bois (97,30%), des aiguilles (97,72%) et des cônes (98,63%) ainsi que le Madécassol (92,76%). Les pourcentages de contraction restent toutefois, meilleurs que ceux des plaies traitées par le placebo (89,24%) et les plaies sans traitement (83,26%).

Le test ANOVA (Appendice E) indique que les pourcentages de contraction des plaies traitées par les différents produits sont significativement dissemblables ($\text{Sig} < 0,05$). L'analyse statistique de Post hoc détermine quatre groupes englobant les plaies dont les pourcentages de contraction sont homogènes. Le groupe des plaies soignées par les crèmes dermiques à base des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas présente des contractions de plaies meilleures que

celle du Madécassol. Le placebo qui représente le troisième groupe réduit les plaies de façon meilleure que par voie naturelle.

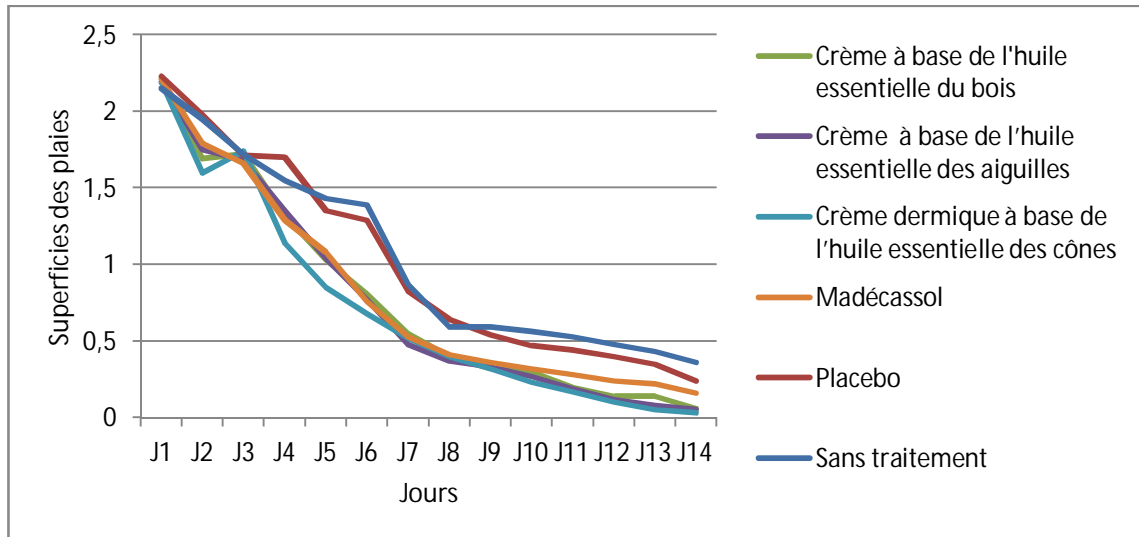


Figure 3.38 : Contraction des plaies dans le temps

La cicatrisation des plaies est un processus de réparation résultant essentiellement de la réponse du tissu conjonctif. Cette réparation du tissu endommagé peut être partielle ou complète [242]. La cicatrisation des plaies consiste en une cascade de processus biochimiques réalisés pour restaurer la structure et la fonction du tissu blessé ou malade. Plusieurs phases chevauchantes doivent être accomplies pour la restitution de la peau normale: la coagulation du sang, l'inflammation, la formation de nouveaux tissus et le remodelage tissulaire. Les deux dernières phases comprennent des mécanismes complexes comme la prolifération cellulaire, la synthèse du collagène, la formation de tissu de granulation, la dégradation de la matrice, le dépôt du nouveau collagène et la contraction des plaies [243]. La phase inflammatoire débute dès que la lésion survient, avec une vasoconstriction initiale permettant l'homéostasie, puis des médiateurs de l'inflammation sont libérés. De nouveaux tissus de granulation sont formés principalement par des fibroblastes et un nouveau réseau de cellules sanguines se développe par angiogenèse. La maturation implique un remodelage et une amélioration des composants des fibres de collagène, conduisant à une résistance meilleur à la traction [244]. Il est donc important de

passer par les deux étapes d'inflammation et de granulation pour une bonne reconstruction tissulaire.

Les objectifs du traitement des plaies comprennent la réduction des facteurs de risque qui inhibent la cicatrisation, l'amélioration du processus de guérison et la réduction de l'incidence de l'infection [230]. En effet, les vertus thérapeutiques des plantes médicinales et aromatiques ont été expérimentées depuis des siècles et la valorisation de leurs huiles essentielles dans différentes applications notamment en tant qu'anti-inflammatoires, antiseptiques, antifongiques, bactéricides, tonifiantes, stimulantes, et calmantes, ont été rapportées [245]. Les terpénoïdes favorisent la cicatrisation, principalement par leur activité astringente et antimicrobienne et semble être responsable de la contraction des plaies et de la réépithélialisation [246].

Dans une étude menée sur un onguent préparé à base de l'huile essentielle des cônes d'une espèce voisine au cèdre de l'Atlas (*Cedrus libani*) de la région d'Adana (Turquie), TUMEN et *al.*, [224] ont évalué la cicatrisation des plaies d'excision sur la peau des souris. Les pourcentages de contraction étaient de 35,95% et 59,06% au 8^{ème} et 12^{ème} jour respectivement contre 56,29% et 100% pour le Madécassol dont l'effet cicatrisant était meilleur.

Dans un autre travail mené par Süntar et *al.*, [233], l'activité cicatrisante des onguents préparés à base des huiles essentielles des aiguilles et des cônes de plusieurs espèces de Pin (Famille des *Pinaceae*) a été évaluée sur des souris par la méthode d'excision. Les résultats ont montré que les onguents à base des huiles essentielles des cônes de *Pinus pinea* et *Pinus halepensis* ont montré les meilleurs pourcentages de contraction de plaies atteignant respectivement 54.61% et 40.07% le dernier jour du traitement contre un pourcentage de 100% pour le Madécassol.

Selon les résultats de Tümen et *al.*, [247], le pourcentage de contraction des plaies d'excisions chez les souris a atteint 46,40% le 12^{ème} jour de traitement par l'onguent préparé à base de l'huile essentielle des cônes de *Pinus pinaster* contre et 100% pour les plaies soignées par le Madécassol.

Tous ces travaux précédemment cités indiquent que les huiles essentielles de certains Pinaceae présentent un effet remarquable sur la contraction des plaies d'excision.

Dans la littérature, aucune étude à notre connaissance n'a montré un meilleur pouvoir cicatrisant que celui du Madécassol comme c'est le cas de cette étude.

3.3.6.3. Méthode de brûlure thermique

Les courbes de la Figure 3.39, nous dévoilent qu'il y'a une diminution pondérale chez les lapins des trois lots. Cette diminution est moins importante chez les lapins du 3^{ème} lot. Elle a atteint son maximum le 15^{ème} jour avec un pourcentage de réduction pondérale de 1,87% (Appendice D). Chez les lapins du 1^{er} lot et du 2^{ème} lot, nous avons enregistré des diminutions pondérales semblables, avec des pourcentages de 7,36% et 7,38% durant le 13^{ème} jour et le 14^{ème} jour respectivement. Nous avons constaté aussi que les lapins des trois lots ont connu une baisse de poids durant la première quinzaine de la période de traitement et une augmentation de poids durant la deuxième quinzaine pour atteindre les poids initiaux à la fin du mois.

L'étude statistique (Test ANOVA) indique que les pourcentages de réduction pondérale sont significativement semblables dans les trois lots (Appendice E). Ainsi, les différences constatées dans les pourcentages calculés sont dues aux fluctuations de l'échantillonnage.

Les perturbations du développement corporel des lapins peuvent être justifiées par le choc thermique que ces derniers ont subi le 1^{er} jour de l'expérimentation. Car selon BERGER et QUE [248], les brûlures sont associées à des perturbations à la fois anatomiques, physiologiques et immunologiques dont l'étendue dépend de la sévérité du traumatisme mais aussi de la réaction individuelle du brûlé et des soins qui lui sont apportés. Ainsi, au traumatisme thermique sont associées une réponse inflammatoire considérable et la synthèse d'hormones de stress, entraînant un état d'hypermétabolisme, caractérisé par des concentrations élevées en catécholamines et hormones

tels le glucagon ou le cortisol. S'en suivent une augmentation du métabolisme basal, une hyperglycémie, une résistance à l'insuline, un hypercatabolisme lipidique et protéique avec perte protéique et fonte musculaire mettant le sujet atteint à risque de dénutrition [249].

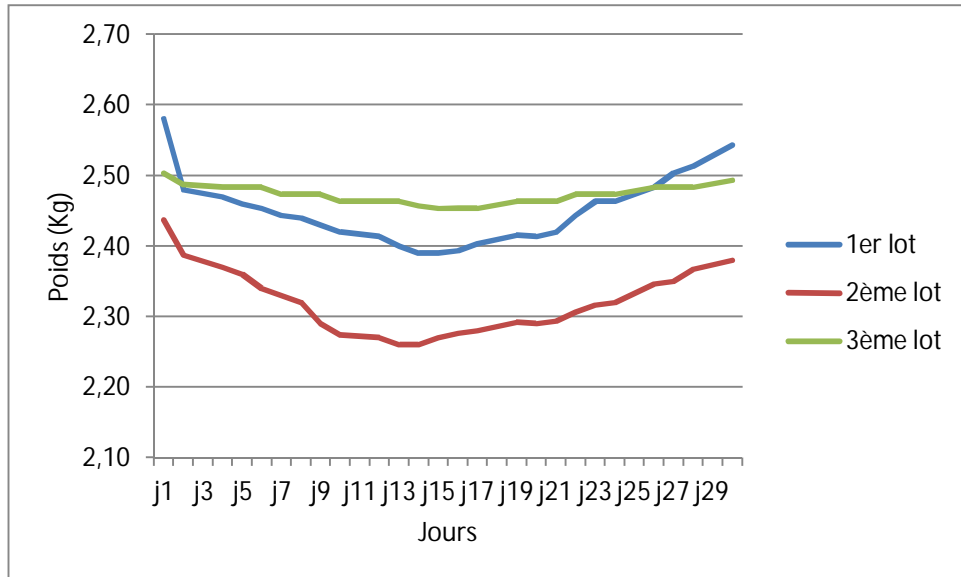


Figure 3.39: Evolution pondérale des lapins

Les résultats du suivi de l'évolution du processus cicatriciel, après application journalière des cinq crèmes dermiques (Crèmes dermiques à base des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes du cèdre de l'Atlas Madécassol® et Placebo), chez des lapins albinos pendant 30 jours sont détaillés et mentionnés dans l'Appendice D. Afin d'interpréter les résultats obtenus, nous avons calculé les moyennes des surfaces des plaies (droites et gauches) traitées par la même crème pour les trois lapins de chaque lot (six essais pour chaque crème de chaque lot).

Les courbes des Figure 3.40 ; 3.41 et 3.42 montrent qu'il y a une diminution progressive des superficies de toutes les plaies traitées par les cinq crèmes dermiques au cours de la période de cure. Dans les trois lots, les zones brûlées soignées par les crèmes à base des huiles essentielles ont enregistré les superficies les plus faibles après traitement.

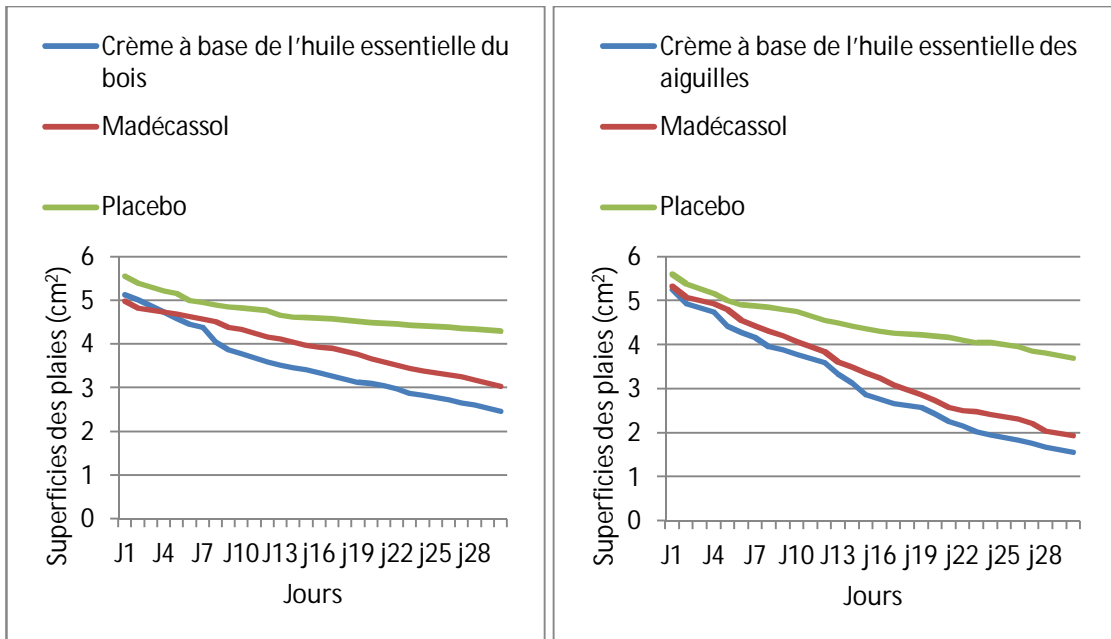


Figure 3.40 : Evolution de la cicatrisation chez les lapins du 1^{er} lot

Figure 3.41 : Evolution de la cicatrisation chez les lapins du 2^{ème} lot

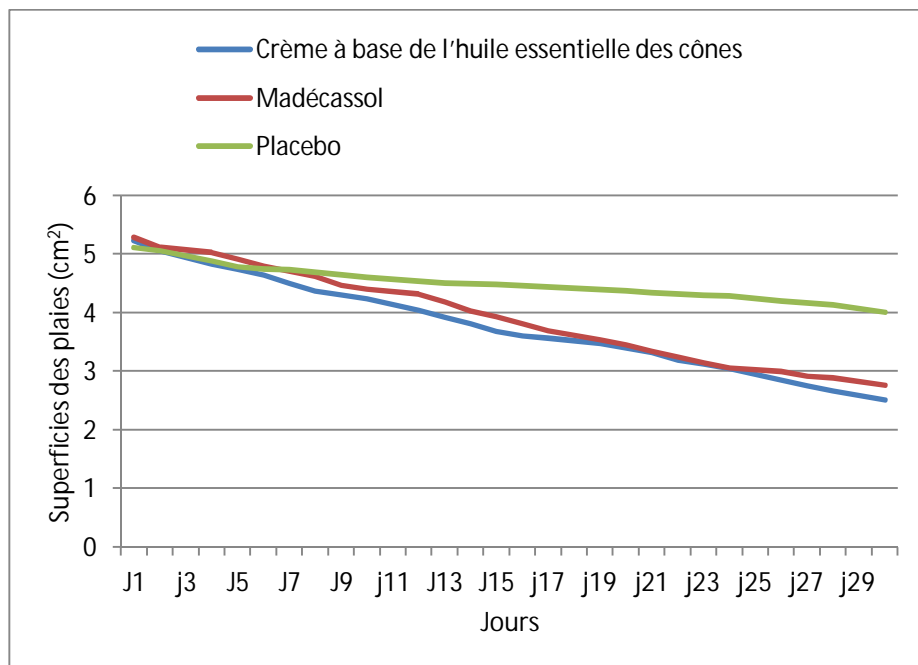


Figure 3.42 : Evolution de la cicatrisation chez les lapins du 3^{ème} lot

Le suivi du processus de réduction des surfaces des plaies en fonction du temps montre que les valeurs obtenues par l'application de la crème dermique à base de l'huile essentielle des aiguilles sont nettement plus importantes que les valeurs voisines obtenues par l'application des crèmes dermiques à base des huiles essentielles du bois et des cônes ainsi que le Madécassol®. Le placebo, quant à lui, a enregistré les pourcentages les plus faibles (Figure 3.43). Ces valeurs ont atteint respectivement 70,44% ; 52,14% ; 51,98% ; 50,38% et 26,20% le dernier jour du traitement.

Pour vérifier si les différences constatées le dernier jour de l'expérimentation ne sont pas dû aux fluctuations de l'échantillonnage, nous avons effectué une analyse de variance à un seul facteur (ANOVA) entre les pourcentages de réduction des plaies traitées par les cinq crèmes dermiques du 30^{ème} jour (Appendice E).

L'analyse statistique a montré que l'hypothèse nulle (H_0) est rejetée, donc il y a une différence significative entre les effets des cinq crèmes dermiques.

Après comparaison des échantillons deux à deux par le test post-hoc (Tukey), nous avons remarqué que les cinq produits sont classés en trois sous-ensembles homogènes. Le premier sous-ensemble est celui de la crème à base de l'huile essentielle des aiguilles dont l'efficacité est la meilleure. Le deuxième sous-ensemble englobe trois crèmes dont les effets sont semblables (crèmes à base des huiles essentielles du bois et des cônes ainsi que le Madécassol). Le troisième sous-ensemble est celui de la crème qui présente l'effet cicatrisant le plus faible (Placebo).

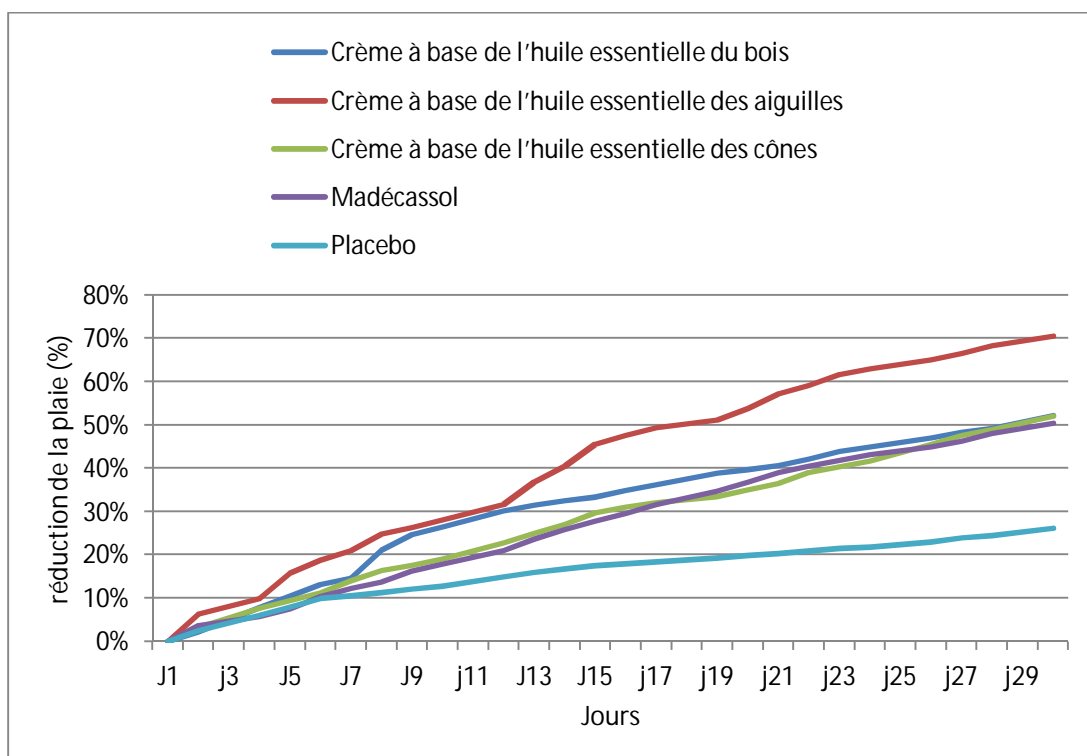


Figure 3. 43: Pourcentage de réduction des zones brûlées

La brûlure de troisième degré s'accompagne de la formation d'une escarre couvrant la plaie ; la cicatrisation s'effectue au-dessous de l'escarre, la réépithélialisation commence au niveau des marges de la plaie et entraîne le décollage progressif des bords de l'escarre, alors que son centre reste solidement adhérent à la plaie jusqu'à progression de la réépithélialisation vers le centre de la plaie [250]. Dans les plaies traitées par le Placebo, les escarres sont restées solidement attachées à la peau durant toute la période du traitement. La majorité des croûtes dans les plaies traitées par le Madécassol et la crème dermique à base de l'huiles essentielle du bois sont restées collées à la peau jusqu'à des échéances relativement avancées. Ainsi, le décollage des bords de l'escarre n'a commencé qu'aux alentours du 20^{ème} jour de traitement. Les escarres des plaies traitées par les crèmes à base des huiles essentielles des aiguilles et des cônes se sont rapidement détachées sous l'effet des traitements qui ont accéléré la séparation des tissus vivants des tissus nécrosés (Figure 3.44).

