



FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE PHYSIOLOGIE ANIMALE ET DE PHARMACOLOGIE

LABORATOIRE DE PHARMACOLOGIE GÉNÉRALE,
DE PHARMACOCINÉTIQUE ET DE COSMÉTOLOGIE

LPGPC

**MÉMOIRE POUR L'OBTENTION DU
DIPLÔME D'ÉTUDES APPROFONDIES (D.E.A)
Option : PHARMACOLOGIE**

Etude de l'activité cicatrisante de l'extrait MJ01 chez le rat

Présenté publiquement le 29 Avril 2015

Par : MIASA Julephin

Maitre-ès-Sciences

Devant les membres du jury composés de :

Président : M^r RANDIMBIVOLOLONA Fanantenanirainy

Rapporteur : M^{me} RANDRIANAVONY Patricia

Examineur : M^r RAKOTOARISON Olivier

Professeur Titulaire

Maitres de Conférences

Maitres de Conférences

Nom : MIASA

Prénom : Julephin

Adresse : Lot VS 52 GAA Avaratr'Ankatso

Tél: +26132 65 736 09

Adresse électronique : miasajulephin@gmail.com



Etude de l'activité cicatrisante de l'extrait MJ01 chez le rat

Promotion : 2013 - 2014

Option : Pharmacologie

Rapporteur : Dr RANDRIANAVONY Patricia

Laboratoire : Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie

Département de Physiologie Animale et de Pharmacologie

B.P. : 8357

E-mail : frandimbi@gmail.com

Faculté des Sciences

Université d'Antananarivo

REMERCIEMENTS

Au terme de la réalisation de ce mémoire de DEA, je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à:

❖ Monsieur le Professeur **RANDIMBIVOLOLONA Fanantenainirainy**,

Je vous remercie très sincèrement de m'avoir accueilli au sein de votre laboratoire et d'avoir accepté la lourde tâche de présider le jury de ce mémoire. Que ce manuscrit soit pour moi l'occasion de vous exprimer mon respect, ma reconnaissance et ma gratitude

❖ Madame le Docteur **RANDRIANAVONY Patricia**,

Je vous adresse mes remerciements les plus respectueux pour l'honneur que vous me faites d'avoir accepté d'être mon encadreur. Merci d'avoir cru en mes compétences à mener à bien ce travail de recherche et surtout pour la confiance que vous m'avez accordé au cours de mon D.E.A. Je ne vous remercierais jamais assez pour votre gentillesse, votre disponibilité et pour les connaissances que vous avez généreusement partagées.

❖ Monsieur le Docteur **RAKOTOARISON Olivier**,

Je vous adresse mes remerciements les plus respectueux pour votre contribution à ma formation depuis le 2nd cycle et pour m'avoir fait l'honneur de siéger parmi le jury de ce travail. Veuillez trouver, ici, le témoignage de mon profond respect.

❖ Toute l'équipe du LPGPC, plus particulièrement la ***promotion Santatra***,

Merci pour votre aide, vos conseils, votre amitié et votre sympathie.

❖ A ma famille qui m'a toujours soutenu dans mes choix, et qui a été présente chaque fois que cela a été nécessaire. C'est avec vous que j'ai partagé mes joies, mes peines, vous m'avez soutenu à votre sourire, à votre amitié.

❖ A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Je vous en suis très reconnaissant.

Table des matières

TABLE DES MATIERES.....	i
LISTE DES TABLEAUX	ii
LISTE DES FIGURES	iii
LES SIGLES ET LES ABREVIATIONS	iv
I. INTRODUCTION	1
II. MATERIELS ET METHODES	3
A. PARTIE CHIMIQUE.....	3
1. Matériels végétaux	3
2. Criblage phytochimique	4
B. PARTIES BIOLOGIQUES.....	6
1. Préparation et formulation de la crème.....	6
2. Evaluation de l'activité cicatrisante de MJ01.....	7
a. Effet de l'extrait MJ01 sur la vitesse de cicatrisation.....	8
b. Effet de l'extrait MJ01 sur la phase inflammatoire.....	9
c. Effet de l'extrait sur la phase de bourgeonnement.....	9
d. Effet de l'extrait MJ01 sur la fermeture de la plaie.....	9
3. Expression et analyses des données.....	9
III. RESULTATS.....	10
A. PARTIE CHIMIQUE.....	10
1. Rendement de l'extraction.....	10
2. Criblage phytochimique.....	10
B. PARTIE BIOLOGIQUE.....	11
1. Vitesse de la cicatrisation de la plaie.....	11
2. Effet de l'extrait MJ01 sur la phase la inflammatoire.....	12
3. Effet de l'extrait MJ01 sur la phase de bourgeonnement.....	13
4. Fermeture de la plaie.....	14
IV. DISCUSSION.....	15
V. CONCLUSION.....	17
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	18