L'observation macroscopique du processus de cicatrisation chez les lapins des trois lots, nous a permis de constater que les plaies traitées avec les crèmes à base des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes du cèdre de

l'Atlas, présentent une cicatrisation visuellement meilleur et plus rapide que celles du Madécassol® et du placebo.

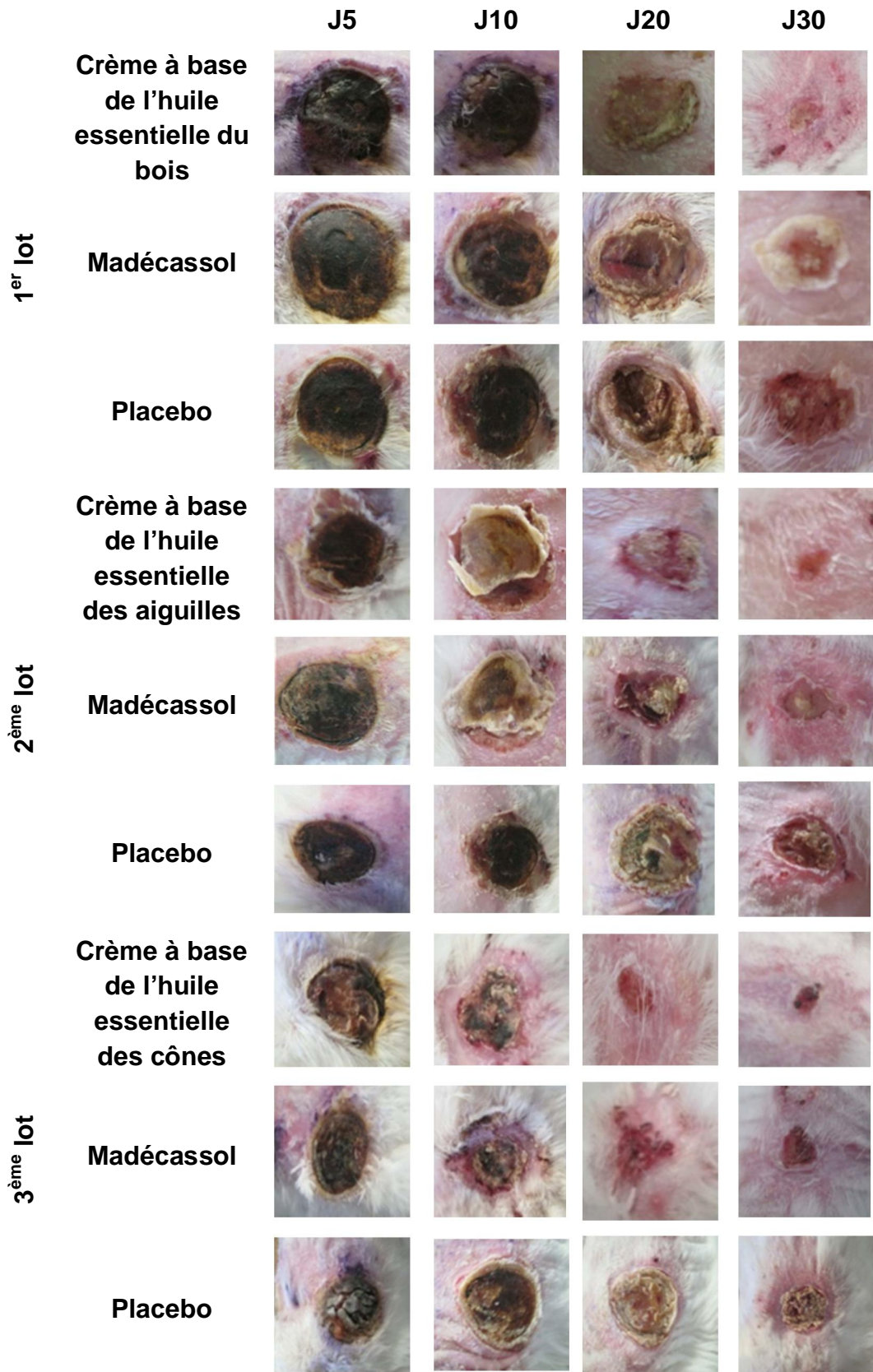


Figure 3.44 : Évolution du processus de cicatrisation

Afin de mieux interpréter les résultats, il convient d'abord d'examiner la coupe histologique de la peau saine de lapin. La Figure 3.45 révèle que l'épithélium est de type pavimenteux stratifié kératinisé. Cet épithélium est caractéristique de la peau dont il forme l'épiderme [251]. Il s'invagine et se différencie pour former des follicules pileux. L'assise germinative ne repose pas à plat sur le tissu conjonctif sous-jacent. Il existe des soulèvements réguliers de ce tissu conjonctif appelés papilles dermiques. Elles permettent une meilleure adhésion de l'épithélium sur le tissu conjonctif.

Rappelons également plusieurs artéfacts possibles comme l'artéfact de tassement dû à un étirement trop faible lors de l'étalement de la coupe. Un étirement trop prononcé risquerait toutefois de produire un décollement de la couche cornée.

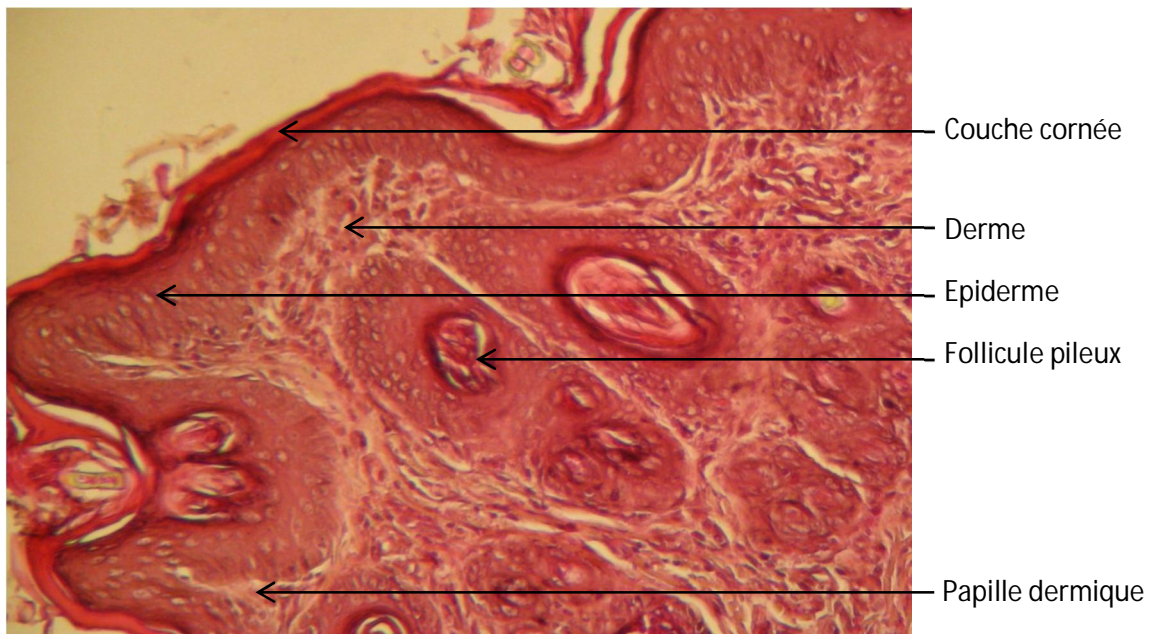


Figure 3.45 : Structure histologique de la peau saine observée au microscope photonique (G : 40x)

Les coupes histologiques des plaies traitées par les différentes crèmes dermiques issues des parties brûlées chez les lapins au 30^{ème} jour, sont reportées dans les Figures 3.46, 3.47, 3.48, 3.49 et 3.50.

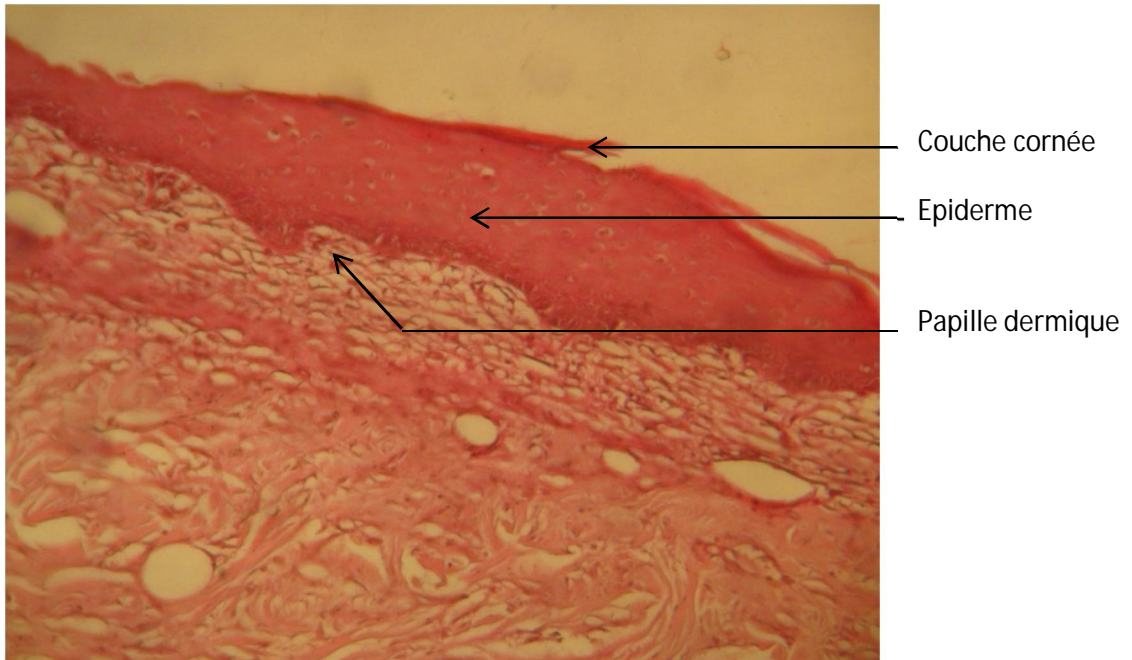


Figure 3.46 : Structure histologique de la peau traitée par la crème à base de l'huile essentielle du bois observée au microscope photonique (G : 40x)

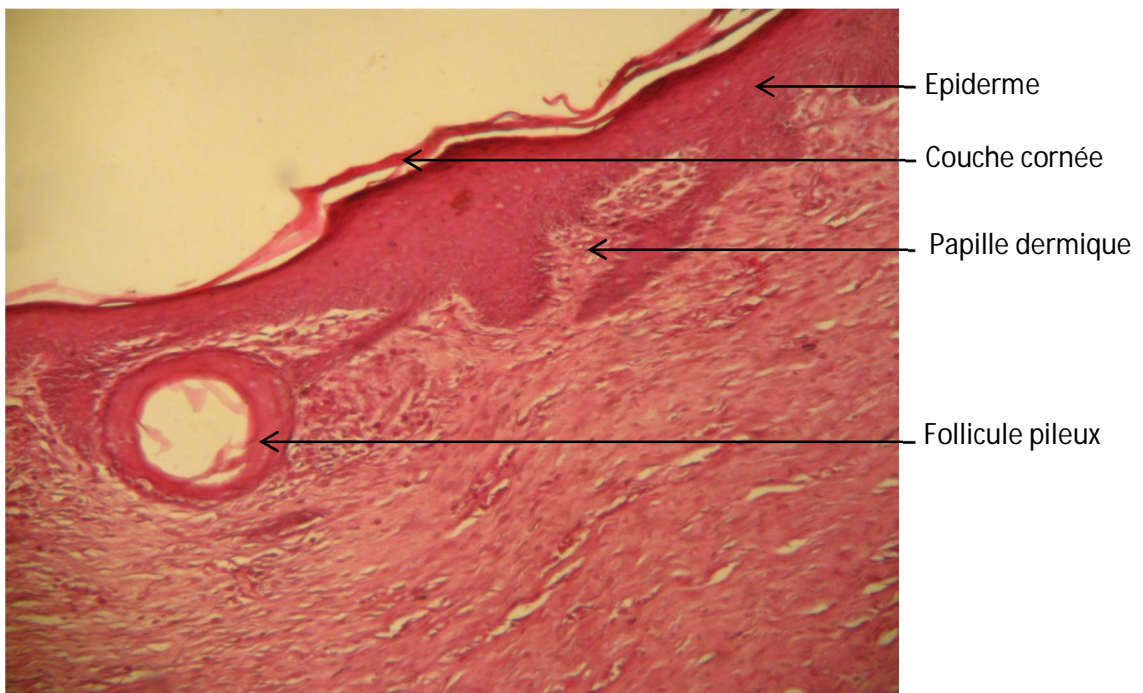


Figure 3.47 : Structure histologique de la peau traitée par la crème à base de l'huile essentielle des aiguilles observée au microscope photonique (G : 40x)

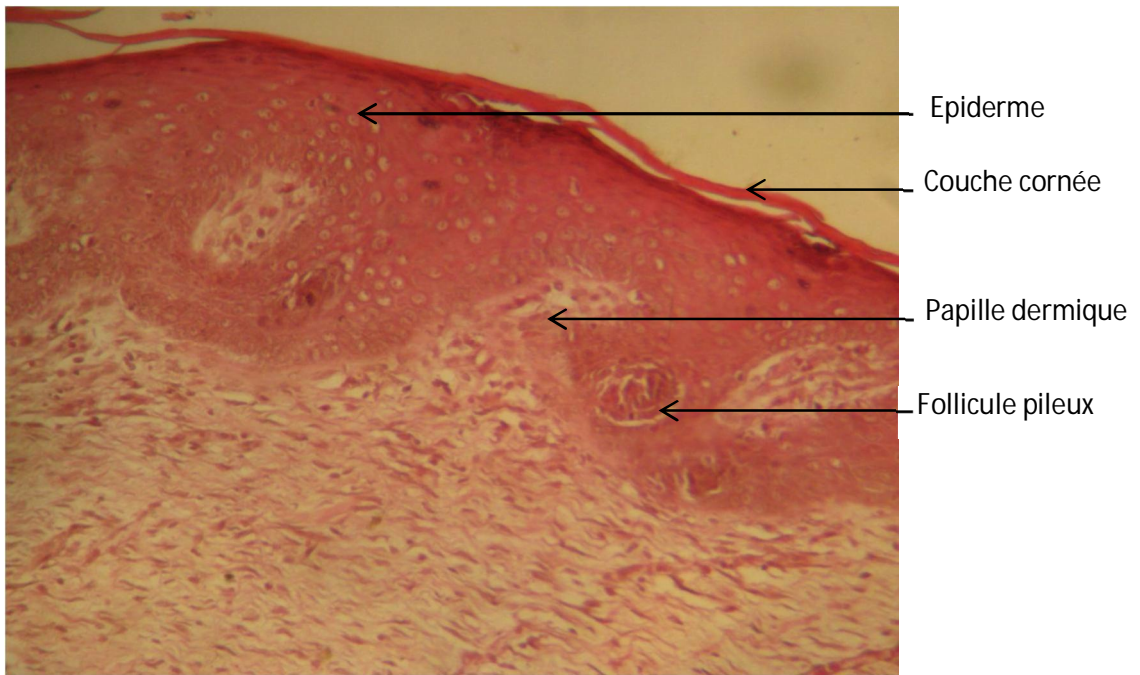


Figure 3.48 : Structure histologique de la peau traitée par la crème à base de l'huile essentielle des cônes observée au microscope photonique (G : 100x)

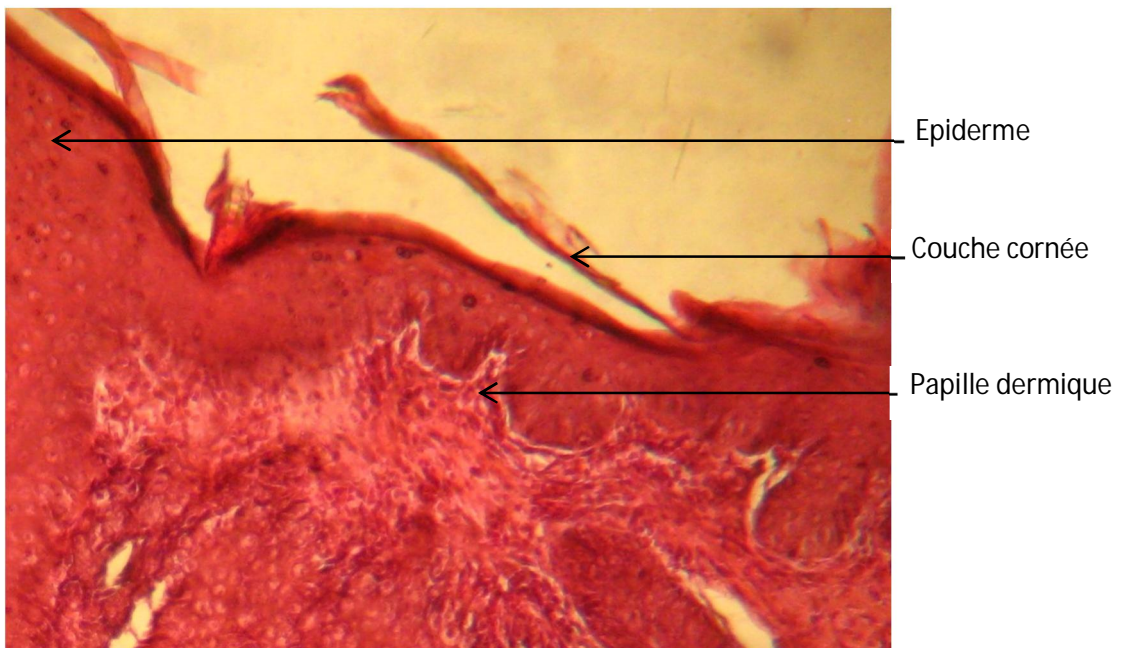


Figure 3.49 : Structure histologique de la peau traitée par le Madécassol observée au microscope photonique (G : 100x)

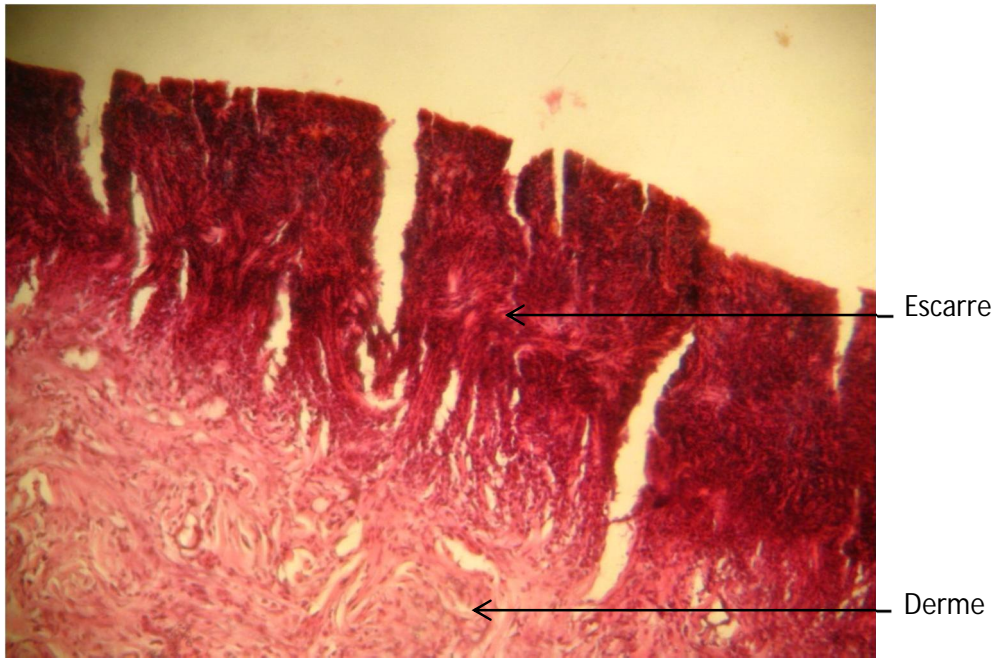


Figure 3.50 : Structure histologique de la peau traitée par le Placebo observée au microscope photonique (G : 100x)

D'après les photos des coupes histologiques, les plaies traitées avec les crèmes dermiques à base des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes du cèdre de l'Atlas ainsi que le Madécassol, présentent un amincissement de l'épiderme et une très bonne reconstitution de ce dernier par la prolifération, la migration et la différenciation des cellules épithéliales. Contrairement aux plaies traitées par le Placebo où la réépithélialisation n'a pas eu lieu et la cicatrisation est moins prononcée.