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Tests utilisés pour mettre en évidence les familles chimiques présentes dans l'extrait MJ01.....	5
Tableau II : Composition de la crème de base.....	6
Tableau III : Les familles chimiques présentes dans l'extrait MJ01 et leur teneur relative.....	10

LISTE DES FIGURES

<i>Figure1. Schéma montrant les différentes étapes de la préparation de l'extrait MJ01.....</i>	<i>3</i>
<i>Figure2. Plaies expérimentales circulaires symétriques de 1cm de diamètre créées de part et d'autre de la ligne médiane de la colonne vertébrale du rat.....</i>	<i>7</i>
<i>Figure 3. Variation de la vitesse de réduction de la surface de la plaie en fonction du temps (jour) chez les rats traités par application topique de la crème contenant 10% de MJ01 (—) et la crème de base (contrôle) (—) ($\bar{m} \pm e.s.m$, $n = 8$, $*p < 0,05$).....</i>	<i>11</i>
<i>Figure 4. Plaie sans croûte, avec un contour rouge chez le lot contrôle 24 heures après l'excision.....</i>	<i>12</i>
<i>Figure 5. Plaie couverte de croûte chez le lot traité avec de l'extrait, 24 heures après l'excision.....</i>	<i>12</i>
<i>Figure 6. Erythème et œdème sur la plaie contrôle (gauche) et traitée avec l'extrait (droite) après 2 jours de l'excision.....</i>	<i>12</i>
<i>Figure 7. Plaies au cinquième jour, encore enflammée chez le lot contrôle (gauche), et début de bourgeonnement chez le lot traité avec l'extrait (droite).....</i>	<i>13</i>
<i>Figure 8. Plaie molle chez le lot contrôle au sixième jour de la création de la plaie.....</i>	<i>13</i>
<i>Figure 9. Plaie sèche contractée chez le lot traité avec de l'extrait ; au sixième jour de la création de la plaie.....</i>	<i>13</i>
<i>Figure 10. Plaie en phase d'epidermisation, plaie contrôle (gauche) et plaie traitée avec l'extrait MJ01 (droite).....</i>	<i>14</i>
<i>Figure11. Plaie encore ouverte au 15^{ème} jour de traitement avec la crème de base.....</i>	<i>14</i>
<i>Figure12. Plaie fermée avec des poils. Chez les plaies traitées avec la crème contenant 10% de l'EHA de MJ01 après 15 jours de traitement.....</i>	<i>14</i>

LISTE DES SIGNES ET DES ABREVIATIONS

°C : Degré Celsius

%: Pourcentage

< : Inferieur

Cm² : Centimètre carré

Coll. : Collaborateurs

e.s.m : erreur standard à la moyenne

EHA: extrait hydroalcoolique

g : gramme

h: heure

J : Jour

LPGPC: Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie

\bar{m} = moyenne

mg : milligramme

ml : millilitre

mm² : millimètre carré

mm²/j : millimètre carré par jour

P: seuil de signification

V: vitesse

INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

La peau constitue une barrière protectrice de l'organisme contre l'environnement, elle joue également un rôle essentiel dans la thermorégulation (BANGERT C. et coll., 2011). Elle est constituée de trois couches principales dont les cellules interagissent ensemble afin d'assurer ses différentes fonctions. La partie superficielle ou l'épiderme, est mince et composée d'un épithélium pavimenteux stratifié et kératinisé. Elle est attachée à une couche interne plus épaisse, le derme par la couche de cellule basale. La dernière couche, l'hypoderme, est la couche sous-cutanée, composée de tissus conjonctifs auréolaires et adipeux (TRAN H.V., 2005).

La plaie résulte d'une perte de la continuité ou de la perturbation de la structure anatomique et cellulaire de la peau. La vitesse de la guérison de la plaie dépend de la surface endommagée, de la nature de l'agression et surtout de la profondeur de la plaie. La plaie est classée en trois degrés ; une plaie superficielle ou plaie du premier degré ne touche que de l'épiderme par contre une plaie du second degré endommage les terminaisons nerveuses du derme et la plaie du troisième degré détruit complètement l'épiderme et le derme (NAGORI B. et SOLANKI R., 2011).

La cicatrisation d'une plaie est un processus complexe. Elle a pour but de restaurer la structure d'un tissu endommagé d'aussi près que possible de son état normal (KRISHNAN P., 2006). Elle comprend différentes étapes : l'hémostase, la phase inflammatoire, la phase de contraction cellulaire et la phase d'épithélialisation (EZIKE A. C. et coll., 2010 ; RUPESH et coll., 2011). L'hémostase est suivie de la formation d'un caillot, puis une inflammation qui se manifeste par une rougeur et un œdème. Ensuite la phase de prolifération s'exprime par un épaissement de la plaie. Enfin, le remodelage traduit un blanchiment progressif de la cicatrice qui retrouve une couleur et une épaisseur normale (GALL Y., 2010 ; SÜNTAR I. et Coll., 2013).

D'après nos observations personnelles, les blessures sont très fréquentes dans les zones rurales, chez les gens qui travaillent dans les champs. Pour éviter les complications et vu le coût élevé de la médecine occidentale, beaucoup de paysans utilisent la phytothérapie.

L'utilisation des voies de recours et les plantes médicinales dans le traitement des plaies est un mode important pour améliorer la guérison (KUMAR et coll., 2007 ; ARUNACHALAM K.D. et SUBHASHINI S., 2011).

La médecine traditionnelle malgache utilise plusieurs plantes capables de soigner la blessure. Par exemple, la feuille fraîche de *Siegesbeckia orientalis* (*Satrikoazamaratra*) (ASTERACEAE) est utilisée comme cataplasme.

Il est également très connu que *Centella asiatica* (*Talapetraka*) (APIACEAE) accélère la cicatrisation de la plaie et de la brûlure. Cette plante a fait l'objet de nombreuses études qui ont permis de mettre en évidence l'asiaticoside et ses propriétés cicatrisantes. Elle est vendue sous le nom de madécassol® (DEBRAY M., 1975). D'autres plantes comme *Aclanthospermum hispidum* (*Bakakely*) (ASTERACEAE) et *Cassia occidentalis* (*Tsotsorinangatra*) (CESALPINIACEAE) sont aussi utilisées dans la médecine traditionnelle malgache pour soigner la blessure (RABESA Z.A., 1986 ; RAKOTOBE E. et coll., 1993). D'après les enquêtes ethnobotaniques que nous avons effectué dans les régions Sofia, commune d'Ankerika, les feuilles de la plante codées MJ01 sont utilisées pour arrêter le saignement et soigner les plaies ouvertes.

La présente étude a pour but d'évaluer l'effet de l'extrait de la plante codée MJ01 sur la cicatrisation chez le rat. L'activité cicatrisante de l'EHA de la feuille de la plante codée MJ01 a été évalué sur la vitesse de réduction de la surface de la plaie et les différentes étapes de la cicatrisation.

MATERIELS

ET

METHODES

II. MATERIELS ET METHODES

A. Partie Chimique

1. Matériels végétaux

Les feuilles de la plante codée MJ01 ont été récoltées dans la région Sofia en Novembre 2014. Elles ont été séchées à l'ombre et réduites en poudre à l'aide d'un broyeur à marteau (BROOK CROMPTON séries 2000). Cinq cent grammes de poudre de MJ01 ont été macérés dans un mélange éthanol - eau (60:40) pendant une semaine dans un récipient en verre. Le macérât obtenu a été filtré sur un papier filtre, et le filtrat a été évaporé sous vide à 80°C à l'aide d'un évaporateur rotatif Evapotech ® (figure 1). L'extrait hydroalcoolique sec a été récupéré et pesé pour calculer le rendement de l'extraction, ensuite il a subi un criblage phytochimique pour déterminer les familles chimiques qu'il contient, et il a été utilisé pour les études de l'activité cicatrisante de cette plante chez les rats.