Dans les plaies traitées par les crèmes à base des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas et la crème de référence, nous remarquons que l'épithélium repose sur le tissu conjonctif en formant des papilles dermiques, ce qui témoigne d'une bonne cohésion entre les deux couches superficielles de la peau, surtout au niveau des plaies traitées par les crèmes dermiques à base des huiles essentielles des aiguilles, des cônes et le Madécassol.

Il est important aussi de noter la réapparition de quelques follicules pileux au niveau des peaux traitées par les crèmes à base des huiles essentielles des aiguilles, des cônes et le Madécassol. Ceci est en accord avec nos observations lors du test de tolérance locale après applications cutanées itératives.

Les résultats de cette étude montrent l'effet accéléré de la cicatrisation et la réparation cutanée due à l'application des crèmes dermiques à base des huiles essentielles.

Comme tout produit naturel, l'effet cicatrisant des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas est attribuable aux divers constituants phytochimiques entrant dans leurs compositions. Selon BAHRAMSOLTANI et *al.*, [252], les produits naturels cicatrisants manifestent leurs effets grâce à l'un des mécanismes suivants : effet antimicrobien, effet anti-inflammatoire, effet antioxydant, effet angiogénique et enfin, stimulation de la synthèse du collagène et de la prolifération cellulaire.

Les différents constituants des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas agiraient par divers mécanismes, mettant en jeu des effets antimicrobien et anti-inflammatoire, précédemment investigués dans cette étude.

Les monoterpènes présentent des propriétés anti-inflammatoires, antibactériennes et antioxydantes [226, 253]. Les mécanismes d'action proposés pour divers monoterpènes englobent: l'activité antimicrobienne (par inhibition de la biosynthèse des protéines); l'activité anti-inflammatoire (en diminuant la synthèse d'interleukine 6 (IL-6), le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) et le facteur inhibiteur de la migration des macrophages (MIF) qui sont impliqués dans l'inflammation); l'activité antioxydante (en prévenant le stress oxydatif par inhibition de la production de radicaux libres induits par les ultraviolets B); et enfin la croissance des fibroblastes [254]. Parmi les monoterpènes des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas, il existe le bornéol, l' α -terpinéol et le d-limonène qui ont selon VYAS et VASCONEZ [254] des actions directes ou indirectes sur la cicatrisation des plaies.

Peu de travaux publiés mentionnent l'effet cicatrisant des huiles essentielles contre les plaies des brûlures thermiques sur modèle animal. D'après nos résultats, les huiles essentielles du cèdre de l'Atlas rejoignent l'ensemble des huiles essentielles conseillées pour leur effet cicatrisant contre les plaies des brûlures thermiques :

Dans l'étude de DURSUN et *al.*, [255] sur l'usage de l'huile essentielle de Thym pour le traitement des brûlures thermiques chez le rat, ces auteurs ont rapporté que cette dernière, non seulement, limite la synthèse de monoxyde nitrique qui un important médiateur inflammatoire (surproduit lors des brûlures thermiques), mais aussi favorise la formation de nouveaux tissus.

Une étude comparative faite par JOPKE et *al.*, [256], entre deux cas cliniques d'enfants hospitalisés ayant subi des brûlures a été menée à l'Hôpital de Wisconsin aux Etats Unis. Un des enfants subissait en supplément un traitement à base des huiles essentielles de la lavande (*Lavandula angustifolia*), de la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*), du clou de girofle (*Eugenia caryophyllata*), d'Eucalyptus (*Eucalyptus radiata*), du romarin (*Rosmarinus officinalis*) et d'orange sauvage (*Citrus sinensis*) tandis que l'autre enfant n'avait reçu que des soins standards. Cette étude a permis de montrer que les huiles essentielles ont le potentiel d'inhiber la croissance microbienne, d'accélérer la cicatrisation des plaies et de favoriser la guérison des plaies. Des recherches ultérieures sur l'efficacité des huiles essentielles pour le soin des brûlures seraient souhaitables.

CONCLUSION

Les travaux de recherche entrepris au cours de cette étude ont permis de mettre en lumière l'aspect microscopique du Cèdre de l'Atlas, la caractérisation de certains métabolites secondaires, la formulation de crèmes dermiques et la mise en évidence de certaines propriétés thérapeutiques.

L'étude microscopique a montré la présence des canaux excréteurs schizogènes responsables de la sécrétion des huiles essentielles dans les différentes parties du Cèdre de l'Atlas. Au niveau du bois, ces canaux sont dit traumatiques parus suite à une blessure de l'assise cambiale.

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* M.) par CG/MSa permis d'identifier 35 composés correspondant respectivement à 76,31%, 70,46% et 82,55% de l'ensemble des constituants contenus dans les huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes de cette espèce. La prédominance des sesquitérpenoides a été notée dans les deux premières huiles essentielles par rapport à la troisième où les monoterpénoides sont majoritaires.

Le dosage des composés phénoliques a révélé que les concentrations des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins dans les aiguilles du cèdre de l'Atlas sont beaucoup plus élevées que dans les cônes de cet arbre. Qualitativement, les analyses effectuées ont démontré la présence des tannins de type catéchique et l'absence des saponines.

L'étude de l'activité anti-radicalaire par la méthode de DPPH a dévoilé les propriétés remarquables que possèdent les extraits méthanoliques à piéger les radicaux libres, avec une EC50 plus importante pour l'extrait méthanolique des cônes ($0,16 \pm 0,01$ mg/ml) et qui avoisine celle de la Rutine ($0,17 \pm 0,02$ mg/ml).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits méthanoliques testés sur neuf micro-organismes par la méthode de diffusion sur Gélose, a montré une inhibition variable vis-à-vis de ces souches, avec un pouvoir antimicrobien remarquable des huiles essentielles des aiguilles et des cônes contre *Enterococcus faecalis* qui est une bactérie commensale et multi-résistante, causant des infections mortelles chez l'Homme.

Les contrôles galéniques et microbiologiques des crèmes préparées à base des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes ont révélés une bonne homogénéité, une stabilité et une conformité microbiologique.

Sur le plan toxicologique, le contrôle réalisé a montré une absence d'irritation visible ($IPC \leq 0,66$) et une bonne tolérance cutanée des crèmes avec un effet stimulant de la repousse des poils.

Le pouvoir anti-inflammatoire des crèmes dermiques à base des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes est très remarquable avec des pourcentages de réduction d'œdème meilleurs (48,36%, 45,88% et 44,79% respectivement) que celui d'un produit anti-inflammatoire commercialisé (une réduction de 43,71% pour le Diclofenac de Soduim en gel à 1%). Ces résultats pourraient servir de base pour la formulation et la mise en vente de préparations galéniques à base des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas pour soigner les inflammations dermiques.

L'étude de l'activité cicatrisante sur les lapins par la méthode de scarification a montré que la crème préparée à base de l'huile essentielle des aiguilles présente une action cicatrisante meilleure que celle de la crème de référence Madécassol dont l'effet est significativement comparable à celui des crèmes à base des huiles essentielles du bois et des cônes du Cèdre de l'Atlas.

L'évaluation de l'effet cicatrisant des crèmes dermiques à base des huiles essentielle de *Cedrus atlantica* M. testées sur les plaies d'excision chez les rats a dévoilé un excellent pouvoir réparateur avec des pourcentages de contraction de plaies supérieurs à 97% et significativement meilleure que celui du Madécassol (92,76%).

Le suivi de l'évolution du processus cicatriciel, après application journalière des crèmes dermiques sur des plaies issues de brûlures thermiques chez des lapins albinos a montré que l'efficacité de la crème dermique à base de l'huile essentielle des aiguilles est significativement plus importante que celle du Madécassol qui présente une action semblable à celles des crèmes à base des huiles essentielles du bois et des cônes. Avec des pourcentages de réduction qui ont atteint respectivement 70,44% ; 50,38%; 52,14% et 51,98% le 30^{ème} jour.

Cette étude a montré que les huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes du cèdre de l'Atlas possèdent une triple action : anti-microbienne, anti-inflammatoire et cicatrisante. Ces propriétés pharmacologiques permettent de faire de ces huiles d'authentiques médicaments. Ainsi, ces huiles essentielles apparaissent dans ce contexte comme une solution naturelle aux inconvénients que peuvent produire certains allergènes liés aux conservateurs des produits pharmaceutiques.

Le cèdre de l'Atlas est une plante dont le potentiel pharmacologique n'est pas suffisamment étudié. Une exploitation de ses propriétés pharmacologiques implique des recherches plus poussées sur ses principes actifs, ce qui ouvre d'intéressantes perspectives de recherche pour les années à venir.

APPENDICE A
LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

AFSSAPS	:Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
ATCC	:American Type Culture Collection
CG/MS	:Chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
DPPH	:2,2-diphényl-1-picrylhydrazil
ISO	:International Organization for Standardization
M.	:Manetti
NF	:Norme Française
nm	: nanomètre
Tf	:Température de fusion
Ti	:Température initiale
UV	:Ultra Violet

GLOSSAIRE

Angiogénique	: stimulant de la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux préexistants.
Antihyperalgésique	: qualifie un traitement contre la sensibilité excessive à la douleur.
Antitussif	: qualifie un traitement contre la toux.
Astringent	: produit resserrant les tissus et diminuant les sécrétions.
Catarrhe	: inflammation des muqueuses se traduisant par une hypersécrétion.
Crétacé inférieur	: C'est la période la plus ancienne du Crétacé. Elle s'étend de 146 millions d'années à 100 millions d'années.
Décongestionnant	: se dit de substances agissant contre la congestion nasale.
Lymphotonique	: activent la circulation dans le système lymphatique.
Mydriatique	: substance qui provoque la mydriase, dilatation de la pupille.
Narcotique	: composé qui a des propriétés sédatives.
Onguent	: pommade à base de résine et de corps gras.
Sédatif	: se dit de substances agissant contre la douleur.
Tonique	: substance qui fortifie.

APPENDICE B

MATERIEL UTILISE

- Agitateur magnétique (HANNA)
- Ampoule à décanter 500ml
- Appareil d'hydrodistillation Cleavenger
- Bain marie (nuve nb 20)
- Balance (Kern Kb)
- Balance de précision (Kern ALS 220-4N)
- Ballon 250, 500, 1000 ml
- Bécher 100, 500 ml
- Bistouri
- Boîtes de pétri
- Centrifugeuse (nuve NF 200)
- Chauffe ballon
- Chromatographe (HP-6890 série II) couplé à un spectromètre de masse (5973N MS)
- Ciseau
- Disques d'antibiogramme stériles
- Entonnoir en verre
- Erlen Mayer 100, 500 ml
- Etuve d'incubation (nuve EN 50)
- Etuve de stérilisation (nuve FN 400)
- Loupe binoculaire (CARL ZEISS)
- Loupe binoculaire à caméra (Motic ST-30)
- Micro pipette 100 μ l
- Micro pipette 1000 μ l
- Micro pipette 50 μ l
- Microscope photonique binoculaire (Motic)
- Microtome
- Papier aluminium

- Papier filtre
- pH mètre (HANNA pH 211)
- Pince
- Pipettes graduées de 1, 5, 10, 20 et 50 ml
- Pipettes pasteurs
- Plaque chauffante (Stuart CB162)
- Portoir
- Réfractomètre
- Réfrigérant à eau
- Rota vapeur (Stuart RE300)
- Spatule
- Spectrophotomètre UV-VIS (WPA LightwavelI)
- Tube à essai
- Vortex

APPENDICE C

PRODUITS ET REACTIFS UTILISES

- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil
- Acétate de sodium
- Acide acétique
- Acide ascorbique
- Acide chloridrique
- Acide Galique
- Acide stéarique
- Alcool cétostéarylique
- Alcool cétylique
- Amphotericine B
- Bicarbonate de Sodium
- Bouillon lactosé
- Butanol
- Carbonate de sodium
- Chloramphenicol 30 mcg
- Chlorhydrate de naftifine
- Chloroforme
- Chlorure de sodium
- Diclofenac de Sodum
- Dimethyl de sulfoxide
- Eau de Javel 12°
- Eau distillée
- Eau physiologique
- Ethanol
- Éther de pétrole
- Folin Ciocaltheu
- Formaldéhyde
- Gélose nutritive

- Glycérine
- Huile de croton
- Huile de vaseline
- Hydroxyde de potassium
- Macrogol 1000
- Madécassol
- Méthanol
- Milieu Cétrimide
- Milieu Chapman
- Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja
- Milieu gélosé de Mac Conkey
- Milieu liquide aux peptones de caséine et de soja
- Milieu Mossel
- Milieu Muller Hinton
- Milieu Sabouraud
- Paraffine
- Polysorbate 80
- Quercetine
- Rouge Congo
- Rouge de phénol
- Rutine
- Toluène
- Trichloride d'aluminium
- Trolamine
- Tween 80
- Vanilline
- Vert de méthyle

APPENDICE D

Teneur en eau du bois

	PF (en g)	PS (en g)	teneur en eau %
1^{er} essai	4,015	2,122	47,15%
2^{ème} essai	4,036	2,188	45,79%
3^{ème} essai	4,049	2,176	46,26%
Moyenne			46,40%
Ecart-type			0,0069

PF: Poids frais; **PS:** Poids sec

Teneur en eau des aiguilles

	PF (en g)	PS (en g)	teneur en eau %
1^{er} essai	5,083	2,602	48,81%
2^{ème} essai	5,057	2,574	49,10%
3^{ème} essai	5,034	2,501	50,32%
Moyenne			49,58%
Ecart-type			0,0080

PF: Poids frais; **PS:** Poids sec.

Teneur en eau des cônes

	PF (en g)	PS (en g)	teneur en eau %
1^{er} essai	6,072	0,966	84,09%
2^{ème} essai	6,074	0,970	84,03%
3^{ème} essai	6,005	0,941	84,33%
Moyenne			84,15%
Ecart-type			0,0016

PF: Poids frais; PS: Poids sec.

Rendement en huile essentielle du bois

	Poids du bois frais (g)	Poids du bois sec (g)	poids de l'huile essentielle (g)	Rendement %
1^{er} essai	120g	64,32g	1,34g	2,08
2^{ème} essai	120g	64,32g	1,39g	2,16
3^{ème} essai	120g	64,32g	1,33g	2,06
Moyenne	120g	64,32g	1,35g	2,1
Ecart-type	00	00	0,03	0,05

Rendement en huile essentielle des aiguilles

	Poids des aiguilles frais (g)	Poids des aiguilles sèches (g)	poids de l'huile essentielle (g)	Rendement %
1^{er} essai	225g	113,44g	0,129g	0,114
2^{ème} essai	225g	113,44g	0,135g	0,119
3^{ème} essai	225g	113,44g	0,134g	0,118
Moyenne	225g	113,44g	0,133g	0,117
Ecart-type	00	00	0,003	0,003

Rendement en huile essentielle des cônes

	Poids des cônes frais (g)	Poids des cônes secs (g)	poids de l'huile essentielle (g)	Rendement %
1^{er} essai	350g	55,47g	2,146g	3,87
2^{ème} essai	350g	55,47g	2,048g	3,69
3^{ème} essai	350g	55,47g	2,190g	3,94
Moyenne	350g	55,47g	2,128g	3,83
Ecart-type	00	00	0,073	0,129

Rendement en fractions polaire et apolaire

Partie utilisée	Poids de la matière végétale (g)	Fraction	Poids de l'extrait (g)	Rendement %
Bois	12g	Polaire	0,07	0,58
		Apolaire	0,36	3
Aiguilles	12,07	Polaire	3,75	31,07
		Apolaire	0,65	5,38
Cônes	16,75	Polaire	1,03	6,15
		Apolaire	1,10	6,57

Absorbances de l'acide Gallique en fonction des concentrations

Concentration de l'acide Gallique (µg/ml)	Absorbance du 1 ^{er} essai	Absorbance du 2 ^{ème} essai	Absorbance du 3 ^{ème} essai	Moyenne	Ecart-type
0	0	0	0	0,0000	0,0000
10	0,091	0,094	0,065	0,0833	0,0159
20	0,202	0,194	0,172	0,1893	0,0155
30	0,303	0,304	0,284	0,2970	0,0113
40	0,414	0,419	0,39	0,4077	0,0155
50	0,534	0,53	0,502	0,5220	0,0174
60	0,622	0,652	0,633	0,6357	0,0152
70	0,738	0,788	-	0,7630	0,0354
80	0,899	0,915	-	0,9070	0,0113
100	1,135	1,144	-	1,1395	0,0064

Absorbances et concentrations des polyphénols dans les aiguilles

	1^{er} essai	2^{ème} essai	3^{ème} essai	Moyenne	Ecart-type
Absorbance de l'extrait méthanolique (1mg/ml)	0,454	0,477	0,454	0,461	0,01
Concentration des composés phénoliques dans l'extrait méthanolique (mg de GAE/g)	44,05	46,06	44,05	44,72	1,16
Concentration des composés phénoliques dans les aiguilles sèches (mg de GAE/g)	13,69	14,31	13,69	13,9	0,36

Absorbances et concentrations des polyphénols dans les cônes

	1^{er} essai	2^{ème} essai	3^{ème} essai	Moyenne	Ecart- type
Absorbance de l'extrait méthanolique (0.5mg/ml)	0,318	0,332	0,304	0,318	0,014
Concentration des composés phénoliques dans l'extrait méthanolique (mg de GAE/g)	63,8	65,84	61,26	63,63	2,29
Concentration des composés phénoliques dans les cônes secs (mg de GAE/g)	3,92	4,05	3,77	3,91	0,14

Absorbances et teneurs en flavonoïdes dans les aiguilles

	1^{er} essai	2^{eme} essai	3^{eme} essai	Moyenne	Ecart- type
Absorbance de la Rutine	0,324	0,325	0,343	0,331	0,011
Absorbance de l'extrait méthanolique	0,111	0,116	0,117	0,115	0,003
teneur en flavonoïdes (mg/g de l'extrait méthanolique en équivalent Rutine)	17,13	17,85	17,05	17,343	0,441
teneur en flavonoïdes (mg/g d'aiguilles sèches en équivalent Rutine)	5,32	5,55	5,30	5,39	0,14

Absorbances et teneurs en flavonoïdes dans les cônes

	1^{er} essai	2^{eme} essai	3^{eme} essai	Moyenne	Ecart- type
Absorbance de la Rutine	0,324	0,325	0,343	0,331	0,011
Absorbance de l'extrait méthanolique	0,131	0,137	0,138	0,135	0,004
teneur en flavonoïdes (mg/gde l'extrait méthanolique en équivalent Rutine)	20,22	21,07	20,12	20,47	0,52
teneur en flavonoïdes (mg/g de cônes secs en équivalent Rutine)	1,24	1,3	1,24	1,26	0,03

Absorbances de la catéchine en fonction de la concentration

Concentration de la catéchine (mg/ml)	Absorbance
0	0
0,1	0,432
0,2	0,662
0,3	0,909
0,4	1,07
0,5	1,38
1	2,21

Absorbances et concentrations des tanins condensés dans les aiguilles

	1^{er} essai	2^{ème} essai	3^{ème} essai	Moyenne	Ecart-type
Absorbance de l'extrait méthanolique (5mg/ml)	1,00	0,982	0,980	0,987	0,011
Concentration des tanins condensés dans l'extrait méthanolique (mg de CE/g)	0,820	0,806	0,804	0,810	0,009
Concentration des tanins condensés dans les aiguilles sèches (mg de CE/g)	0,254	0,250	0,249	0,251	0,003

Absorbances et concentrations des tanins condensés dans les cônes

	1 ^{er} essai	2 ^{ème} essai	3 ^{ème} essai	Moyenne	Ecart-type
Absorbance de l'extrait méthanolique (10mg/ml)	1,10	1,11	1,15	1,120	0,026
Concentration des tanins condensés dans l'extrait méthanolique (mg de CE/g)	0,451	0,455	0,472	0,459	0,011
Concentration des tanins condensés dans les cônes secs (mg de CE/g)	0,027	0,027	0,029	0,028	0,001

Activité antiradicalaire

Nature de la substance chimique	Concentration (mg/ml) de l'antiradicalaire	Pourcentage d'inhibition de l'oxydation	Ecart-type
α-Tocophérol	0,00	0%	0,00%
	0,10	22%	2,17%
	0,30	68%	1,58%
	0,50	88%	0,50%
	0,70	88%	0,53%
	1,00	88%	0,07%
Acide ascorbique	0,00	0%	0,00%
	0,01	25%	1,88%
	0,02	47%	1,95%
	0,05	84%	0,37%
	0,10	85%	0,19%
	0,20	85%	0,10%
Rutine	0	0%	0,00%
	0,005	1%	0,68%
	0,01	2%	0,82%
	0,02	5%	1,03%
	0,05	12%	0,78%
	0,1	21%	0,28%
	0,15	35%	1,67%
	0,2	71%	4,24%
	0,3	85%	0,10%

Acide gallique	0	0%	0,00%
	0,005	27%	0,19%
	0,01	56%	0,43%
	0,02	86%	0,15%
	0,05	86%	0,13%
	0,1	86%	0,03%
Quercitine	0	0%	0,00%
	0,005	21%	1,26%
	0,01	47%	1,42%
	0,02	84%	0,22%
	0,05	86%	0,29%
	0,1	85%	0,22%
Extrait méthanolique des aiguilles	0	0%	0%
	0,4	19,21%	0,12%
	0,8	35,99%	0,21%
	1	44,42%	0,86%
	1,2	53,28%	0,13%
	1,6	68,38%	0,44%
	2	69,18%	0,85%
Extrait méthanolique des cônes	0	0%	0%
	0,1	34,08%	1,75%
	0,15	45,29%	0,30%
	0,2	60,41%	2,19%
	0,3	83,28%	0,96%
	0,4	89,69%	0,02%

Activité anti-inflammatoire

Poids des oreilles droites et gauches des souris des quatre lots

Souris	Poids de l'oreille droite traitée (mg)					Poids de l'oreille gauche non traitée (mg)				
	S1	S2	S3	S4	S5	S1	S2	S3	S4	S5
1^{er} lot (Crème à base de l'huile essentielle du bois)	7,8	7,6	6,6	5,4	6,2	15,1	14,3	13,8	9,6	11,1
2^{ème} lot (Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles)	6,8	6,8	5,4	7,2	6,2	13,0	12,6	8,6	14,2	11,1
3^{ème} lot (Crème à base de l'huile essentielle des cônes)	7,5	5,8	7,2	5,8	7,0	13,6	9,2	15,2	11,18	13,0
4^{ème} lot (Gel de Diclofenac de Soduim 1%)	5,4	8,2	6,6	8,4	5,4	8,6	15,2	13,8	14,2	8,6

Réduction des œdèmes (%)

	1^{er} lot (Crème à base de l'huile essentielle du bois)	2^{ème} lot (Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles)	3^{ème} lot (Crème à base de l'huile essentielle des cônes)	4^{ème} lot (Gel de Diclofenac de Soduim 1%)
OD (mg)	6,72± 1,00	6,48± 0,70	6,66± 0,80	6,8± 1,46
OG (mg)	12,78 ± 2,33	11,9 ± 2,15	12,44 ± 2,31	12,08 ± 3,22
Réduction des œdèmes (%)	47,42%	45,55%	46,45%	43,71%

Activité cicatrisante

Méthode de scarification

Longueur des plaies du 1^{er} lot (crème à base de l'huile essentielle du bois)

Jours	Flanc traité		Flanc témoin		Réduction de la plaie par apport au témoin (%)
	Surface de la plaie mm	Diminution mm	Surface de la plaie mm	Diminution mm	
0	50	0	50	0	0,00%
1	49,34 ± 0,53	0,66	49,69 ± 0,36	0,21	0,70%
2	47,82 ± 0,64	2,18	48,90 ± 0,59	1,10	2,21%
3	45,18 ± 0,12	4,82	48,16 ± 0,42	1,84	6,19%
4	43,48 ± 0,24	6,52	47,90 ± 0,36	2,10	9,23%
5	42,14 ± 0,36	7,86	47,23 ± 0,16	2,77	10,78%
6	41,82 ± 0,92	8,18	46,82 ± 0,29	3,18	10,68%
7	40,32 ± 0,34	9,68	46,61 ± 0,28	3,39	13,49%
8	39,95 ± 0,25	10,05	46,24 ± 0,74	3,76	13,60%
9	37,82 ± 0,31	12,18	45,40 ± 0,32	4,60	16,70%
10	36,08 ± 0,29	13,92	44,98 ± 0,04	5,12	19,79%
11	35,62 ± 0,23	14,38	44,82 ± 0,14	5,18	20,53%
12	34,45 ± 0,21	15,55	43,90 ± 0,05	6,10	21,53%
13	33,12 ± 0,36	16,88	42,86 ± 0,09	7,14	22,73%
14	31,24 ± 0,42	17,70	42,08 ± 0,13	7,92	25,76%

Plaies du 2^{ème} lot (crème à base de l'huile essentielle des aiguilles)

Jours	Flancs traités		Flancs témoins		Réduction de la plaie par apport au témoin (%)
	Longueur de la plaie (mm)	Diminution (mm)	Longueur de la plaie (mm)	Diminution (mm)	
0	50	0	50	0	0,00%
1	47,75 ± 0,95	2,25	49,21 ± 0,41	0,79	2,97%
2	46,19 ± 0,74	3,81	48,74 ± 0,45	1,26	5,23%
3	42,91 ± 1,35	7,09	47,95 ± 0,44	2,05	10,51%
4	40,04 ± 1,75	9,96	47,70 ± 0,74	2,3	16,06%
5	38,84 ± 1,84	11,16	47,51 ± 0,65	2,49	18,25%
6	35,75 ± 1,46	14,25	47,31 ± 0,32	2,69	24,43%
7	34,87 ± 1,5	15,13	46,45 ± 0,38	3,55	24,93%
8	32,89 ± 1,53	17,11	46,03 ± 0,74	3,91	28,55%
9	31,75 ± 1,47	18,25	45,21 ± 0,54	4,78	29,77%
10	31,03 ± 1,1	18,97	44,4 ± 0,21	5,6	30,11%
11	30,25 ± 1,34	19,75	43,82 ± 0,56	6,18	30,97%
12	29,45 ± 1,23	20,55	42,14 ± 0,78	7,86	30,11%
13	28,97 ± 1,47	21,03	41,11 ± 0,45	8,89	29,53%
14	28,24 ± 1,21	21,76	40,01 ± 0,63	9,99	29,42%

Plaies du 3^{ème} lot (crème à base de l'huile essentielle des cônes)

Jours	Flancs traités		Flancs témoins		Réduction de la plaie par apport au témoin (%)
	Longueur de la plaie (mm)	Diminution (mm)	Longueur de la plaie (mm)	Diminution (mm)	
0	50	0	50	0	0,00%
1	48,42 ± 0,40	1,57	49,38 ± 0,38	0,61	1,94%
2	47,19 ± 0,4	2,805	48,86 ± 0,46	1,13	3,42%
3	45,85 ± 1,82	4,14	48,4 ± 0,49	1,59	5,27%
4	44,01 ± 2,22	5,98	47,71 ± 0,59	2,28	7,76%
5	43,12 ± 2,12	6,87	47,52 ± 0,56	2,47	9,26%
6	42,29 ± 2,03	7,7	47,21 ± 0,4	2,78	10,42%
7	40,91 ± 2,06	9,08	47,05 ± 0,38	2,94	13,05%
8	40,03 ± 2,09	9,96	46,78 ± 0,37	3,21	14,43%
9	39,16 ± 1,93	10,83	46,16 ± 0,19	3,83	15,16%
10	38,31 ± 1,75	11,68	45,43 ± 0,3	4,56	15,67%
11	37,35 ± 1,47	12,65	44,49 ± 0,3	5,5	16,05%
12	36,12 ± 1,62	13,87	43,55 ± 0,4	6,45	17,06%
13	34,97 ± 1,32	15,02	42,57 ± 0,46	7,42	17,85%
14	33,61 ± 1,10	16,38	41,6 ± 0,7	8,4	19,21%

Plaies du 4^{ème} lot (Madécassol)

Jours	Flanc traité		Flanc témoin		Réduction de la plaie par apport au témoin (%)
	Longueur de la plaie (mm)	Diminution (mm)	Longueur de la plaie (mm)	Diminution (mm)	
0	50	0	50	0	0,00%
1	49,18 ± 0,28	0,81	49,81 ± 0,05	0,18	1,26%
2	47,85 ± 0,58	2,13	48,89 ± 0,38	1,1	2,13%
3	46,04 ± 0,57	3,95	48,01 ± 0,58	1,98	4,10%
4	45,03 ± 0,62	4,96	47,32 ± 0,33	2,67	4,84%
5	42,37 ± 0,24	7,62	46,78 ± 0,39	3,21	9,43%
6	41,31 ± 0,32	8,68	46,16 ± 0,65	3,83	10,51%
7	38,86 ± 0,24	11,13	45,37 ± 0,68	4,62	14,35%
8	38,17 ± 0,27	11,82	44,52 ± 0,4	5,47	14,26%
9	37,02 ± 0,29	12,97	43,81 ± 0,72	6,18	15,50%
10	35,93 ± 0,19	14,06	42,18 ± 0,8	7,81	14,82%
11	34,64 ± 0,26	15,35	41,76 ± 0,79	8,23	17,05%
12	33,35 ± 0,30	16,64	40,78 ± 0,62	9,21	18,22%
13	32 ± 0,27	17,99	39,57 ± 0,71	10,42	19,13%
14	30,8 ± 0,59	19,2	38,67 ± 0,72	11,32	20,35%

Plaies du 5^{ème} lot (Placebo)

Jours	Flanc traité		Flanc témoin		Réduction de la plaie par apport au témoin (%)
	Longueur de la plaie (mm)	Diminution (mm)	Longueur de la plaie (mm)	Diminution (mm)	
0	50	0	50	0	0,00%
1	49,67 ± 0,10	0,32	49,72 ± 0,06	0,27	0,10%
2	49,1 ± 0,06	0,9	49,15 ± 0,07	0,85	0,10%
3	48,74 ± 0,13	1,25	48,88 ± 0,1	1,11	0,29%
4	48,14 ± 0,11	1,85	48,21 ± 0,15	1,78	0,15%
5	47,83 ± 0,09	2,16	47,81 ± 0,1	2,18	-0,04%
6	47,33 ± 0,06	2,66	47,31 ± 0,1	2,68	-0,04%
7	46,86 ± 0,06	3,13	47,06 ± 0,44	2,93	0,42%
8	46,18 ± 0,06	3,81	46,03 ± 0,09	3,96	-0,33%
9	45,81 ± 0,08	4,18	45,27 ± 0,07	4,72	-1,19%
10	45,21 ± 0,1	4,78	44,76 ± 0,05	5,23	-1,01%
11	44,75 ± 0,06	5,25	44,12 ± 0,08	5,87	-1,43%
12	44,15 ± 0,06	5,85	43,51 ± 0,07	6,48	-1,47%
13	43,71 ± 0,07	6,28	43,12 ± 0,07	6,87	-1,37%
14	43,11 ± 0,07	6,88	42,53 ± 0,08	7,46	-1,36%

Evaluation du processus de cicatrisation pour les plaies n'ayant subi aucun traitement

	Profondeur de la plaie						Bourgeonnement						Œdème						Epaisseur de la croute					
	S1	S2	S3	S4	S5	M	S1	S2	S3	S4	S5	M	S1	S2	S3	S4	S5	M	S1	S2	S3	S4	S5	M
J1	4	4	4	4	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J2	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
J3	3	3	4	4	4	3,6	1	1	2	2	2	1,6	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1
J4	3	3	3	4	4	3,4	2	2	2	2	2	2	3	2	3	3	3	2,8	1	2	2	2	2	1,8
J5	3	3	3	3	4	3,2	3	2	2	2	2	2,2	3	3	3	3	3	3	2	2	2	1	2	1,8
J6	3	3	2	3	3	2,8	2	3	3	3	3	2,8	3	2	2	2	2	2,2	2	2	2	2	2	2
J7	3	3	2	2	3	2,6	2	3	3	3	3	2,8	3	1	1	1	1	1,4	2	2	3	3	3	2,6
J8	2	3	2	3	3	2,6	3	3	3	3	3	3	2	1	1	1	1	1,2	2	2	3	2	2	2,2
J9	3	3	2	2	2	2,4	4	3	3	3	3	3,2	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2
J10	3	2	2	2	1	2	3	3	3	2	3	2,8	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2
J11	2	2	2	2	2	2	4	2	2	2	2	2,4	0	0	0	0	0	0	3	2	2	2	2	2,2
J12	3	1	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2,2	0	0	0	0	0	0	3	2	2	2	2	2,2
J13	2	2	2	2	2	2	3	3	3	2	3	2,8	0	0	0	0	0	0	3	3	3	2	2	2,6
J14	1	2	2	2	2	1,8	4	3	3	3	3	3,2	0	0	0	0	0	0	2	0	1	1	1	1

Evaluation du processus de cicatrisation pour les plaies traitées par le Placebo

	Profondeur de la plaie						Bourgeonnement						Œdème						Epaisseur de la croûte						
	S1	S2	S3	S4	S5	M	S1	S2	S3	S4	S5	M	S1	S2	S3	S4	S5	M	S1	S2	S3	S4	S5	M	
J1	4	4	4	4	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J2	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
J3	3	3	4	4	4	3,6	1	2	2	2	2	1,8	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	
J4	3	3	4	4	4	3,6	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	2,8	1	2	2	2	2	1,8	
J5	3	3	4	4	4	3,6	3	3	3	2	2	2,6	3	3	3	3	3	3	2	2	2	1	2	1,8	
J6	2	2	2	3	3	2,4	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	2,6	2	2	2	2	2	2	
J7	2	2	2	3	3	2,4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1,8	2	2	3	3	3	2,6	
J8	2	2	3	3	3	2,6	3	2	2	3	3	2,6	2	1	1	1	1	1,2	1	2	3	2	2	2	
J9	2	2	2	2	3	2,2	3	3	3	4	4	3,4	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1,8	
J10	1	2	2	2	3	2	2	2	3	3	3	2,6	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	
J11	1	2	2	2	2	1,8	3	3	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0	3	2	2	2	2	2,2	
J12	1	1	2	2	2	1,6	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	3	2	2	2	2	2,2	
J13	1	1	1	2	2	1,4	2	2	2	3	3	2,4	0	0	0	0	0	0	3	3	3	2	2	2,6	
J14	1	1	1	1	2	1,2	2	2	2	2	3	2,2	0	0	0	0	0	0	2	1	1	1	1	1,2	

Surfaces des plaies n'ayant subi aucun traitement

Jours	1 ^{er} essai	2 ^{ème} essai	3 ^{ème} essai	4 ^{ème} essai	5 ^{ème} essai	Moyenne	écart-type
J1	2,15	2,12	2,23	2,12	2,12	2,15	0,05
J2	2,12	1,75	2,03	1,85	1,98	1,95	0,15
J3	1,80	1,72	1,68	1,87	1,54	1,72	0,13
J4	1,40	1,57	1,44	1,67	1,65	1,55	0,12
J5	1,57	1,60	1,39	1,24	1,33	1,43	0,16
J6	1,45	1,55	1,45	1,35	1,15	1,39	0,15
J7	0,99	1,00	0,77	0,77	0,83	0,87	0,11
J8	0,65	0,64	0,52	0,56	0,60	0,59	0,05
J9	0,63	0,60	0,60	0,56	0,57	0,59	0,03
J10	0,59	0,58	0,54	0,57	0,54	0,56	0,02
J11	0,55	0,54	0,54	0,52	0,50	0,53	0,02
J12	0,52	0,50	0,49	0,45	0,44	0,48	0,03
J13	0,40	0,48	0,46	0,36	0,44	0,43	0,05
J14	0,35	0,37	0,40	0,32	0,36	0,36	0,03

Surfaces des plaies traitées par le placebo

Jours	1 ^{er} essai	2 ^{ème} essai	3 ^{ème} essai	4 ^{ème} essai	5 ^{ème} essai	Moyenne	écart-type
J1	2,21	2,15	2,32	2,12	2,34	2,23	0,10
J2	2,07	1,99	1,78	1,95	2,12	1,98	0,13
J3	1,80	1,62	1,69	1,75	1,67	1,71	0,07
J4	1,70	1,67	1,78	1,70	1,63	1,70	0,06
J5	1,40	1,44	1,39	1,24	1,30	1,35	0,08
J6	1,41	1,29	1,35	1,25	1,15	1,29	0,10
J7	0,95	0,85	0,75	0,67	0,95	0,83	0,12
J8	0,75	0,59	0,65	0,61	0,59	0,64	0,07
J9	0,57	0,54	0,53	0,52	0,56	0,54	0,02
J10	0,49	0,47	0,45	0,46	0,50	0,47	0,02
J11	0,42	0,48	0,42	0,47	0,39	0,44	0,04
J12	0,43	0,40	0,39	0,41	0,35	0,40	0,03
J13	0,37	0,40	0,39	0,35	0,25	0,35	0,06
J14	0,20	0,28	0,25	0,23	0,24	0,24	0,03

Surfaces des plaies traitées par la crème dermique à base de l'huile essentielle du bois

Jours	1 ^{er} essai	2 ^{ème} essai	3 ^{ème} essai	4 ^{ème} essai	5 ^{ème} essai	Moyenne	écart-type
J1	2,23	2,21	2,23	2,23	2,21	2,22	0,01
J2	1,80	1,75	1,70	1,65	1,55	1,69	0,10
J3	1,65	1,84	1,78	1,76	1,55	1,72	0,12
J4	1,45	1,40	1,35	1,25	1,15	1,32	0,12
J5	1,10	1,00	0,95	0,97	1,15	1,03	0,09
J6	0,90	0,95	0,85	0,70	0,67	0,81	0,12
J7	0,65	0,60	0,55	0,50	0,45	0,55	0,08
J8	0,44	0,42	0,40	0,38	0,34	0,40	0,04
J9	0,36	0,30	0,34	0,31	0,29	0,32	0,03
J10	0,28	0,27	0,35	0,31	0,29	0,30	0,03
J11	0,26	0,23	0,20	0,16	0,17	0,20	0,04
J12	0,15	0,17	0,10	0,12	0,14	0,14	0,03
J13	0,15	0,20	0,10	0,12	0,14	0,14	0,04
J14	0,06	0,07	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00

Surfaces des plaies traitées par la crème dermique à base de l'huile essentielle des aiguilles

Jours	1 ^{er} essai	2 ^{ème} essai	3 ^{ème} essai	4 ^{ème} essai	5 ^{ème} essai	Moyenne	écart-type
J1	2,20	2,12	2,21	2,22	2,232	2,19	0,05
J2	1,85	1,80	1,75	1,65	1,70	1,75	0,08
J3	1,60	1,65	1,73	1,65	1,75	1,68	0,06
J4	1,40	1,44	1,37	1,24	1,30	1,35	0,08
J5	1,00	1,12	1,19	0,97	0,93	1,04	0,11
J6	0,85	0,82	0,73	0,64	0,79	0,77	0,08
J7	0,60	0,55	0,50	0,40	0,35	0,48	0,10
J8	0,39	0,40	0,38	0,36	0,32	0,37	0,03
J9	0,38	0,35	0,33	0,30	0,31	0,33	0,03
J10	0,30	0,29	0,28	0,25	0,23	0,27	0,03
J11	0,22	0,21	0,20	0,19	0,15	0,19	0,03
J12	0,12	0,15	0,13	0,12	0,10	0,12	0,02
J13	0,10	0,09	0,09	0,07	0,07	0,08	0,01
J14	0,04	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05	0,01

Surfaces des plaies traitées par la crème dermique à base de l'huile essentielle des cônes

Jours	1 ^{er} essai	2 ^{ème} essai	3 ^{ème} essai	4 ^{ème} essai	5 ^{ème} essai	Moyenne	écart-type
J1	2,31	2,21	2,14	2,09	2,22	2,19	0,08
J2	1,78	1,65	1,60	1,50	1,45	1,60	0,13
J3	1,60	1,67	1,98	1,80	1,63	1,74	0,16
J4	1,30	1,11	1,00	1,14	1,17	1,14	0,11
J5	0,90	0,85	0,83	0,89	0,78	0,85	0,05
J6	0,76	0,75	0,64	0,66	0,58	0,68	0,08
J7	0,55	0,56	0,53	0,50	0,47	0,52	0,04
J8	0,42	0,45	0,40	0,38	0,37	0,40	0,03
J9	0,36	0,30	0,34	0,29	0,30	0,32	0,03
J10	0,28	0,26	0,21	0,19	0,23	0,23	0,04
J11	0,20	0,19	0,18	0,14	0,13	0,17	0,03
J12	0,12	0,11	0,10	0,09	0,09	0,10	0,01
J13	0,07	0,05	0,05	0,05	0,04	0,05	0,01
J14	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,00