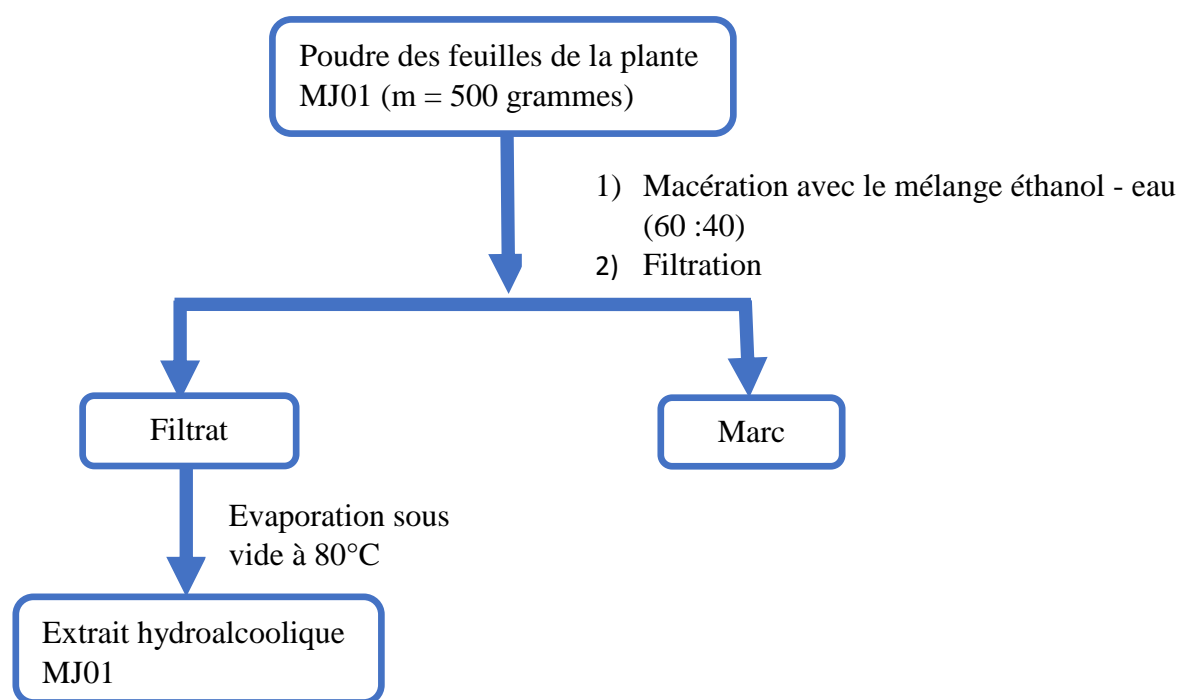


Figure1. Schéma montrant les différentes étapes de la préparation de l'extrait MJ01.

Le rendement d'extraction a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement} = \frac{(\text{Poids de l'extrait} \times 100)}{\text{poids de la poudre végétale}}$$

2. Criblage phytochimique

Cette manipulation consiste à déterminer les grandes familles de composés chimiques présentes dans la plante. Elle a été réalisée selon la méthode décrite par FONG H.H.S. et ses collaborateurs en 1977 et IGAN C. en 1982 (Tableau I). Il s'agit d'un test qualitatif basé sur la formation de mousse ou de réaction de coloration et/ou de précipitation, résultats de la réaction chimique entre des réactifs et la classe chimique correspondante.

Les signes suivants ont été utilisés pour quantifier la concentration relative des différentes familles :

- : absence
- + : Présence à faible concentration
- ++ : Présence à moyenne concentration
- +++ : Présence à forte concentration

Tableau I. Tests utilisés pour mettre en évidence les familles chimiques présentes dans l'extrait MJ01 (FONG H.H.S. et coll., 1977 ; IGAN C., 1982).

FAMILLES CHIMIQUES	TESTS	REACTIFS	OBSERVATIONS
ALCALOÏDES	DRAGENDORFF MAYER WAGNER	(NO ₂) ₂ BI/IK HgCl ₂ /IK I ₂ /IK	PRECIPITATIONS
TANINS		Gélatine + NaCl	Précipitation verte : Tanins catéchiques
		gélatine+ FeCl ₃	Précipitation bleue : Tanins galliques
COMPOSES PHENOLIQUES		Gélatine 1%	Précipitation
STEROÏDES ET TRITERPENES	LIBERMAN BURCHARD	Anhydride acétique + H ₂ (SO ₄)	-Coloration pourpre : Terpénoides -Coloration violet ou bleu : Stéroïdes
	BADGET KEDDE	Acide picrique	Coloration rouge : Stéroïdes lactoniques
FLAVONOÏDES LEUCOANTHOCYANES	WIL-STATER	-Ruban de Mg + HCl concentré	Coloration rouge Flavones Coloration violacée : Flavanones, Flavanols Coloration rouge à pourpre : Flavonols
	BATH-SMITH	HCl concentré	Intensification de Couleur
POLYSACCHARIDES		+ 3 V éthanol	Trouble
SUCRES REDUCTEURS		Liqueur de Fehling	Bain-marie : précipitation rouge brique
COUMARINES		NaOH 10%	Fluorescence à l'UV
SAPONINES	MOUSSE	HCl + agitation	Persistance d'une mousse (3cm d'épaisseur) 30 min après agitation

B. Parties biologiques

1. Préparation et formulation de la crème

L'extrait a été appliqué par voie topique sous forme de crème pour évaluer son activité cicatrisante (BUILDERS P.F., 2013). Cette forme galénique a été choisie pour être appliquée sur des plaies ouvertes (MARTINI M.C., 2006).

La crème de base a été préparée sous forme d'émulsion eau dans huile (E/H) : la phase aqueuse est constituée d'eau et du bicarbonate de sodium et la phase grasse est composée d'huile d'olive, de cire d'abeille, de lanoline, d'acide stéarique et de stéaryle d'alcool (Tableau II).

Chaque phase a séparément été chauffée à la température de 70°C dans deux récipients différents pendant dix minutes pour dissoudre les ingrédients les constituants. Ensuite, la phase aqueuse a été versée en mince filet dans la phase huileuse tout en mélangeant sans arrêt jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène, et le mélange a été laissé se refroidir.

Pour préparer une crème contenant 10% de MJ01, 2,5 g de l'extrait ont été dissouts dans de l'eau distillée et mélangés dans 22,5 g de la crème de base. Ce mélange a ensuite été homogénéisé.

Tableau II. Composition de la crème de base.