Surfaces des plaies traitées par le Madécassol

Jours	1 ^{er} essai	2 ^{ème} essai	3 ^{ème} essai	4 ^{ème} essai	5 ^{ème} essai	Moyenne	écart-type
J1	2,47	2,22	2,14	2,15	2,07	2,21	0,15
J2	2,00	1,55	1,80	1,78	1,80	1,79	0,16
J3	1,80	1,56	1,56	1,76	1,62	1,66	0,11
J4	1,45	1,23	1,35	1,25	1,15	1,29	0,12
J5	1,00	1,07	1,19	1,13	0,99	1,08	0,09
J6	0,80	0,85	0,69	0,67	0,78	0,76	0,08
J7	0,45	0,64	0,56	0,58	0,42	0,53	0,09
J8	0,47	0,38	0,42	0,39	0,41	0,41	0,04
J9	0,38	0,35	0,32	0,39	0,37	0,36	0,03
J10	0,34	0,29	0,27	0,38	0,34	0,32	0,04
J11	0,31	0,28	0,26	0,28	0,29	0,28	0,02
J12	0,24	0,26	0,24	0,21	0,23	0,24	0,02
J13	0,23	0,22	0,22	0,20	0,21	0,22	0,01
J14	0,19	0,20	0,18	0,14	0,11	0,16	0,04

Pourcentage de contraction des plaies

Jours	Sans traitement	Placebo	Crème à base de l'huile essentielle du bois	Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles	Crème dermique à base de l'huile essentielle des cônes	Madécassol
J1	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
J2	9,30%	11,21%	23,87%	20,09%	26,94%	19,00%
J3	20,00%	23,32%	22,52%	23,29%	20,55%	24,89%
J4	27,91%	23,77%	40,54%	38,36%	47,95%	41,63%
J5	33,49%	39,46%	53,60%	52,51%	61,19%	51,13%
J6	35,35%	42,15%	63,51%	64,84%	68,95%	65,61%
J7	59,53%	62,78%	75,23%	78,08%	76,26%	76,02%
J8	72,56%	71,30%	81,98%	83,11%	81,74%	81,45%
J9	72,56%	75,78%	85,59%	84,93%	85,39%	83,71%
J10	73,95%	78,92%	86,49%	87,67%	89,50%	85,52%
J11	75,35%	80,27%	90,99%	91,32%	92,24%	87,33%
J12	77,67%	82,06%	93,69%	94,52%	95,43%	89,14%
J13	80,00%	84,30%	93,69%	96,35%	97,72%	90,05%
J14	83,26%	89,24%	97,30%	97,72%	98,63%	92,76%

Méthode de brulure thermique

Evolution pondérale des lapins

jours	1 ^{er} lot			Moyenne (Kg) ± écart- type	Réduction	2 ^{ème} lot			Moyenne (Kg) ± écart- type	Réduction	3 ^{ème} lot			Moyenne (Kg) ± écart- type	Réduction
	A1	A2	A3			B1	B2	B3			C1	C2	C3		
j1	2,64	2,57	2,53	2,58±0,06	0,00%	2,50	2,4	2,41	2,44±0,06	0,00%	2,51	2,50	2,50	2,50±0,01	0,00%
j2	2,54	2,47	2,43	2,48±0,06	3,88%	2,45	2,35	2,36	2,39±0,06	2,19%	2,49	2,48	2,49	2,49±0,01	0,53%
j3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
j4	2,53	2,46	2,42	2,47±0,06	4,26%	2,43	2,34	2,34	2,37±0,05	2,87%	2,49	2,48	2,48	2,48±0,01	0,67%
j5	2,52	2,45	2,49	2,46±0,06	4,65%	2,42	2,33	2,33	2,36±0,05	3,28%	2,49	2,48	2,48	2,48±0,01	0,67%
j6	2,51	2,44	2,41	2,45±0,05	4,91%	2,40	2,31	2,31	2,34±0,05	4,10%	2,49	2,48	2,48	2,48±0,01	0,67%
j7	2,50	2,43	2,40	2,45±0,05	5,30%	2,39	2,30	2,30	2,33±0,05	4,51%	2,48	2,47	2,47	2,47±0,01	1,07%
j8	2,50	2,43	2,39	2,44±0,06	5,43%	2,38	2,29	2,29	2,32±0,05	4,92%	2,48	2,47	2,47	2,47±0,01	1,07%
j9	2,49	2,42	2,38	2,43±0,06	5,81%	2,35	2,26	2,26	2,29±0,05	6,15%	2,48	2,47	2,47	2,47±0,01	1,07%
j10	2,48	2,41	2,37	2,42±0,06	6,20%	2,34	2,25	2,23	2,27±0,06	6,83%	2,47	2,46	2,46	2,46±0,01	1,47%
j11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
j12	2,47	2,40	2,37	2,41±0,05	6,46%	2,33	2,24	2,24	2,27±0,05	6,97%	2,47	2,46	2,46	2,46±0,01	1,47%
j13	2,46	2,39	2,35	2,40±0,06	6,98%	2,32	2,23	2,23	2,26±0,05	7,38%	2,47	2,46	2,46	2,46±0,01	1,47%
j14	2,45	2,38	2,34	2,39±0,06	7,36%	2,32	2,23	2,23	2,26±0,05	7,38%	2,46	2,45	2,46	2,46±0,01	1,73%
j15	2,45	2,38	2,34	2,39±0,06	7,36%	2,33	2,24	2,24	2,27±0,05	6,97%	2,46	2,45	2,45	2,45±0,01	1,87%
j16	2,45	2,38	2,35	2,39±0,05	7,24%	2,34	2,24	2,25	2,28±0,06	6,69%	2,46	2,45	2,45	2,45±0,01	1,87%
j17	2,46	2,39	2,36	2,40±0,05	6,85%	2,34	2,25	2,25	2,28±0,05	6,56%	2,46	2,45	2,45	2,45±0,01	1,87%
j18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
j19	2,473	2,403	2,369	2,42±0,05	6,40%	2,352	2,260	2,263	2,29±0,05	6,08%	2,47	2,46	2,46	2,46±0,01	1,47%
j20	2,47	2,40	2,37	2,41±0,05	6,46%	2,35	2,26	2,26	2,29±0,05	6,15%	2,47	2,46	2,46	2,46±0,01	1,47%
j21	2,48	2,41	2,37	2,42±0,06	6,20%	2,35	2,26	2,27	2,29±0,05	6,01%	2,47	2,46	2,46	2,46±0,01	1,47%
j22	2,50	2,43	2,40	2,44±0,05	5,30%	2,37	2,27	2,28	2,31±0,06	5,46%	2,48	2,47	2,47	2,47±0,006	1,07%
j23	2,52	2,45	2,42	2,46±0,05	4,52%	2,38	2,28	2,29	2,32±0,06	5,05%	2,48	2,47	2,47	2,47±0,01	1,07%
j24	2,52	2,45	2,42	2,46±0,05	4,52%	2,38	2,29	2,29	2,32±0,05	4,92%	2,48	2,47	2,47	2,47±0,01	1,07%
j25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
j26	2,54	2,47	2,44	2,48±0,05	3,75%	2,41	2,31	2,32	2,35±0,06	3,83%	2,49	2,48	2,48	2,48±0,01	0,67%
j27	2,56	2,49	2,46	2,50±0,05	2,97%	2,41	2,32	2,32	2,35±0,05	3,69%	2,49	2,48	2,48	2,48±0,01	0,67%
j28	2,57	2,50	2,47	2,51±0,05	2,58%	2,43	2,33	2,34	2,37±0,06	3,01%	2,49	2,48	2,48	2,48±0,01	0,67%
j29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
j30	2,60	2,53	2,50	2,54±0,05	1,42%	2,44	2,35	2,35	2,38±0,05	2,46%	2,50	2,49	2,49	2,49±0,01	0,27%

**Superficies des plaies et les pourcentages de réduction des plaies traitées
par la crème à base de l'huile essentielle du bois**

Jours	Surface des plaies du côté gauche			Surface des plaies du côté droit			Moyenne	écart-type	Pourcentage de réduction
	G1	G2	G3	D1	D2	D3			
J1	5,03	5,13	5,31	5,53	4,43	5,33	5,13	0,38	0,00%
J2	4,89	4,8	5,28	5,51	4,32	5,29	5,02	0,43	2,24%
j3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
J4	4,68	4,22	5,17	5,15	3,98	5,18	4,73	0,53	7,80%
J5	4,51	4,12	5,08	4,95	3,79	5,1	4,59	0,55	10,49%
J6	4,39	4,06	5,01	4,71	3,6	4,98	4,46	0,55	13,09%
J7	4,39	3,91	4,94	4,7	3,43	4,9	4,38	0,60	14,65%
J8	3,71	3,78	4,93	3,62	3,37	4,87	4,05	0,68	21,12%
J9	3,48	3,61	4,87	3,39	3,02	4,82	3,87	0,78	24,66%
J10	3,43	3,33	4,86	3,34	2,92	4,78	3,78	0,83	26,38%
j11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
J12	3,03	3,2	4,75	3,26	2,63	4,65	3,59	0,89	30,08%
J13	2,92	3,17	4,74	3,15	2,52	4,61	3,52	0,93	31,42%
J14	2,89	3,05	4,72	3,12	2,44	4,54	3,46	0,94	32,55%
J15	2,87	3	4,7	3,08	2,38	4,51	3,42	0,95	33,27%
j16	2,85	2,85	4,64	3,02	2,22	4,46	3,34	0,98	34,89%
j17	2,81	2,83	4,61	2,97	1,99	4,43	3,27	1,03	36,19%
j18	-	-	-	-	-	-	-	-	-
j19	2,76	2,65	4,58	2,82	1,76	4,23	3,13	1,06	38,92%
j20	2,74	2,62	4,56	2,78	1,74	4,17	3,10	1,06	39,54%
j21	2,68	2,58	4,51	2,72	1,71	4,09	3,05	1,05	40,58%
j22	2,63	2,54	4,45	2,56	1,67	3,98	2,97	1,04	42,07%
j23	2,54	2,49	4,41	2,37	1,61	3,87	2,88	1,05	43,83%
j24	2,48	2,47	4,38	2,24	1,6	3,79	2,83	1,04	44,90%
j25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
j26	2,38	2,38	4,25	2,17	1,54	3,61	2,72	1,01	46,95%
j27	2,21	2,32	4,22	2,14	1,47	3,55	2,65	1,02	48,31%
j28	2,15	2,29	4,19	2,07	1,44	3,49	2,61	1,02	49,22%
j29	-	-	-	-	-	-	-	-	-
j30	1,99	2,2	3,98	1,82	1,38	3,36	2,46	1,00	52,14%

**Superficies des plaies et les pourcentages de réduction des plaies traitées
par la crème à base de l'huile essentielle des aiguilles**

Jours	Surface des plaies du côté gauche			Surface des plaies du côté droit			Moyenne	écart-type	Pourcentage de réduction
	G1	G2	G3	D1	D2	D3			
J1	5,5	5,81	4,8	4,78	5,86	4,81	5,26	0,52	0,00%
J2	4,73	5,53	4,77	3,96	5,84	4,76	4,93	0,67	6,24%
j3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
J4	4,61	5,26	4,62	3,9	5,48	4,56	4,74	0,56	9,92%
J5	4,52	5,21	3,71	3,85	5,38	3,91	4,43	0,73	15,78%
J6	4,39	4,95	3,55	3,84	5,11	3,81	4,28	0,65	18,73%
J7	4,21	4,9	3,45	3,75	4,87	3,75	4,16	0,62	21,01%
J8	3,89	4,83	3,28	3,73	4,79	3,21	3,96	0,71	24,81%
J9	3,88	4,65	3,26	3,63	4,75	3,1	3,88	0,69	26,27%
J10	3,76	4,64	3,2	3,51	4,59	2,99	3,78	0,70	28,11%
j11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
J12	3,7	4,29	2,97	3,49	4,46	2,67	3,60	0,71	31,62%
J13	3,68	4,15	2,75	3,42	4,29	1,66	3,33	0,98	36,79%
J14	3,67	3,84	2,14	3,38	4,2	1,56	3,13	1,04	40,46%
J15	3,61	3,76	1,34	3,25	3,83	1,41	2,87	1,17	45,50%
j16	3,57	3,56	1,33	3,2	3,54	1,35	2,76	1,11	47,56%
j17	3,46	3,48	1,13	3,19	3,49	1,24	2,67	1,15	49,33%
j18	-	-	-	-	-	-	-	-	-
j19	3,29	3,38	1,09	3,12	3,39	1,18	2,58	1,12	51,05%
j20	3,19	3,29	1,05	3,08	3,28	0,68	2,43	1,22	53,83%
j21	2,85	3,18	0,92	2,91	3,1	0,56	2,25	1,18	57,16%
j22	2,52	3,17	0,9	2,86	2,91	0,53	2,15	1,14	59,16%
j23	2,47	3,12	0,89	2,61	2,51	0,51	2,02	1,05	61,63%
j24	2,38	3,05	0,82	2,52	2,49	0,42	1,95	1,06	62,99%
j25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
j26	2,17	2,94	0,8	2,33	2,39	0,4	1,84	1,00	65,05%
j27	2,05	2,86	0,78	2,25	2,26	0,38	1,76	0,96	66,48%
j28	1,73	2,79	0,78	2,17	2,15	0,37	1,67	0,92	68,35%
j29	-	-	-	-	-	-	-	-	-
j30	1,45	2,69	0,75	2,04	2,05	0,35	1,56	0,88	70,44%

**Superficies des plaies et les pourcentages de réduction des plaies traitées
par la crème à base de l'huile essentielle des cônes**

Jours	Surface des plaies du côté gauche			Surface des plaies du côté droit			Moyenne	écart-type	Pourcentage de réduction
	G1	G2	G3	D1	D2	D3			
J1	5,1	5,13	5,2	5,21	5,15	5,56	5,23	0,17	0,00%
J2	5,05	4,9	5,05	4,95	5,14	5,26	5,06	0,13	3,28%
j3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
J4	4,85	4,8	4,93	4,86	5,1	4,43	4,83	0,22	7,68%
J5	4,76	4,76	4,61	4,85	5,08	4,38	4,74	0,23	9,37%
J6	4,52	4,69	4,58	4,83	4,95	4,29	4,64	0,23	11,22%
J7	4,35	4,56	4,48	4,8	4,86	3,92	4,50	0,34	14,05%
J8	4,22	4,54	4,39	4,79	4,43	3,86	4,37	0,31	16,41%
J9	4,18	4,44	4,28	4,75	4,38	3,82	4,31	0,31	17,62%
J10	3,96	4,37	4,27	4,72	4,29	3,82	4,24	0,32	18,96%
j11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
J12	3,81	4,24	3,96	4,67	4,05	3,52	4,04	0,39	22,72%
J13	3,76	4,14	3,59	4,61	3,99	3,44	3,92	0,42	25,02%
J14	3,59	3,98	3,54	4,54	3,87	3,36	3,81	0,42	27,09%
J15	3,42	3,76	3,43	4,43	3,71	3,33	3,68	0,41	29,64%
j16	3,35	3,53	3,41	4,42	3,65	3,31	3,61	0,42	30,94%
j17	3,25	3,53	3,28	4,39	3,65	3,24	3,56	0,44	31,99%
j18	-	-	-	-	-	-	-	-	-
j19	3,14	3,43	3,2	4,29	3,63	3,21	3,48	0,44	33,40%
j20	3,11	3,32	3,14	4,18	3,49	3,16	3,40	0,41	34,99%
j21	3,09	3,21	3,05	4,09	3,38	3,09	3,32	0,40	36,55%
j22	2,98	3,1	2,85	3,97	3,25	3,01	3,19	0,40	38,94%
j23	2,86	3,08	2,74	3,96	3,19	2,91	3,12	0,44	40,28%
j24	2,79	2,96	2,68	3,93	3,09	2,85	3,05	0,45	41,68%
j25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
j26	2,63	2,84	2,46	3,76	2,68	2,73	2,85	0,46	45,51%
j27	2,58	2,72	2,24	3,68	2,64	2,61	2,75	0,49	47,51%
j28	2,54	2,68	2,22	3,47	2,57	2,54	2,67	0,42	48,95%
j29	-	-	-	-	-	-	-	-	-
j30	2,16	2,6	2,18	3,22	2,43	2,48	2,51	0,39	51,98%

Superficies des plaies et les pourcentages de réduction des plaies traitées par le Madécassol

Jours	Moyenne du 1 ^{er} lot	Moyenne du 2 ^{ème} lot	Moyenne du 3 ^{ème} lot	Moyenne	écart-type	Pourcentage
J1	4,99	5,32	5,29	5,20	0,18	0,00%
J2	4,83	5,08	5,11	5,01	0,15	3,72%
j3	-	-	-	-	-	-
J4	4,74	4,93	5,03	4,90	0,15	5,77%
J5	4,69	4,81	4,92	4,81	0,12	7,56%
J6	4,64	4,55	4,80	4,66	0,13	10,32%
J7	4,57	4,42	4,71	4,57	0,15	12,18%
J8	4,52	4,31	4,62	4,48	0,16	13,78%
J9	4,39	4,20	4,47	4,35	0,14	16,28%
J10	4,34	4,07	4,40	4,27	0,18	17,88%
j11	-	-	-	-	-	-
J12	4,17	3,85	4,32	4,11	0,24	20,90%
J13	4,12	3,61	4,19	3,97	0,32	23,59%
J14	4,05	3,50	4,03	3,86	0,31	25,77%
J15	3,98	3,36	3,93	3,76	0,34	27,76%
j16	3,93	3,25	3,81	3,66	0,36	29,55%
j17	3,90	3,09	3,69	3,56	0,42	31,54%
j18	-	-	-	-	-	-
j19	3,77	2,87	3,54	3,39	0,47	34,74%
j20	3,67	2,74	3,45	3,29	0,49	36,79%
j21	3,59	2,58	3,34	3,17	0,53	39,04%
j22	3,52	2,51	3,25	3,09	0,52	40,51%
j23	3,45	2,48	3,15	3,03	0,50	41,79%
j24	3,39	2,42	3,06	2,96	0,49	43,14%
j25	-	-	-	-	-	-
j26	3,30	2,31	2,99	2,87	0,51	44,87%
j27	3,25	2,21	2,92	2,79	0,53	46,28%
j28	3,18	2,04	2,88	2,70	0,59	48,08%
j29	-	-	-	-	-	-
j30	3,04	1,94	2,76	2,58	0,57	50,38%

Superficies des plaies et les pourcentages de réduction des plaies traitées par le Placebo

Jours	Moyenne du 1 ^{er} lot	Moyenne du 2 ^{ème} lot	Moyenne du 3 ^{ème} lot	Moyenne	écart-type	Pourcentage
J1	5,55	5,61	5,11	5,42	0,27	0,00%
J2	5,40	5,39	5,06	5,28	0,19	2,52%
j3	-	-	-	-	-	-
J4	5,22	5,17	4,88	5,09	0,18	6,09%
J5	5,16	5,01	4,79	4,99	0,19	8,00%
J6	5,00	4,91	4,74	4,88	0,13	9,90%
J7	4,96	4,87	4,73	4,85	0,12	10,46%
J8	4,90	4,84	4,69	4,81	0,11	11,25%
J9	4,86	4,80	4,64	4,77	0,11	12,05%
J10	4,83	4,76	4,60	4,73	0,12	12,73%
j11	-	-	-	-	-	-
J12	4,76	4,55	4,54	4,62	0,12	14,82%
J13	4,66	4,50	4,50	4,55	0,09	15,99%
J14	4,62	4,43	4,49	4,51	0,10	16,73%
J15	4,60	4,36	4,48	4,48	0,12	17,34%
j16	4,59	4,31	4,46	4,45	0,14	17,84%
j17	4,58	4,27	4,44	4,43	0,16	18,27%
j18	-	-	-	-	-	-
j19	4,52	4,22	4,39	4,38	0,15	19,25%
j20	4,48	4,19	4,37	4,35	0,15	19,80%
j21	4,47	4,16	4,34	4,32	0,16	20,23%
j22	4,45	4,10	4,32	4,29	0,18	20,85%
j23	4,43	4,05	4,30	4,26	0,19	21,40%
j24	4,42	4,04	4,28	4,25	0,19	21,65%
j25	-	-	-	-	-	-
j26	4,38	3,96	4,20	4,18	0,21	22,88%
j27	4,36	3,86	4,16	4,13	0,25	23,86%
j28	4,34	3,82	4,13	4,10	0,26	24,42%
j29	-	-	-	-	-	-
j30	4,29	3,70	4,01	4,00	0,30	26,20%

APPENDICE E
Etude statistique
Activité anti-inflammatoire
Test de Student du 1^{er} lot

H_0 : il n'y a pas de différence significative entre le poids des oreilles traitées par la crème à base de l'huile essentielle du bois et le poids des oreilles non traitées.

Test échantillons appariés

	Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatérale)
	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
				Inférieure	Supérieure			
Paire 1 Poids des oreilles droites - Poids des oreilles gauches	-6,06000	1,41880	0,63451	-7,82168	-4,29832	-9,551	4	0,001

Sig (bilatérale)= 0.001 \ll 0.05 donc H_0 est fortement rejetée de ce fait il y'a une différence hautement significative entre le poids des oreilles traitées par la crème à base de l'huile essentielle du bois et le poids des oreilles non traitées.

Test de Student du 2^{ème} lot

H_0 : il n'y a pas de différence significative entre le poids des oreilles traitées par la crème à base de l'huile essentielle des aiguilles et le poids des oreilles non traitées.

Test échantillons appariés

	Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatérale)
	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
				Inférieure	Supérieure			
Paire 1 Poids des oreilles droites - Poids des oreilles gauches	-5,42000	1,45327	0,64992	-7,22448	-3,61552	-8,339	4	0,001

Sig (bilatérale)= 0.001 << 0.05 donc H_0 est fortement rejetée de ce fait il y'a une différence hautement significative entre le poids des oreilles traitées par la crème à base de l'huile essentielle des aiguilles et le poids des oreilles non traitées.

Test de Student du 3^{ème} lot

H_0 : il n'y a pas de différence significative entre le poids des oreilles traitées par la crème à base de l'huile essentielle des cônes et le poids des oreilles non traitées.

Test échantillons appariés

	Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatérale)
	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
				Inférieure	Supérieure			
Paire 1 Poids des oreilles droites - Poids des oreilles gauches	-5,77600	1,65102	0,73836	-7,82602	-3,72598	-7,823	4	0,001

Sig (bilatérale)= 0.001 << 0.05 donc H_0 est fortement rejetée de ce fait il y'a une différence hautement significative entre le poids des oreilles traitées par la crème à base de l'huile essentielle des cônes et le poids des oreilles non traitées.

Test de Student du 4^{ème} lot

H_0 : il n'y a pas de différence significative entre le poids des oreilles traitées par le gel de Diclofenac de Soduim 1% et le poids des oreilles non traitées.

Test échantillons appariés

	Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatérale)
	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
				Inférieure	Supérieure			
Paire 1 Poids des oreilles droites - Poids des oreilles gauches	-5,28000	1,97282	0,88227	-7,72957	-2,83043	-5,985	4	0,004

Sig (bilatérale)= 0.004 << 0.05 donc H_0 est fortement rejetée de ce fait il y'a une différence hautement significative entre le poids des oreilles traitées par le gel de Diclofenac de Soduim 1% et le poids des oreilles non traitées.

Analyse de la variance (ANOVA)

H_0 : il n'y a pas de différence significative entre les effets anti-inflammatoires des quatre produits testés.

ANOVA

Réduction de l'œdème

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	50,175	3	16,725	0,621	0,612
Intra-groupes	431,199	16	26,950		
Total	481,374	19			

Sig =0,612 >> 0,05 donc H_0 est retenue de ce fait les différents produits testés ont des effets anti-inflammatoires semblables.

Activité cicatrisante

Méthode de scarification

Test de Student du 1^{er} lot

H_0 : il n'y a pas de différence significative entre la longueur des plaies traitées et celle des plaies n'ayant subi aucun traitement.

Test échantillons appariés

	Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatérale)
	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
				Inférieure	Supérieure			
Paire 1 Longueur des plaies traitées - Longueur des plaies non traitées	-5,45500	3,38117	0,90366	-7,40723	-3,50277	-6,037	13	0,000

Sig (bilatérale)= 0.000 << 0.05 donc H_0 est fortement rejetée de ce fait il y'a une différence hautement significative entre la longueur des plaies traitées et celle des plaies n'ayant subi aucun traitement.

Test de Student du 2^{ème} lot

H_0 : il n'y a pas de différence significative entre la longueur des plaies traitées et celle des plaies n'ayant subi aucun traitement.

Test échantillons appariés

	Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatérale)
	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
				Inférieure	Supérieure			
Paire 1 Longueur des plaies traitées - Longueur des plaies non traitées	-9,06357	4,88862	1,30654	-11,88618	-6,24096	-6,937	13	0,000

Sig (bilatérale)= 0.000 << 0.05 donc H_0 est fortement rejetée de ce fait il y'a une différence hautement significative entre la longueur des plaies traitées et celle des plaies n'ayant subi aucun traitement.

Test de Student du 3^{ème} lot

H_0 : il n'y a pas de différence significative entre la longueur des plaies traitées et celle des plaies n'ayant subi aucun traitement.

Test échantillons appariés

	Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatérale)
	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
				Inférieure	Supérieure			
Paire 1 Longueur des plaies traitées - Longueur des plaies non traitées	-4,81286	2,63234	0,70352	-6,33273	-3,29299	-6,841	13	0,000

Sig (bilatérale)= 0.000 << 0.05 donc H_0 est fortement rejetée de ce fait il y'a une différence hautement significative entre la longueur des plaies traitées et celle des plaies n'ayant subi aucun traitement.

Test de Student du 4^{ème} lot

H_0 : il n'y a pas de différence significative entre la longueur des plaies traitées et celle des plaies n'ayant subi aucun traitement.

Test échantillons appariés

	Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatérale)
	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
				Inférieure	Supérieure			
Paire 1 Longueur des plaies traitées - Longueur des plaies non traitées	-4,51500	2,76314	0,73848	-6,11039	-2,91961	-6,114	13	0,000

Sig (bilatérale)= 0.000 << 0.05 donc H_0 est fortement rejetée de ce fait il y'a une différence hautement significative entre la longueur des plaies traitées et celle des plaies n'ayant subi aucun traitement.

Test de Student du 5^{ème} lot

H_0 : il n'y a pas de différence significative entre la longueur des plaies traitées et celle des plaies n'ayant subi aucun traitement.

Test échantillons appariés

	Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatérale)
	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
				Inférieure	Supérieure			
Paire 1 Longueur des plaies traitées - Longueur des plaies non traitées	0,18071	0,31431	0,08400	-0,00076	0,36219	2,151	13	0,051

Sig (bilatérale)= 0.051 > 0.05 donc H_0 est maintenue de ce fait il n'y a pas de différence significative entre la longueur des plaies traitées et celle des plaies n'ayant pas subi de traitement.

Analyse de la variance (ANOVA)

H_0 : il n'y a pas de différence significative entre les effets cicatrisants des cinq produits testés.

ANOVA

Evolution de la cicatrisation

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	45,507	4	11,377	13,342	0,000
Intra-groupes	55,428	65	0,853		
Total	100,934	69			

Sig =0,000<<0,05 donc H_0 est fortement rejetée de ce fait les différents produits testés ont des effets cicatrisants significativement différents.

Tests Post hoc

Comparaisons multiples

Evolution de la cicatrisation

Test de Tukey

(I) Produits	(J) Produits	Différence de moyennes (I-J)	Erreur standard	Signification	Intervalle de confiance à 95%	
					Borne inférieure	Borne supérieure
Crème à base de l'huile essentielle du bois	Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles	-0,99714*	0,34903	0,044	-1,9764	-0,0178
	Crème dermique à base de l'huile essentielle des cônes	0,18357	0,34903	0,984	-0,7957	1,1629
	Madécassol	0,19786	0,34903	0,979	-0,7814	1,1772
	Placebo	1,53357*	0,34903	0,000	0,5543	2,5129

Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles	Crème à base de l'huile essentielle du bois	0,99714*	0,34903	0,044	0,0178	1,9764
	Crème dermique à base de l'huile essentielle des cônes	1,18071*	0,34903	0,010	0,2014	2,1600
	Madécassol	1,19500*	0,34903	0,009	0,2157	2,1743
	Placebo	2,53071*	0,34903	0,000	1,5514	3,5100
Crème dermique à base de l'huile essentielle des cônes	Crème à base de l'huile essentielle du bois	-0,18357	0,34903	0,984	-1,1629	0,7957
	Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles	-1,18071*	,34903	0,010	-2,1600	-0,2014
	Madécassol	0,01429	0,34903	1,000	-0,9650	0,9936
	Placebo	1,35000*	0,34903	0,002	0,3707	2,3293
Madécassol	Crème à base de l'huile essentielle du bois	-0,19786	0,34903	0,979	-1,1772	0,7814
	Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles	-1,19500*	0,34903	0,009	-2,1743	-0,2157
	Crème dermique à base de l'huile essentielle des cônes	-0,01429	0,34903	1,000	-0,9936	0,9650
	Placebo	1,33571*	0,34903	0,003	0,3564	2,3150
Placebo	Crème à base de l'huile essentielle du bois	-1,53357*	0,34903	0,000	-2,5129	-0,5543
	Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles	-2,53071*	0,34903	0,000	-3,5100	-1,5514
	Crème dermique à base de l'huile essentielle des cônes	-1,35000*	0,34903	0,002	-2,3293	-0,3707
	Madécassol	-1,33571*	0,34903	0,003	-2,3150	-0,3564

*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.

Sous-ensembles homogènes

Evolution de la cicatrisation

Test de Tukey^a

Produits	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05		
		1	2	3
Placebo	14	0,1150		
Madécassol	14		1,4507	
Crème dermique à base de l'huile essentielle des cônes	14		1,4650	
Crème à base de l'huile essentielle du bois	14		1,6486	
Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles	14			2,6457
Signification		1,000	0,979	1,000

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 14,000.

Méthode de brûlures thermiques

Réduction pondérale

H_0 : il n'y a pas de différence significative entre les réductions pondérales des lapins des trois lots étudiés.

ANOVA

Réduction pondérale

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	0,343	2	0,172	0,666	0,517
Intra-groupes	18,553	72	0,258		
Total	18,897	74			

Sig = 0,517 > 0,05 donc H_0 est maintenue. De ce fait les réductions pondérales des lapins des trois lots étudiés sont semblables.

Réduction des zones brûlées du 30^{ème} jour

H₀ : il n'y a pas de différence significative entre les pourcentages de réduction des zones brûlées traitées par les différents produits le 30^{ème} jour.

ANOVA

Réduction des plaies

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	1,176	4	0,294	18,247	0,000
Intra-groupes	0,790	49	0,016		
Total	1,966	53			

Sig =0,000<<0,05 donc H₀ est fortement rejetée. De ce fait les réductions des zones brûlées par les cinq produits testés sont significativement différentes après 30 jours de traitement.

Tests post hoc

Comparaisons multiples

Réduction des plaies

Test de Tukey

(I) Produits	(J) Produits	Différence de moyennes (I-J)	Erreur standard	Signification	Intervalle de confiance à 95%	
					Borne inférieure	Borne supérieure
Crème à base de l'huile essentielle du bois	Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles	-0,1854500	0,0732951	0,100	-0,393017	0,022117
	crème à base de l'huile essentielle des cônes	0,0067333	0,0732951	1,000	-0,200834	0,214301
	Madécassol	0,0247556	0,0598452	0,994	-0,144723	0,194234
	Placebo	0,2668389*	0,0598452	0,000	0,097361	0,436317

Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles	Crème à base de l'huile essentielle du bois	0,1854500	0,0732951	0,100	-0,022117	0,393017
	crème à base de l'huile essentielle des cônes	0,1921833	0,0732951	0,082	-0,015384	0,399751
	Madécassol	0,2102056*	0,0598452	0,008	0,040727	0,379684
	Placebo	0,4522889*	0,0598452	0,000	0,282811	0,621767
crème à base de l'huile essentielle des cônes	Crème à base de l'huile essentielle du bois	-0,0067333	0,0732951	1,000	-0,214301	0,200834
	Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles	-0,1921833	0,0732951	0,082	-0,399751	0,015384
	Madécassol	0,0180222	0,0598452	0,998	-0,151456	0,187500
	Placebo	0,2601056*	0,0598452	0,001	0,090627	0,429584
Madécassol	Crème à base de l'huile essentielle du bois	-0,0247556	0,0598452	0,994	-0,194234	0,144723
	Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles	-0,2102056*	0,0598452	0,008	-0,379684	-0,040727
	crème à base de l'huile essentielle des cônes	-0,0180222	0,0598452	0,998	-0,187500	0,151456
	Placebo	0,2420833*	0,0423170	0,000	0,122244	0,361922
Placebo	Crème à base de l'huile essentielle du bois	-0,2668389*	0,0598452	0,000	-0,436317	-0,097361
	Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles	-0,4522889*	0,0598452	0,000	-0,621767	-0,282811
	crème à base de l'huile essentielle des cônes	-0,2601056*	0,0598452	0,001	-0,429584	-0,090627
	Madécassol	-0,2420833*	0,0423170	0,000	-0,361922	-0,122244

*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.

Sous-ensembles homogènes

Réduction des plaies

Test de Tukey^{a,b}

Produits	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05		
		1	2	3
Placebo	18	0,259011		
Madécassol	18		0,501094	
crème à base de l'huile essentielle des cônes	6		0,519117	
Crème à base de l'huile essentielle du bois	6		0,525850	
Crème à base de l'huile essentielle des aiguilles	6			0,711300
Signification		1,000	0,995	1,000

REFERENCES

1. Aquaron, M., "Relations entre les hommes et les plantes médicinales : Des pratiques empiriques aux pratiques scientifiques", Centre d'Étude et de Recherche sur la Bipédie Initiale, (2005), 1-8.
2. Bahorun, T., « Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle », Food and Agricultural Research Council, (1997), 83-94.
3. Quezel, P. et Santa, S., « Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales », Tome I, Centre national de la recherche scientifique, (1962), 365p.
4. Bouzid, A., Chadli, R. et Bouzid, K., « Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale », *Phytothérapie*, V.15, (2017), 373-378.
5. Aberchane, M., Fechtal, M. et Chaouch, A., « Analysis of Moroccan Atlas Cedarwood Oil (*Cedrus atlantica* Manetti)», *J. Essent. Oil Res.*, V.16, (2004), 542-547.
6. Boudarene, L., Rahim, L., Baaliouamer, A. et Meklati, B.Y., « Analysis of Algerian essential oils from twigs, needles and wood of *Cedrus atlantica* Manetti by GC/MS», *Journal of Essential Oil Research*, V.16, (2004a), 531-534.
7. Boudarene, L., Baaliouamer, A. et Meklati, B.Y., «Composition of the seed oils from Algerian *Cedrus atlantica* Manetti », *Journal of Essential Oil Research*, V.16, (2004b), 61-63.

8. Barrero, A.F., Quilez del Moral, J.F., Herrador, M.M., Arteaga, J.F., Akssira, M., Benharref, A. et Dakir, M., «Abietane diterpenes from the cones of *Cedrus atlantica*», *Phytochemistry*, V. 66, (2005), 105–111.
9. Rhafouri, R., Satrani, B., Zair, T., Ghanmi, M., Bou-Idra, M., El Omari, M. et Bentayeb, A., « Chemical composition of the *Cedrus atlantica* (ENDL.) Manetti carrière seeds essential oil in function of their germination stages», *International Journal of Recent Advances in Multidisciplinary Research*, V.2, n°12, (December 2015), 993-998.
10. Uehara, A., Tommis, B., Belhassen, E., Satrani, B., Ghanmi, M. et Baldovini, N., «Odor-active constituents of *Cedrus atlantica* wood essential oil», *Phytochemistry*, V.144, (2017), 208-215.
11. Satrani, B., Aberchane, M., Farah, A., Chaouche, A. et Talbie, M., « Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites par hydrodistillation fractionnée du bois de *Cedrus atlantica* Manetti », *Acta Botanica Gallica: Botany Letters*, V.153, n°1, (2006), 97-104.
12. Paun, G., Zrira, S., Boutakiout, A., Ungureanu, O., Simion, D., Chelaru, C et Radu, G.L., « Chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of essential oils from marrocan aromatic herbs», *Revue Romaine de Chimie*, V.58, n°11-12, (2013), 891-897.
13. Rhafouri, R., Strani, B., Zair, T., Ghanmi, M., Aafi, A., El Omari, M. et Bentayeb, A., «Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the *Cedrus atlantica* (Endl.) Manettiex Carrière seeds essential oil», *Mediterranean Journal of Chemistry*, V.3, n°5, (2014),1027-1036.
14. Fadel, H., Benayache, F. et Benayache, S., «Antioxidant properties of four Algerian medicinal and aromatic plants *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus phoenicea* L., *Marrubium vulgare* L. and *Cedrus atlantica* (Manetti ex Endl)», *Der Pharmacia Lettre*, V.8, n°3, (2016), 72-79.

15. Ez Zoubi, Y., El-Akhal, F., Farah, A., Taghzouti, K. et El Ouali Lalami, A., « Chemical composition and larvicidal activity of Moroccan Atlas Cedar (*Cedrus atlantica* Manetti) against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae)» *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, V.7, n°7, (July, 2017), 30-34.
16. Martins, D.F., Emer, A.A., Batisti, A.P., Donatello, N., Carlesso, M.G., Mazzardo-Martins, L., Venzke, D., Micke, G. A., Pizzolatti, M.G., Piovezan, A.P. et Santos, A.R.S., «Inhalation of *Cedrus atlantica* essential oil alleviates pain behavior through activation of descending pain modulation pathways in a mouse model of postoperative pain», *Journal of Ethnopharmacology*, V.175, (2015), 30–38.
17. Emer, A.A., Donatello, N.N., Batisti, A.P., Belmonte, L.A.O., Santos, A.R.S. et Martins, D. F., « The role of the endocannabinoid system in the antihyperalgesic effect of *Cedrus atlantica* essential oil inhalation in a mouse model of postoperative pain», *Journal of Ethnopharmacology*, V.210, (2018), 477-484.
18. M'hirit, O. et Maghnouj, M. « Stratégie de conservation des ressources génétiques forestières au Maroc », in : *Les ressources phytogénétiques et développement durable. Actes Editions*, Rabat, Maroc, (1994), 123-138.
19. Achhal, A., Akabli O., Barbéro, M., Benabid, A., M'hirit, O., Peyre, C., Quézel, P. et Rivas-Martinez, S., « A propos de la valeur bioclimatique et dynamique de quelques essences forestières au Maroc », *Ecol. Med.*, V.5, (1980), 211-249.
20. Addar, A., Khedache, Z., Righi, H. et Dahmani-Megrerouche, M., «Suivi de la régénération naturelle du cèdre de l'atlas dans les premiers stades de développement dans quelques stations du massif forestier de Chréa (Atlas Blidéen, Algérie) », *Revue d'Ecologie (Terre et Vie)*, V. 71, n°4, (2016), 367-384.

21. Rameau, J.C., Mansion, D. et Dumé, G., « Flore forestière française: Région Méditerranéenne », Forêt privée française, (1989), 2426 p.
22. M'hirit, O. et Benzyane, M., « Le cèdre de l'Atlas: mémoire du temps », Editions Mardaga, (2006), 288 p.
23. Arbez, M., « Les ressources génétiques forestières en France: les conifères » (tome1), Editions Quae, (1987), 236 p.
24. Cappers, R.T.J., Neef, R. et Bekker, R.M., « Digital Atlas of Economic Plants », Barkhuis, (2009), 772 p.
25. Toth, J., « Le cèdre de France: étude approfondie de l'espèce », Éditions L'Harmattan, Paris, (2005), 208p.
26. De-Vilmorin, J.B., « Histoires d'arbres », Editions Jean-paul Gisserot, (2003), 185p.
27. White, F., « La Végétation de l'Afrique », IRD Editions, (1986), 384 p.
28. Toth, J. « Plus que centenaire et plein d'avenir : le cèdre en France », Rev. For. Fr., V.22, (1970), 355-364.
29. Boullard, B ., « Plantes et arbres remarquables des rues, squares et jardins de Rouen », Edition PTC, (2006), 160p.
30. M'hirit, O., « Le cèdre de l'Atlas à travers le réseau Silva Mediterranea "Cèdre" », Bilan et perspectives. For. Méd., V.20, (1999), 91-100.
31. Ezzahiri, M. et Belghazi, B., « Synthèse de quelques résultats sur la régénération naturelle du cèdre de l'Atlas au Moyen Atlas (Maroc) ». Science et changements planétaires / Sécheresse, V.11, (2000), 79-84.

32. Philipe, G., « Du méristème à la graine », In: J. Baudel (ed.). Reproduction sexuée des conifères et production des semences en verger à graines. Collection Synthèses, Cemagref, (2006).
33. Faurel, L., « Note sur la cédraie de l'Atlas de Blida (Algérie), ses sols et ses associations végétales », C.R. Cong. Pédol. Médit., (1947), 474-480.
34. Meddour, R., « La cédraie de l'Atlas Blidéen (Algérie): valeurs bioclimatique, syntaxonomique et dynamique ». Ann. Rech. For. Maroc, V.27, (1994),105-127.
35. Killian, C. et Martin, M. « Érosion, humification, respiration des sols dans le massif de Chréa ». Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nor., V.48, (1957), 6-15.
36. Bentouati, A. et Bariteau, M., « Réflexion sur le dépérissement du Cèdre de l'Atlas des Aurès (Algérie) », forêt méditerranéenne, V.XXVII, n°4, (2006), 317-322.
37. Martinetti, P., « Mon guide des Huiles essentielles », Fernand Lanore, (2013), 256 p.
38. El Azzouzi, K. et Keller, R., « Propriétés technologiques du bois de cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) », forêt méditerranéenne, V. XIX , n°1, (1998), 11-33.
39. Adams, R.P., « Cedar wood oil. In: Essential oils and waxes », Springer-Verlag, (1991), 159-173.
40. Neffati, M., Najjaa, H. et Máthé, Á., « Medicinal and aromatic plants of the world », Springer, (2017), 411 p.
41. Sofowora, A., « Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique », KARTHALA Editions, (2010), 378 p.