Phases	Composition	Rôles	Quantité
Phase aqueuse	Eau distillée	Phase aqueuse	300 ml
	Bicarbonate de sodium	Conservateur	100 mg
Phase grasse	Huile d'olive	Phase huileuse	600 ml
	Cire d'abeille	Épaississant	15g
	Acide stéarique	Emulsifiant et stabilisant	3g
	Alcool stéaryle	Epaississant lipophile	3g
	Lanoline	Emulsifiant	1g

2. Evaluation de l'activité cicatrisante de MJ01

L'effet de l'extrait MJ01 sur la cicatrisation a été évalué sur la vitesse de la cicatrisation d'une plaie expérimentale chez le rat, en suivant les différentes phases de la cicatrisation : la phase inflammatoire, la phase de bourgeonnement et la fermeture complète de la plaie.

Des rats de race Wistar mâles et femelles pesant entre 200 à 250 grammes âgés de 4 mois ont été utilisés. Ces animaux ont été élevés dans les mêmes conditions à l'animalerie du Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique, et de Cosmétologie (LPGPC), à la faculté des sciences de l'université d'Antananarivo. Ils ont été nourris avec de la provende LFL 1420, et ont reçu de l'eau à volonté, sous un cycle de lumière et d'obscurité 12/12 h, et à la température de 20°C.

Avant de provoquer les plaies, les animaux ont été anesthésiés par inhalation d'éther diéthylique (BHASKAR A. et coll., 2012). Le dos des animaux a été épilé avec de la cire d'épilatoire sur une surface de 8 cm². Puis deux plaies circulaires symétriques de 1cm de diamètre ont été faite de part et d'autre de la ligne médiane de la colonne vertébrale (figure 2) (SHAILAJAN S. et coll., 2011). Ces plaies ont été créées à l'aide d'un dispositif comportant une lame tranchante de 1cm de diamètre, la plaie a été laissée ouverte (MUKHERJEE H. et coll., 2013).



Figure 2. Plaies expérimentales circulaires symétriques de 1cm de diamètre créées de part et d'autre de la ligne médiane de la colonne vertébrale du rat.

Les rats ont ensuite été répartis en deux lots de quatre animaux : le lot 1 a servi de témoin et le lot 2 a été traité avec l'extrait. Avant d'appliquer la crème, les plaies ont été lavées avec de l'eau distillée puis sécher avec un papier absorbant. Puis cinquante milligrammes de crème ont été appliquées sur chaque plaie, une fois par jour jusqu'à la guérison complète (MANJUNATHA B.K. et coll., 2005). La crème de base a été appliquée sur la plaie du lot contrôle, tandis que les animaux du lot 2 ont été traités avec de la crème contenant 10% de MJ01. Ils ont été placés séparément dans une cage individuelle jusqu'à la fin de l'expérience.

a. Effet de l'extrait MJ01 sur la vitesse de cicatrisation

Aux jours 0, 3, 6, 9, 12, 13, 14 et 15, la surface de la plaie a été mesurée par planimétrie directe. Un papier millimétré transparent a été placé directement sur la plaie, et le contour de la blessure a été tracé avec un marqueur à pointe fine. La vitesse de la contraction de la plaie a été calculée par la formule ci-après (MANOJ G. et coll., 2012 modifié) :

$$V = \frac{S_n - S(n-1)}{T_n - T(n-1)}$$

Où : V : vitesse de la contraction de la plaie (mm²/jour)

S_{n-1} : surface de la plaie le jour d'avant

S_n : surface de la plaie au jour n

T_{n-1} : Temps de la plaie au jour d'avant

T_n : Temps de la plaie au jour n.

b. Effet de l'extrait MJ01 sur la phase inflammatoire

L'effet de l'extrait MJ01 sur l'hémostase a été étudié en suivant l'apparition et l'épaisseur de la croûte sur la plaie, 24 heures après l'excision et l'application du produit, par rapport au lot témoin. Puis son effet sur l'inflammation a été évalué en suivant l'apparition et la durée de la rougeur, de l'œdème autour de la plaie ainsi que la présence de l'exsudation sur la plaie par rapport au témoin.

c. Effet de l'extrait sur la phase de bourgeonnement

La phase de bourgeonnement a été étudiée en observant le temps d'apparition de bourgeons sur la plaie traitée par rapport à celui du témoin.

d. Effet de l'extrait MJ01 sur la fermeture de la plaie

Le temps de la fermeture complète de la plaie traitée a été comparé à celui du lot témoin, pour étudier l'effet de l'extrait MJ01 sur la cicatrisation.

2. Expression et analyses des données

La vitesse de cicatrisation a été exprimée en moyenne \pm écart standard moyenne ($\bar{m} \pm \text{e.s.m.}$).

Les résultats obtenus chez les animaux traités avec la crème contenant l'extrait MJ01 ont été comparés à ceux obtenus chez le lot contrôle, en utilisant le test « t » de STUDENT avec un degré de signification $P < 0,05$.