42. Volak, J., Stodola, J. et Severa F., « Plantes médicinales », Grund, Paris, (1987), 319p.
43. Valnet, J., « Phytothérapie: traitement des maladies par les plantes », Maloine. S.A, (1983), 942p.
44. Beloued, A., « Plantes médicinales d'Algérie », Office des publications universitaires, Alger, (2001), 277p.
45. Nogaret-Ehrhart, A.S., « La phytothérapie : se soigner par les plantes », Groupe Eyrolles, Paris, (2006), 191p.
46. Kartal, N., Sokmen. M., Tepe. B., Daferera. D., Polissiou. M. et Sokmen. A., «Investigation of the antioxidant properties of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. with suitable extraction procedure », Food Chemistry, V.100, (2007), 584-589.
47. Membres de la Commission Européenne de Pharmacopée, « Pharmacopée Européenne », 3^{ème} édition, Conseil de l'Europe, (1997).
48. Richter, G., « Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie », Presses polytechniques et universitaires, Romandes, (1993), 292p.
49. El Abed, D. et Kambouche, N., « Les huiles essentielles », Dar El Gharb, Oran, (2003), 91p.
50. Bruneton, J., « Eléments de phytochimie et de pharmacologie », Lavoisier Technique et Documentation, Paris, (1997), 608p.
51. Capo, M., Courilleau, V .et Valette, C., « Chimie des couleurs et des odeurs», Culture et techniques, (1990), 204p.
52. Buronzo, A., « Grand guide des huiles essentielles. Santé beauté bien-être», Hachette Pratique, (2008), 254p.

53. Hopkins, W.G., « Physiologie végétale », De Boeck Université, Bruxelles, (2003), 532 p.
54. Sarni-Manchado, P. et Cheynier, V., « Les polyphénols en agroalimentaire », Lavoisier, (2006), 398p.
55. Didry, N., Pinkas, M. et Torck, M., « Sur la composition chimique et l'activité antibactérienne des feuilles de divers espèces de *Grindelia* ». Pl. Med. Phytother, V. XVI, (1982), 7-15.
56. Ravn, H., Andary, C., Kovacs, G. et Molgaard, P., « Caffeic acid esters as in vitro inhibitors of plant pathogenic bacteria and fungi ». Biochem. Syst. Ecol, (1984), V.17, 175-184.
57. Hayase, F. et Kato, M., « Antioxidant compounds of sweet potatoes ». J. Nutri. Sci. Vitaminol. V.30, (1984), 37-46.
58. Mabry, T.J. et Ulubelen, A., « Chemistry and utilization of phenylpropanoids including flavonoids, coumarins and lignans ». J. Agric. Food Chem, V.28, (1980), 188-196.
59. Stavric, B. et Matula, T.I., « Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health », (1992), 274 - 294. In : Ong A.S.H et Packer L. « Lipid soluble and antioxidants: Biochemistry and clinical applications ». Basel, Birkhauser Verlag.
60. Das, H.C., Wang, J.H. et Lien, E.J., « Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoids : A structure-system-activity relationship (SSAR) analysis », (1994), 133 - 136. In: Jucker, E., « Progress in Drug Research », Basel, Birkhauser Verlag.
61. Bidet, D., Gagnault, J.C., Girard, P. et Trotin, F., « Inflammation, allergie, douleur et acide arachidonique: du jardin des Hespérides à la cascade de l'acide arachidonique : Les flavonoïdes ». L'actualité chimique, (1987), 89 - 97.

62. Bruneton, J., « Pharmacognosie et phytochimie des Plantes médicinales », Lavoisier, Paris, (2009), 1292p.
63. Aruoma, O.I., Spencer, J.P.E., Butler, J. et Halliwell, B., «Commentary reaction of plant-derived and synthetic antioxidants with trichloromethylperoxyl radicals», *Free Rad*, (1995), V. 22, 187 - 190.
64. Masquelier, J., Dumon, M.C. et Dumas, J., «Stabilisation des collagènes par des oligomères procyanidoliques », *Acta therapeutique*, V.1, (1979), 101 - 104.
65. Bahorun, T., Trotin, F., Pommery, J., Vasseur, J. et Pinkas, M., « Antioxidant activities of *Crataegus monogyna* extracts », *Planta Med*, V. 60, (1994), 323 - 328.
66. Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J.C. et Pinkas, M., « Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations », *Drug Research*, V.46, n°11, (1996), 1086 - 1089.
67. De Oliveira, M.M., Sampaio, M.R.P., Simon, F., Gibert, B. et Mors, WB., «Antitumor activity of condensed flavenols », *An. Acad. Brasil*, V. 44, (1972), 41 - 44.
68. Brownlee, H.E., Hedger, J. et Scott, I.M., « Effects of a range of procyanidins on the cocoa pathogen *Crinipallis perniciosa* », *Phys. Mol. Plant Pathol*, V.40, (1992), 227-232.
69. Kreofsky, T., Schlager, J.W., Vuk-Pavlovic, Z., Abraham, R.T. et Rohrbach, MS., « Condensed tannin promotes the release of arachidonic acid from rabbit resident alveolar macrophages ». *Am. J. Resir. Cell. Mol. Biol*, V.7, (1992), 172-181.

70. Okuda, T., Kimura, Y., Yoshida, T., Hatano, T., Okuda, H. et Arichi, S., «Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drugs», in: Inhibitory effects of lipid peroxidation in mitochondria and microsome of liver, Chem. Pharm. Bull, V.31, (1983), 1625-1631.
71. Okamura, H., Mimura, A., Yakou, Y., Niwano, M. et Takahara, Y., « Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata* », Phytochem, V.33, (1993), 557-561.
72. Macheix, J.J., Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C., « Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique », PPUR presses polytechniques, (2005), 192 p.
73. Verdrager, J., « Les plantes médicinales dans les traitements modernes », Maloine. S.A, (1978), 227p.
74. Martiné, M.C. et Seiller, M., « Actifs et additifs en cosmétologie », Technique et documentation, (1999), 632p.
75. Padrini, F. et Lucheroni, M.T., « Le grand livre des huiles essentielles », De Vecchi S.A , Paris, (2003), 206p.
76. Schauenberg, P. et Paris, F., « Guide des plantes médicinales », Delachaux & Niestlé, Paris, (2005), 396p.
77. Grunwald, J. et Janicke, C., « Guide de la phytothérapie », Marabout, (2006), 416p.
78. Thurzova, L., « Les plantes santé qui poussent autour de nous », Bordas, (1985), 268p.
79. Clark, A.M., « Natural products as source for new drugs », Pharmacol, V.13, (1996), 1996 p.

80. Kirby, G.C., « Medicinal plants and the control of protozoal disease , with particular reference to malaria ». Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, V. 90, (1996), 605-609.
81. Hostettmann, K. et Marston, A., « Twenty years of research into medicinal plants: Results and perspectives », Phytochem, V.1, (2002), 275-285.
82. Descheemaeker, K., « Nutri-et Phytotherapie: Developpements Recents », Edition Garant, (2003), 78p.
83. Cowan, M.M., « Plant products as antimicrobial agents », Clin. Microbiol, V. 12, (1999), 564-582.
84. Vigneau, C., « Plantes médicinales : Thérapeutique – Toxicité », Masson, Paris, (1985), 290p.
85. Burt, S.A., « Des huiles essentielles, leurs propriétés antibactériennes et applications dans les aliments», Journal internationale de Microbiologie des Aliments, V.94, (2004), 223-253.
86. Pong, K., «Oxidative stress in neurodegenerative diseases: therapeutic implications for superoxide dismutase mimetics», Expert Opin Biol Ther, V.3, (2003),127–139.
87. Sanchez-Moreno. C., « Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems », Food Science and Technology International, V. 8, n°3, (2002), 121-137.
88. Marc. Fr., Davin. A., Deglène-Benbrahim. L. et Ferrand C., « Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments », Médecine Sciences, (2004), V.20, n°4, 458-463.
89. Huang, D., Ou, B. et Prior, R. L., « The chemistry behind antioxidant capacity assays », Journal of Agricultural and Food Chemistry, V.53, (2005),1841-1856.

90. Popovici, C., Saykova, I. et Tylkowski, B., « Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH », Revue de génie industriel, V.4, (2009), 25-39.
91. Cano, N., Barnoud, D., Schneider, S. M., Vasson, M.P., Hasselmann, M. et Leverage. X., « Traité de nutrition artificielle de l'adulte », Springer Science & Business Media, (2006), 1189 p.
92. Causse, C., « Les secrets de santé des antioxydants », Alpen Editions s.a.m, (2005), 95 p.
93. Karp, G., Bouharmont, J. et Wissocq, J-C., « Biologie cellulaire et moléculaire», De Boeck Université, (2004), 850 p.
94. Edeas, M., « Les secrets de santé du thé », Alpen Editions s.a.m, (2005), 95 p.
95. Duclos, A., « Les aliments 100% santé », Dauphin, (2007), 158p.
96. Poirier, j., « L'indispensable pour vivre en santé », Merlin Éditeur, (2004), 242 p.
97. Kaloustian, J. et Hadji-Minaglou, F., « La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie: Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée », Springer Science & Business Media, (2013), 226 p.
98. Stevens, A., Lowe, J-S.et Young, B., « Anatomie pathologique: Atlas de Wheater», De Boeck Université, (2004), 304 p.
99. Prescott, L-M., Harley, J-P., Klein, D-A., Bacq-Calberg, C-M. et Dusart, J., «Microbiologie », De Boeck Université, (2003), 1164 p.
100. Cohen, Y. et Jacquot, C., « Pharmacologie », Elsevier Masson, (2008), 487 p.

101. Muster, D., « Thérapeutique médicale buccodentaire: moyens et méthodes », Elsevier Masson, (2004), 288 p.
102. Gaziano, J.M. et Gibson, C.M., «Potential for drug-drug interactions in patients taking analgesics for mild-to-moderate pain and low-dose aspirin for cardio-protection», Am J Cardiol, V.97, (2006), 23-29.
103. Khalil, N.M., Sperotto, S. et Manfron, M.P., «Anti-inflammatory activity and acute toxicity of Dodonaea viscosa», Fitoterapia, V.77, (2006), 478-480.
104. Paris. R. et Moyse. M., « Précis de matière médicale », Masson édit, Paris, (1965), 450p.
105. Martini, M.C., « Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie », Lavoisier, 3ème édition, Paris, (2011), 500 p.
106. Bensegueni, A., Belkhiri, A., Boulebda, N. et Keck G., « Evaluation de l'activité cicatrisante d'un onguent traditionnel de la région de Constantine sur les plaies d'excision chez le rat », Sciences & Technologie, V.26, (Décembre 2007), 83-87.
107. Aerts A., Nevelsteen D. et Renard F., « Soins de plaies », De Boeck Supérieur, 1^{re} édition, Bruxelles, (1997), 424 p.
108. Dezutter-Dambuyant, C., « Biologie de la peau humaine », Ed. Inserm, Paris, (2004), 528p.
109. Neub, A., Houdek, P., Ohnemus, U., Moll, I. et Brandner, J. M., «Biphasic regulation of AP-1 subunits during human epidermal wound healing,» Journal of Investigative Dermatology, V.127, n°10, (2007), 2453–2462.
110. Stadelmann, W.K., Digenis, A.G. et Tobin, G.R., «Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds», Am. J. Surg, V.176, (1998), 26-38.

111. Al-Waili, N.S., Salom, K. et Al-Ghamdi, A.A., «Honey for wound healing, ulcers, and burns; data supporting its use in clinical practice,» *The Scientific World Journal*, V.11, (2011), 766–787.
112. Nayak, B.S. et Pinto Pereira, L.M., «*Catharanthus roseus* flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats,» *BMC Complementary and Alternative Medicine*, V. 41, n°6, (2006), 1-6.
113. Rawat, S. et Gupta, A., «Development and study of wound healing activity of an ayurvedic formulation» *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, V.1, n°1, (2011), 26–28.
114. Rennert, R.C., Rodrigues, M., Wong, V.W., Duscher, D., Hu, M., Maan, Z., Sorkin, M., Gurtner, G.C. et Longaker, M.T., «Biological therapies for the treatment of cutaneous wounds: Phase III and launched therapies», *Expert opin. Biol. Ther.*, V.13, (2013), 1523–1541.
115. Soni, H. et Singhai, A.K., «A recent update of botanicals for wound healing activity». *International Research Journal of Pharmacy*, V.3, n°7, (2012), 1-7.
116. Fleischner, A.M., «Plant extracts: To accelerate healing and inflammation», *Cosmet Toilet*, V.100, (1985), 45-58.
117. Getie, M., Mariam, G. T., Reitz, R. et Neubert, R.H., «Evaluation of the release profiles of flavonoids from topical formulations of the crude extract of the leaves of *Dodonea viscosa* (Sapindaceae)», *Pharmazie*, V.57, (2002), 320-322.
118. Tsuchiya, H., Sato, M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohyama, M., Tanaka, T. et Inuma, M., «Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*», *J.Ethnopharmacol*, V.50, (1996), 27-34.

119. Divakar, M.C., Devi, L.S., Kumar, S. et Rao, S.B., «Studies on wound healing property of Polyscias scutellaria leaf saponins», Indian J Nat Prod, V.17, (2000), 37- 42.
120. Martoja, R., « Initiation aux techniques d'histologie animale », Elsevier Masson, (1967), 345p.
121. Bensalem-Bendjelloul, M., « Techniques histologiques: Théorie et pratique », Office des publications universitaires, (1998), 109p.
122. Zerrad, W., Hillali, S., Mataoui, B., S. EL Antri, S. et Hmyene A., « Etude comparative des mécanismes biochimiques et moléculaires de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur », (2006), Congrès International de Biochimie, Agadir, 371-376.
123. Association française de normalisation, « Recueil de normes : les huiles essentielles, Echantillonnage et méthodes d'analyse », Tome 1, AFNOR, Paris, (2000), 471 p.
124. Membres de la Commission Européenne de Pharmacopée, « Pharmacopée européenne », 6^{ème} édition, Conseil de l'Europe, France, (2008), 3538 p.
125. Le hir, A. et Cohen Y., « *Pharmacie galénique: bonnes pratiques de fabrication des médicaments* », Elsevier Masson, Paris, (2001), 86-110.
126. Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K. et Kujala, T.S., « Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds », Journal of Agricultural and Food Chemistry, V.47, (1999), 3954-3962.
127. Mohd-Esa, N., Hern, F.S., Ismail, A. et Yee, C.L., « Antioxidant activity in different parts of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts and potential exploitation of the seeds », Food Chemistry, V.122, (2010), 1055-1060.

128. Kumaran, A. et Karunakaran, J., « In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India », LWT, V.40, (2006), 344-352.
129. Abdel-Hameed, E.S.S., « Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples », Food Chemistry, V.114, (2009), 1271-1277.
130. Rizk, A.M., Hammouda, F.M. et Ismail, S.I., « Phytochemical investigation of *Thymelaea hirsuta*. II. Lipid fraction », Plant Med., V.26, n°4, (1974), 346-358.
131. Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Idrissi Hassani, L.M., Badoc, A. et Gmira, N., « Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaea lythroides* », Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, V.142, (2003), 61-78.
132. Broadhurst, R.B. et Jones, W.T., « Analysis of condensed tannins using acidified vanillin », J. Sci. Food Agric., V.29, (1978), 788-797.
133. Pierce, G.F. et Mustoe, T.A., « Pharmacologic enhancement of wound healing », Annu Rev Med, V.46, (1995), 467-481.
134. Formulaire Thérapeutique Magistral des pharmaciens, 2^{ème} édition, Belgique, (2010).
135. Rowe, C.R., Sheskey, J.P. et Quinn, E.M., « Handbook of Pharmaceutical Excipients », Ed. Pharmaceutical Press, 6th Edition, (2009), 888 p.
136. Allo, O., Blanc, P. et Dalmaso, M.A., « Pharmacie galénique B.P. », Groupe Liaison SA, France, (2005), 130 p.
137. Ouattara M.D., « Evaluation de l'effet répulsif de l'huile de *Lippia Multiflora* (Verbénacées) vis-à-vis des moustiques, Essai de formulation d'une émulsion répulsive présentée en lotion et en aérosol », Thèse. Fac. Pharm. Abidjan, (2001), 171 p.

138. Membres de la Commission Européenne de Pharmacopée, « Pharmacopée européenne », 7^{ème} édition, Strasbourg, (2012).
139. Arnao, M.B., Cano, A. et Acosta, M., « Methods to measure the antioxidant activity in plant material. A comparative discussion», *Free Radical Res*, V.31, (1999), 89-96.
140. Mc Donald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M. et Robards, K., «Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts », *Food Chemistry*, V° 73, (2001), 73-84.
141. Brand-William, W., Cuvelier, M.E. et Berset, C., « Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity», *Lebensm-Wiss U-Techno*, V.28, (1995), 25-30.
142. Cotelle, N., Bernier, J.-L., Catteau, J.-P., Pommery, J., Wallet, J.-C. et Gaydou, E.M., « Antioxidant properties of hydroxy-flavones», *Free Radical Biology and Medicine*, V. 20, n°1, (1996), 35-43.
143. Hsiao, G., Ko, F.-N., Lin, C.-N. et Teng, C.-M., « Antioxidant properties of isotorachryson isolated from *Rhamnus nakaharai* », *Protein Structure and Molecular Enzymology, Biochimica et Biophysica Acta*, V.1298, n°1, (Novembre 1996), 119-130.
144. Avlessi, F., Dangou, J., Wotto, V.D, Alitonou, G. A., Sohounhloue, D.K. et Menut, C., « Propriétés antioxydantes de l'huile essentielle des feuilles de *Clausena anisata* (Wild) Hook », *Comptes Rendus Chimie*, V.7, (2004), 1057-1061.
145. Hanato, T., Kagawa, H., Yasuhara, T. et Okuda, T., « Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effect », *Chemistry and Pharmacology Bulletin*, V.36, (1988), 1090–1097.

146. Yildirims, A., Mavi, A. et Kara, A.A., « Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts», J Agric Food Chem, V. 49, n° 8, (Aout 2001), 4083-4089.
147. Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H. et Marzouk, B., «Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots », Comptes Rendus Biologies, V. 331, (2008), 48–55.
148. Rios, J.L., Recio M.C. et Villar, A., « Screening methods for natural products with antimicrobial activity », Journal of Ethnopharmacology, V. 23, (1988), 127-149.
149. Freney, J., Renaud, F., Hansen, W. et Bollet, C., « Précis de bactériologie clinique », ESKA, Paris, (2002), 565p.
150. Najjaa , H., Neffati , M., Zouari ,S. et Ammar, E., « Essential oil composition and antibacterial activity of different extracts of *Allium roseum* L., a North African endemic species », Comptes Rendus Chimie, V.10, (2007), 820-826.
151. Journal Officiel Français (JORF), « Test d'irritation primaire cutanée », (21 Février 1982).
152. Arvouet-Grand, A., Lejeune, B., Bastide, P., Pourrat, A., Privat A.M. et Legret P., « Extrait de propolis: II. Étude de la cicatrisation de plaies chez le lapin et chez le rat », Journal de Pharmacie de Belgique, V.48, (1993), 171–178.
153. Backnouse, N., Rosales, L., Apablaza, C., Goity, L., Erazo, S., Negrete, R.C., Rodriguez, J.T., Delporte, C., « Analgesic, anti-inflammatory and antioxidant properties of *Buddleja Globosa*, Buddlejaceae», Journal of ethnopharmacology, V.116, n°2, (March 2008), 263-269.
154. Boussafsaf, B., « Activité cicatrisante sur les brulures de 3^{ème} degré », journal Algérien de médecine, V. 3, (1993),103-114.