RESULTS

III. RESULTATS

A. Partie chimique

1. Rendement de l'extraction

Après évaporation à sec de l'extrait hydro alcoolique, 37 g d'extrait sec MJ01 sont obtenus, soit un rendement de 7,4 %.

2. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait MJ01 révèle la présence de tanins en forte teneur, une teneur moyenne en flavonoïdes, polyphénols, alcaloïdes, polysaccharides et sucres réducteurs ; et enfin une faible teneur en leucoanthocyanes (Tableau III).

Tableau III. Les familles chimiques présentes dans l'extrait MJ01 et leur teneur relative.

FAMILLES CHIMIQUES	TENEUR
TANINS	+++
FLAVONOÏDES	++
POLYPHENOLES	++
ALCALOÏDES	++
POLYSACCHARIDES	++
SUCRES REDUCTEURS	++
LEUCOANTHOCYANES	+
SAPONINES	-
STEROÏDES	-
TERPENOÏDES	-
SUCRES RARES	-
COUMARINES	-

B. Partie biologique

L'observation quotidienne de l'évolution de la plaie chez les rats nous a permis de voir les différentes étapes de la cicatrisation de la plaie: l'inflammation, le bourgeonnement ; ainsi que la vitesse de cicatrisation des plaies chez les animaux traités avec l'extrait MJ01 par rapport aux témoins.

1. Vitesse de cicatrisation des plaies

Elle a été évaluée par la contraction de la surface de la plaie en fonction du temps. Elle est plus rapide chez le lot traité avec l'extrait par rapport au témoin.

Au troisième jour, la surface de la plaie contrôle est de $87,27 \pm 2,7 \text{ mm}^2$, contre $72,25 \pm 3,07 \text{ mm}^2$ chez les traitées ($P < 0,05$). Au 6^{ème} jour la surface de la plaie du lot traité avec l'extrait est de $37,44 \pm 2,04 \text{ mm}^2$, contre $66,70 \pm 1,45 \text{ mm}^2$ chez le témoin ; avec une vitesse de cicatrisation de $11,78 \pm 0,50 \text{ mm}^2/\text{jour}$ contre $6,15 \pm 0,04 \text{ mm}^2/\text{jour}$ chez le lot contrôle ($P < 0,05$) (figure 3).

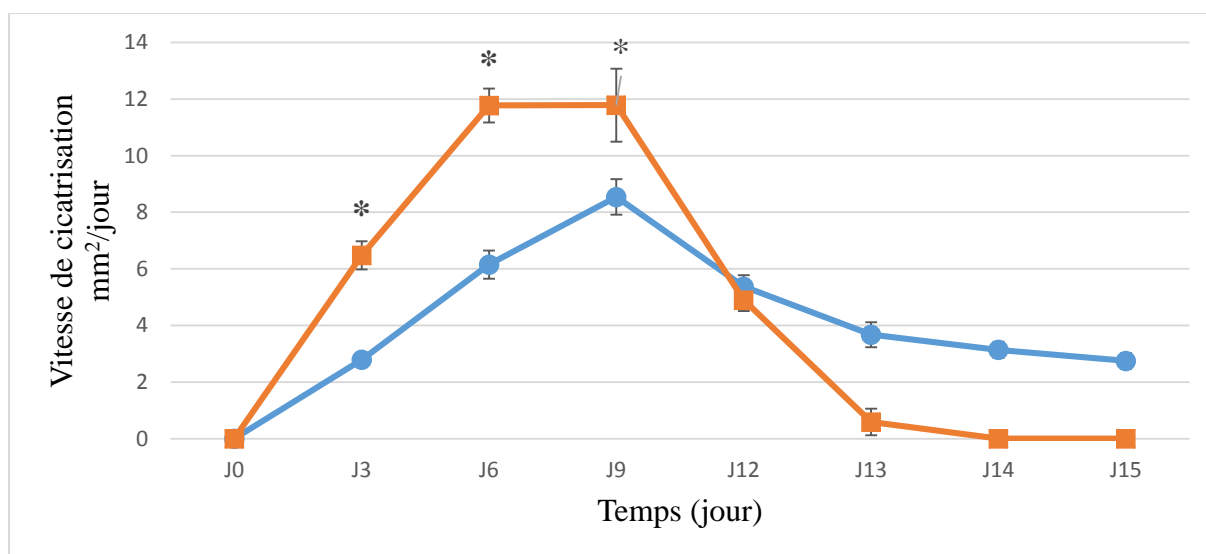


Figure 3. Variation de la vitesse de réduction de la surface de la plaie en fonction du temps (jour) chez les rats traités par application topique de la crème contenant 10% de MJ01 (—■—) et la crème de base (contrôle) (—●—) ($\bar{m} \pm e.s.m.$, $n = 8$, * $p < 0,05$).