155. Catala, M., Andre, J-M., Escudier, E. et Poirier, J., « Histologie des tissus », faculté de médecine Pierre et Marie Curie, France, (2008), 119p.
156. Patil, K., Kandhare, A. et Sucheta, B., «Pharmacological evaluation of ethanolic extract of *Daucus carotta* linn root formulated cream on wound healing using excision and incision wound model», Asian Pacific Journal of tropical biomédecine, India, V.2, n° 2, (2012), 646-655.
157. Kubeczka, K.H. et Schultze, W., «Biology and Chemistry of Conifer Oils», Flavour and Fragrance Journal, V.2, (1987), 137-148.
158. Imelouane, B., Amhamdi, H., Wathelet, J.P., Ankit, M., Khedid, K. et El Bachiri, A., «Chemical composition of the essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco», *Int. J. Agric. Biol.*, V.11, (2009), 205–208.
159. Edward, P., Claus Varro, E.T. et Lynn, R.B., « Pharmacognosy », Febiger, L.E.A., 6^{ème} édition, V.18, (1987), 184–187.
160. Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhssine, M. et Chaouch, A., «Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc», *African Sci.*, V.3, (2007), 232–242.
161. Derwich, E., Benziane, Z. et Boukir, A., «Chemical composition of leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* and evaluation of its antibacterial activity (Morocco)», *Int. J. Agric. Biol.*, V.12, (2010), 199–204.
162. Aberchane, A., et Fechtal, M., « Analysis of Moroccan Atlas Cedarwood Oil (*Cedrus atlantica* Manetti)», *Journal of Essential Oil Research*, V.16, (November/December 2004), 542-547.
163. Derwich, E., Benziane, Z. et Boukir, A., «Chemical composition and In vitro antibacterial activity of the essential oil of *Cedrus atlantica* », *International Journal Of Agriculture & Biology*, V.12, (2010), 381–385.

164. Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Fougrach, H., Bourkhiss, B., Bousta, D. et Talbi, M., « Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus* », Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, V.146, (2007), 85-96.
165. Plagemann, I., Krings, U., Berger, R.G. et Marostica, M.R., «Volatile constituents of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg) fruits», The Journal of Essential Oil Research, V. 24, n°1, (February 2012), 45–51.
166. Sawamura, M., Onishi, Y., Ikemoto, J., Thi Minh Tu, N. et Thi Lan Phi, N., «Characteristic odour components of bergamot (*Citrus bergamia* Risso) essential oil», Flavour And Fragrance Journal, V.21, (2006), 609-615.
167. Costa, R., Zellner, B.A., Crupi, M.L., De Fina, M.R., Valentino, M.R., Dugo, P., Dugo, G., et Mondello, L., «GC–MS, GC–O and enantio–GC investigation of the essential oil of *Tarhomonanthus camphoratus* L.», Flavour Fragr. J., V.23, (2008), 40–48.
168. Goodner, K.L., Mahattanatawee, K., Plotto, A., Sotomayor, J.A. et Jordan M.J., «Aromatic profiles of *Thymus hyemalis* and Spanish *T. vulgaris* essential oils by GC–MS/GC–O», Industrial Crops and Products, V.24, (2006), 264–268.
169. Zrira, S. et Ghanmi, M., « Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential of *Cedrus atlantica* (Cedarwood oil)», Journal of Essential Oil Bearing Plants ,V.19, n°5, (2016),1267–1272.
170. Aiache, J-M., Beyssac, E., Cardot, J-M., Hoffart, V. et Renoux, R., « Initiation à la connaissance du médicament », Elsevier Masson, (2008), 413p.
171. Laing, D.G et Jinks, A.L., «Psychophysical analysis of complex odor mixtures», Chimia, V.55, (2001), 413–420.

172. Barkat, S. Le Berre E., Coureaud G., Sicard G. et Thomas-Danguin T. «Perceptual blending in odor mixtures depends on the nature of odorants and human olfactory expertise», *Chem. Senses*, V.37, (2012),159–166.
173. Balz, R., Dandrieux B. et Lartaud P., « The Healing Power of Essential Oils: Fragrance Secrets for Everyday Use », Ed. Lotus Press, USA, (1999), 203 p.
174. Boukhobza, F. et Goetz, P., « Phytothérapie en odontologie », Initiatives Santé, (2014), 226 p.
175. Chalchat, J.C., Gary, R.P. et Michet, A., «Essential Oil Components in Sawdust of *Cedrus atlantica* from Morocco», *J. Essent. Oil Res.*, V.6, (May/Jun 1994), 323-325.
176. Hilan, C., Sfeir, R., Jawish, D. et Aitour S., «Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae», *Lebanese Science Journal*, V.7, n° 2, (2006), 13-22.
177. AFNOR (Association Française de Normalisation)., « Norme française NF ISO 3063: Huile essentielle d'ylang-ylang *Cananga odorata* (Lamarck) », J.D. Hooker et Thomson, Paris, (2005).
178. Can Baser, K. H. et Buchbauer, G., «Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications», CRC Press, (2010), 991 p.
179. Kanko, C., Sawaliho, B., Kone, S., Koukoua, G. et N'guessan Y., « Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus* ». *Comptes rendus Chimie*, V.7, (2004), 1039–1042.
180. Othmer. K., « Kirk-Othmer Chemical Technology of Cosmetics », Ed. John Wiley & Sons, New Jersey, (2012), 832 p.

181. Maria de Loureiro da Silva Tavares da Rosa, R., «Process for the manufacture of spiroketals», States Patent US 5, 440, 050, (1995).
182. Kwang-Pil, C., McLean, M., Buckley, J. et Dewis, M., «Process for the manufacture of spiroketals», United States Patent US 7, 294,492 B2, (2007).
183. Bibigul, T. U. et Lise-Lotte, G., « Synthèse du (+)-agelasine D à partir de (+)-manool », *Tetrahedron Lett*, V.45, (2004), 4233-4235.
184. Dahoun, A., Derriche, R. et Belabbes, R., « Influence du mode d'extraction et de la composition de l'huile essentielle et de la concrète du bois de cèdre de l'Atlas Algérien », *Rivista Italiana EPPOS*, V.10, (1993), 29-32.
185. Lahlou, M., « Composition and molluscicidal properties of essential oils of five Moroccan Pinaceae », *Pharmaceutical biology*, V.41, (2003), 207-210.
186. Senatore, F., « Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy) », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V.44, (1996), 1327-1332.
187. Kokkini, S., Karousou, R., Dardioti, A., Krigas, N. et Lanaras, T., « Autumn essential oils of Greek oregano », *Phytochemistry*, V.44, n°5, (1997), 883-886.
188. Russo, M., Galletti, G.C., Bocchini, P. et Carnacini, A., « Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link)): a preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V.46, (1998), 3741-3746.

189. Thompson, J.D., Chalchat, J.C., Michet, A., Linhart, Y.B. et Ehleret, B., « Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotype », *Journal of Chemistry and Ecology*, V.29, n°4, (2003), 859-880.
190. Karousou, R., Koureas, D.N. et Kokkini, S., « Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete », *Photochemistry*, (2005), V. 66, 2668-2673.
191. Rapisarda, P., Tomaino, A., Lo Cascio, R., Bonina, F., De Pasquale, A. et Saija, A., « Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices », *Food Chem*, (1999), V. 47, 4718–4723.
192. Fratianni, F., Tucci, M., De Palma, M., Pepe, R. et Nazzaro, F., « Polyphenolic composition in different parts of some cultivars of globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori) », *Food Chem*, V. 104, (2007), 1282–1286.
193. Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A. et Fernandez-Gutierrez, A., « Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees », *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, V.41, (2006), 1220-1234.
194. Scalbert, A., Monties, B. et Janin, G., « Tannins in Wood: Comparison of Different Estimation Methods », *J. Agric. Food Chem.*, V.37, n°5, (1989), 1324-1329.
195. Mercier, J.P. et Maréchal, E., « Chimie des polymères: synthèses, réactions, dégradations », PPUR presses polytechniques, (1993), 448 p.
196. Frimat, P. « Moyens de nettoyage cutané en milieu industriel. Progrès en dermato-allergologie Lille 2004 », John Libbey Eurotext, (2004), 201-216.

197. Roux D., Chamount J.P., Cleur C., Millet J., Morel M., Tallec D., « Conseil en aromathérapie », Ed. Wolters Kluwer, France, (2008), 187 p.
198. Chang, S. T., Wu, J. H., Wang, S. Y., Kang, P. L., Yang, N. S., et Shyur, L. F., «Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood », *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, V.49, n° 7, (2001), 3420–3424.
199. Ismail, H. I., Chan, K. W., Mariod, A. A. et Ismail, M., « Phenolic content and antioxidant activity of cantaloupe (*Cucumis melo*) methanolic extracts », *Food Chemistry*, (2010), V. 119, 643–647.
200. Molyneux, P., « The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) of estimating antioxidant activity », *Journal of science technology*, V.26, n°2, (2004), 211-219.
201. Agrawal, P.K. et Rastogi, R.P., «Chemistry of the True Cedars», *Biochemical Systematics and Ecology*, V.12, n° 2, (1984), 133-144.
202. Tournaire, C., Hocquaux, M., Beck, I., Oliveros, E. et Maurette, M.T., « Activité anti-oxydante de flavonoïdes, Réactivité avec le superoxyde de potassium en phase hétérogène », *Tetrahedron*, V.50, n°31, (1994), 9303-9314.
203. Naimi, F., Bousta, D., Balouiri, M. et EL Meskaoui. A., «Antioxidant and free radical-scavenging properties of seeds flavonoids extract of *Cedrus atlantica* Manetti, *Linum usitatissimum* L. and *Ocimum basilicum* L. species». *J App Pharm Sci*, V.5, n°8, (2015), 95-99.
204. Carovic´-Stanko, K., Orlic, S., Politeo, O., Strikic, F., Kolak, I., Milos, M. et Satovic, Z., « Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum* taxa », *Food Chemistry*, V. 119, (2010), 196–201
205. Davidson, P.,« Antimicrobials in foods », Marcel Dekker, New York, (1993), 647p.

206. Saad, N.Y., Muller, C.D. et Lobstein, A., « Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components », *Flavour and Fragrance Journal*, V.28, (2013), 269–279.
207. Cosentino, S., Tuberoso, C. I. G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E. et Palmas, F., « In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils », *Lett Appl Microbiol*, V.29, n° 2, (1999), 130-135.
208. Cristiani, M., D'arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M.G. et Micieli D., « Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V.55, (2007), 6300-6308.
209. Kerharo, J. et Adam, J.G., « La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques », Vigot frères, Paris, (1974), 1007 p.
210. N'guessan, K., Kouassi, K. E. et Zirihi, G. N., « Etudes botaniques et phytochimique de *Petersianthus macrocarpus* (Barringtoniaceae), une plante utilisée en médecine traditionnelle, dans la lutte contre le choléra », *Pharm. MM Trad. Afr*, (2006), V. XIV, 97-116.
211. Maya, B.M., Abedinib, A., Gangloff, S.C., Kabouche, A., Kabouche, Z. et Voutquenne-Nazabadioko, L., « A new δ -tocotrienolic acid derivative and other constituents from the cones of *Cedrus atlantica* and their in vitro antimicrobial activity », *Phytochemistry Letters*, V. 20, (2017), 252–258.
212. Opdyke, D.L.J., « Monographs on fragrance raw materials », Pergamon, (1979), 750 p.
213. Bardeau F., « Les huiles essentielles, découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale », Ed. Lanore F., Paris, (2009), 315 p.

214. Özmen, İ., Çalışkan, E., Arca, E., Açikgöz, G. et Koç, E., «Efficacy of aromatherapy in the treatment of localized alopecia areata: A double-blind placebo controlled study», *Gülhane Tıp Derg*, V.57, (2015), 233 – 236.
215. Oliveira, R.B., Chagas-Paula, D.A., Secatto, A., Gasparoto, T.H., Faccioli, L.H., Campanelli, A.P. et Da Costa, F.B., «Topical anti-inflammatory activity of yacon leaf extracts», *Rev Bras Farmacogn*, V.23, (2013), 497–505.
216. Lee, H.J, Jeong, H.S, Kim, D.J., Noh, Y.H., Yuk, D.Y. et Hong J.T., «Inhibitory effect of citral on NO production by suppression of iNOS expression and NF-kappa B activation in RAW264.7 cells», *Arch Pharm Res*, V.31, n°3, (2008), 342-349.
217. Katsukawa, M., Nakata, R., Takizawa, Y., Hori, K., Takahashi, S. et Inoue, H., «Citral, a component of lemon-grass oil, activates PPAR and suppresses COX-2 expression». *Biochim Biophys Acta*, V.1801, n°11, (2010), 1214-1220.
218. Bachiega, T.F. et Sforcin, J.M., «Lemon-grass and citral effect on cytokines production by murine macrophages », *J Ethnopharmacol*, V.137, n°1, (2011) 909-913.
219. Stanley, P.L., Steiner, S., Havens, M. et Tramposch, K.M., «Mouse Skin inflammation induced by multiple topical applications of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate», *Skin Pharmacology*, V.4, (1991), 262–271.
220. Gulati, B.C., «Cultivation and utilization of aromatic plants», In: Atal CK, Kapur BM, editors. *Regional Research Laboratory, Jammu-Tawi, India*, (1977), 640-652.
221. Shinde, U.A., Phadke, A.S., Nair, A.M., Mungantiwar, A.A., Dikshit, V.J. et Saraf M.N. «Membrane stabilizing activity: a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil», *Fitoterapia*, V.70, (1999a), 251-257.

222. Shinde, U.A., Phadke, A.S., Nair, A.M., Mungantiwar, A.A., Dikshit, V.J. et Saraf M.N. «Studies on the anti-inflammatory and analgesic activity of *Cedrus deodara* (Roxb.) Loud. wood oil», *Journal of Ethnopharmacology*, V.65, (1999b), 21–27.
223. Phadke, K., «In vivo and in vitro models for arthritis», *Indian Drugs*, V.25, n°9, (1988), 354 – 365.
224. Tumen, I., Akkol, E.K., Süntar, I. et Keles, H., «Wound repair and anti-inflammatory potential of essential oils from cones of Pinaceae: Preclinical experimental research in animal models», *Journal of Ethnopharmacology*, V.137, (2011), 1215–1220.
225. Whittle, B.A., «The use of changes in capillary permeability in mice distinguish between narcotic and non-narcotic analgesics», *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*, V.22, (1964), 246–253.
226. Barreto, R.S.S., Albuquerque-Júnior, R.L.C., Araújo, A.A.S., Almeida, J.R.G.S., Santos, M.R.V., Barreto, A.S., De Santana, J., Siqueira-Lima, J., Quintans, J. et Quintans-Júnior, L.J., «A systematic review of the wound-healing effects of monoterpenes and iridoid derivatives», *Molecules*, V.19, n°1, (2014), 846–862.
227. Edwards, R. et Harding, K.G., «Bacteria and wound healing», *Curr Opin Infect Dis*, V.17, (2004), 91-96.
228. Guo, S. et Di Pietro, L.A., «Factors Affecting Wound Healing», *J. Dent. Res.*, V.89, n°3, (2010), 219-229.
229. Pérez-Recaldea, M., Ruiz Ariasa, I.E. et Hermida, E.B., « Could essential oils enhance biopolymers performance for wound healing? », *Phytomedicine*, V.38, (2018), 57–65.
230. Jarić, S., Kostić, O., Mataruga, Z., Pavlović, D., Pavlović, M., Mitrović, M. et Pavlović, P., «Traditional wound-healing plants used in the Balkan region

- (Southeast Europe)»Journal of Ethnopharmacology, V.211, (2018), 311-328.
231. Ghrab Ben Djemaa, F., Bellassoued, K., Zouari, S., El Feki, A. et Ammar, E., « Antioxidant and wound healing activity of *Lavandula aspic* L. ointment», Journal of Tissue Viability, V.25, n° 4, (November 2016),193-200.
232. Sugumar, S., Ghosh, V., Nirmala, M., Mukherjee, A. et Chandrasekaranar, N., « Ultrasonic emulsification of eucalyptus oil nanoemulsion: antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and wound healing activity in Wistar rats», Ultrason.Chem, V.21, (2014), 1044–1049.
233. Süntar, I., Tumen, I., Ustun, O., Keles, H. et Kupeli Akkol, E.,. «Appraisal on the wound healing and anti-inflammatory activities of the essential oils obtained from the cones and needles of *Pinus* species by in vivo and in vitro experimental models», J.Ethnopharmacol, V.139, (2012), 533–540.
234. Süntar, I., Kuppeli Akkol, E., Keles, H., Oktem, O., Can Baser, K.et Yesilada, E., «A novel wound healing ointment: A formulation of *Hypericum perforatum* oil and sage and oregano essential oils based on traditional Turkish knowledge», J. Ethnopharmacol, V.134, (2011), 89–96.
235. Abu-al-basal, M.A., «Healing potential of *Rosmarinus officinalis* L. on fullthickness excision cutaneous wounds in alloxan-induced-diabetic BALB/c mice», J Ethnopharmacol, V.131, n°2, (2010), 443–450.
236. Adorjan, B. et Buchbauer, G., « Biological properties of essential oils: an updated review », Flavour Fragr. J., V.25, (2010), 407–426.
237. Pierce, G.F. «Inflammation in non healing diabetic wounds: The space-time continuum does matter». Am. J. Pathol, V.159, (2001), 399-403.
238. Mascolo, N., Autore, G., «Biological screening of Italian medicinal plants for anti-inflammatory activity», Phytotherapy Res, V.1, (1987), 28-31.

239. Loggia, D.R. et Tubaro, A., «The role of triterpenoids in the topical anti-inflammatory activity of *Calendula officinalis* flowers», *Planta Med*, V.60, (1994), 516-520.
240. Akihisa, T., Yasukawa, K. et Oinuma, H., «Triterpene alcohols from the flowers of compositae and their anti-inflammatory effects», *Phytochemistry*, V.43, (1996), 1255-1260.
241. Saha, K., Mukherjee, P.K., Das, J., Pal, M. et Saha, B.P., « Wound healing activity of *Leucas lavandulaefolia* Rees». *Journal Ethnopharmacology*, V.56, (1997), 139–144.
242. Kondo, T., «Timing of skin wounds», *Legal Medicine*, V.9, (2007), 109–114.
243. Sanon, S., Hart, D.A., Tredget, E.E., «Molecular and cellular biology of wound healing and skin regeneration». in : «Skin Tissue Engineering and Regenerative Medicine», Academic Press, (2016), 19–47.
244. Mandelbaum, S.H., Di Santis, E.P. et Mandelbaum, M.H.S.A., « Cicatrization: current concepts and auxiliary resources », *An. Bras. Dermatol*, V.72, (2003), 393–410.
245. Ismaili, R., Lamiri, A. et Moustaid, K., «Etude de l'activité anti-eczémateuse des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, *Citrus limonum* et *Mentha spicata* du Maroc », *International Journal of Innovation and Applied Studies*, V.14, n°1, (Janvier 2016), 113-120.
246. Scortichini, M. et Rossi, M.P., « Preliminary in vitro evaluation of the antimicrobial activity of terpenes and terpenoids towards *Erwinia amylovora* (Burrill) ». *J. Appl. Bacteriol.* V.71, (1991), 109-112.
247. Tümen, İ., Akkol, E. K., Taştan, H., Süntar, I. et Kurtca, M., «Research on the antioxidant, wound healing, and anti-inflammatory activities and the phytochemical composition of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait)», *Journal of Ethnopharmacology*, (January 2018), 235-246.

248. Berger, M.M., et Que, Y.A., « Traitement nutritionnel du grand brûlé (Nutritional therapy in major burns), *Réanimation*, V.18, n° 8, (2009), 694-701.
249. Wolfe, R.R., «Regulation of skeletal muscle protein metabolism in catabolic states», *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, V.8, (2005), 61-65.
250. Glesinger, R., Cohen, A.D., Bogdanov-Berezovsky, A., Krieger, Y. et Rosenberg, L.A., «Randomized controlled trial of silver sulfadiazine, biafine, and saline-soaked gauze in the treatment of superficial partial-thickness burn wounds in pigs», *Acad. Emerg. Med*, V.11, n°4, (2004), 339-342.
251. Lüllmann-Rauch. R., «Histologie», De Boeck Supérieur, (2008), 704 p.
252. Bahramsoltani, R., Farzaei, M.H. et Rahimi, R., «Medicinal plants and their natural components as future drugs for the treatment of burn wounds: an integrative review». *Arch Dermatol Res.*, V.306, n°7, (2014), 601-617.
253. Dias, A.M.A., Braga, M.E.M., Seabra, I.J., Ferreira, P., Gil, M.H. et Sousa, H.C., «Development of natural-based wound dressings impregnated with bioactive compounds and using supercritical carbon dioxide», *Int. J. Pharm*, V.408, (2011), 9–19.
254. Vyas K.S. et H.C. Vasconez., «Wound Healing: Biologics, Skin Substitutes, Biomembranes and Scaffolds», *Healthcare*, V.2, (2014), 356-400.
255. Dursun, N., Liman, N., Ozyazgan, I., Gunes, I. et Saraymen, R., «Role of *Thymus* oil in burn wound healing». *J Burn Care Rehabil*, V.24, n°6, (2003), 395–399.
256. Jopke., K, Sanders, H. et White-Traut, R., «Use of Essential Oils Following Traumatic Burn Injury: A Case Study», *Journal of Pediatric Nursing*, V.34, (2017), 72-77.