2. Effet de l'extrait MJ01 sur la phase inflammatoire

Vingt-quatre heures après de la création des plaies, de la croûte apparait chez le lot traité avec l'extrait MJ01. La totalité de la surface des plaies est recouverte d'une croûte épaisse (figure 5) contrairement aux plaies témoins qui sont encore humides (figure 4).

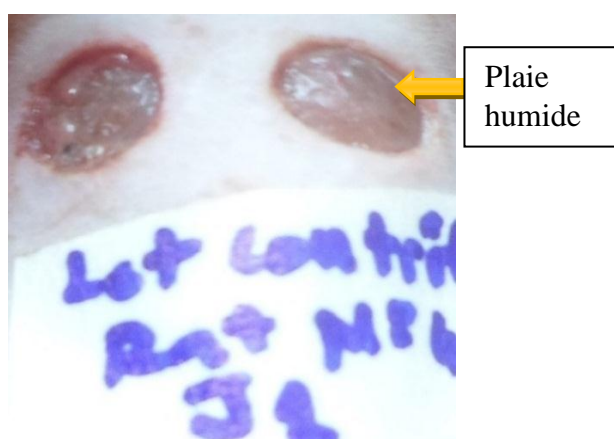


Figure 4. Plaie sans croûte, avec un contour rouge chez le lot contrôle 24 heures après l'excision.

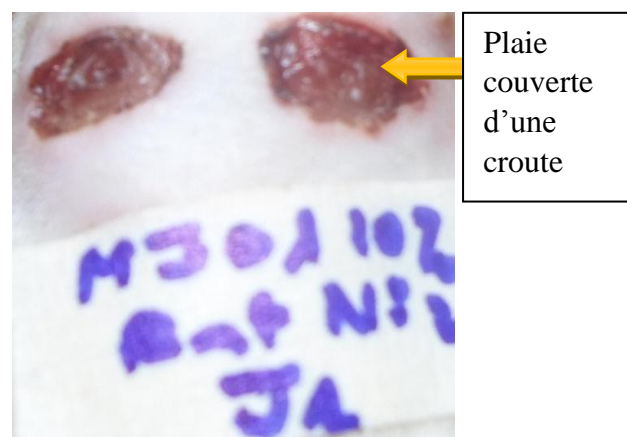


Figure 5. Plaie couverte de croûte chez le lot traité avec de l'extrait, 24 heures après l'excision.

Au deuxième jour du traitement, le contour de la plaie du lot témoin (contrôle) est rouge et tuméfié (figure 6). L'application de l'extrait MJ01 réduit la réponse inflammatoire de la plaie, la rougeur et l'œdème sont très faibles par rapport au témoin et disparaissent au 5^{ème} jour (figure 7). Chez le lot témoin, cette rougeur ne disparaît qu'au sixième jour.

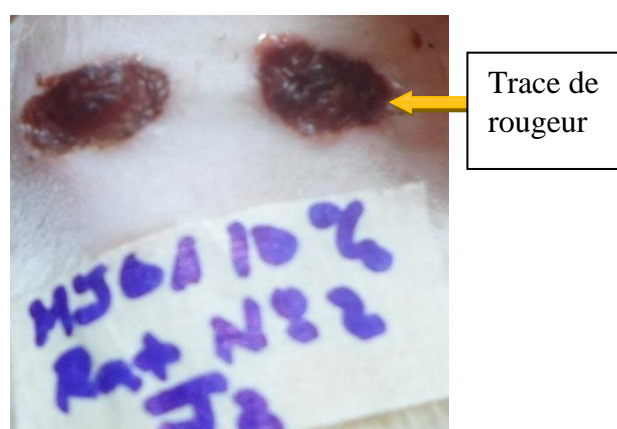
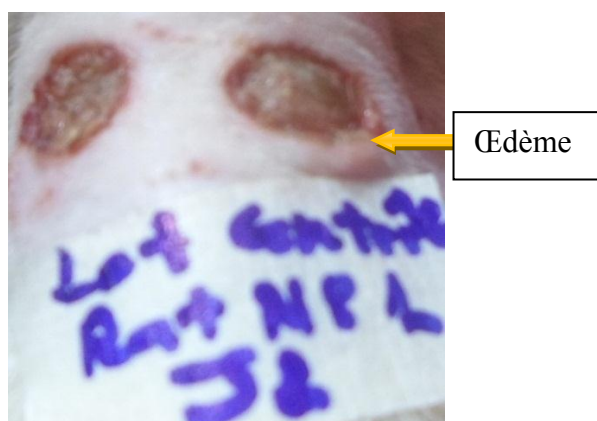


Figure 6. Erythème et œdème sur la plaie contrôle (gauche) et traitée avec l'extrait (droite) après 2 jours de l'excision.

3. Effet de l'extrait MJ01 sur la phase de bourgeonnement

Au cinquième jour du traitement, des bourgeons apparaissent sur les plaies traitées avec l'extrait MJ01 et le tissu monte vers la surface de la plaie. Par contre le contour des plaies non traitées présente encore de la rougeur (figure 7). Au sixième jour, les plaies du lot contrôle sont molles et elles ne présentent pas encore de granulation contrairement à celles traitées avec l'extrait qui sont sèches et rétrécies (figure 8 et figure 9).

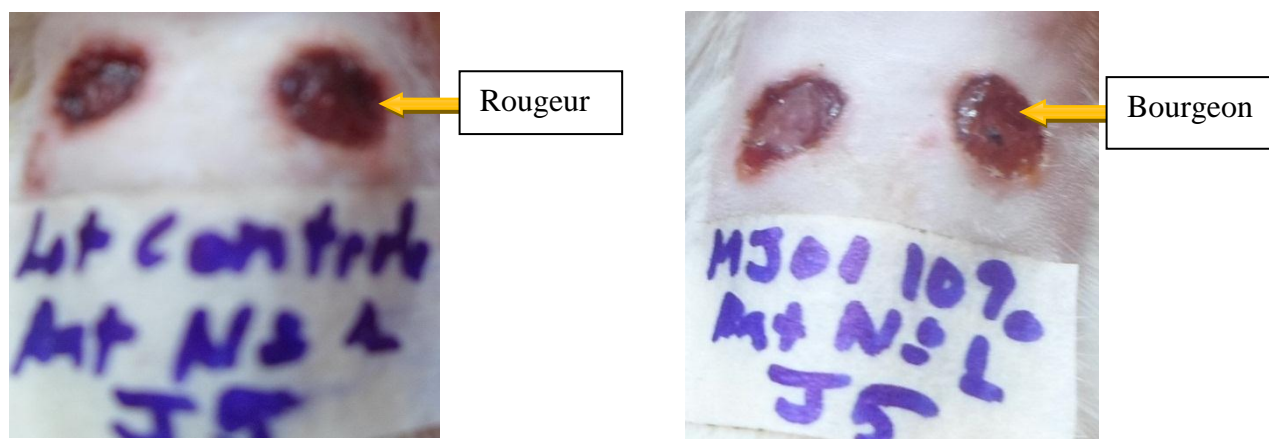


Figure 7. Plaies au cinquième jour, encore enflammée chez le lot contrôle (gauche), et début de bourgeonnement chez le lot traité avec l'extrait (droite).

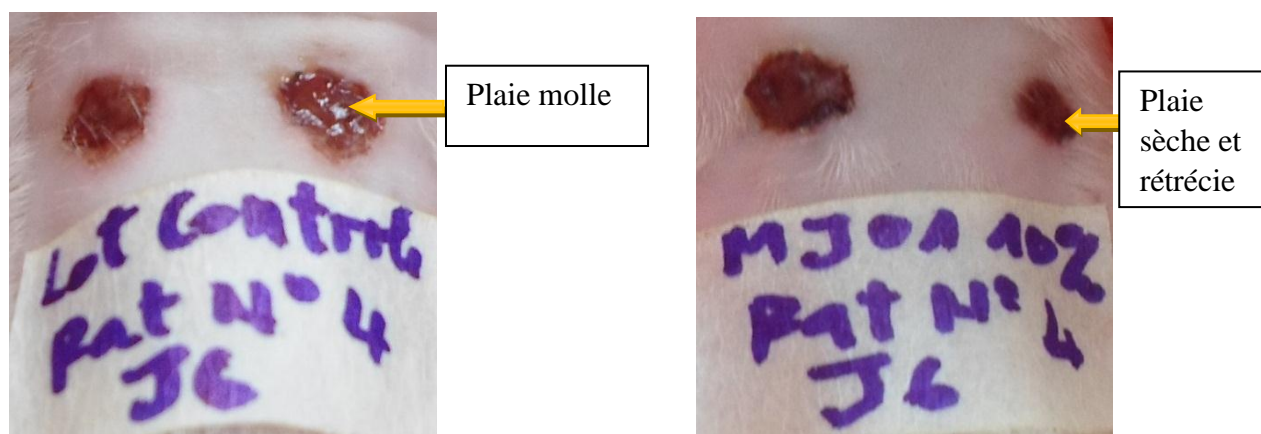


Figure 8. Plaie molle chez le lot contrôle au sixième jour de la création de la plaie.

Figure 9. Plaie sèche contractée chez le lot traité avec de l'extrait ; au sixième jour de la création de la plaie.

4. Fermeture de la plaie

A partir du troisième jour de l'excision la surface des plaies traitées avec l'extrait commence à diminuer, et au treizième jour elles sont complètement cicatrisées, et au 15^{ème} jour des poils commencent à pousser autour de la blessure (figure 12), par contre la fermeture des plaies traitées avec la crème de base (contrôle) prend 5 jours de retard.

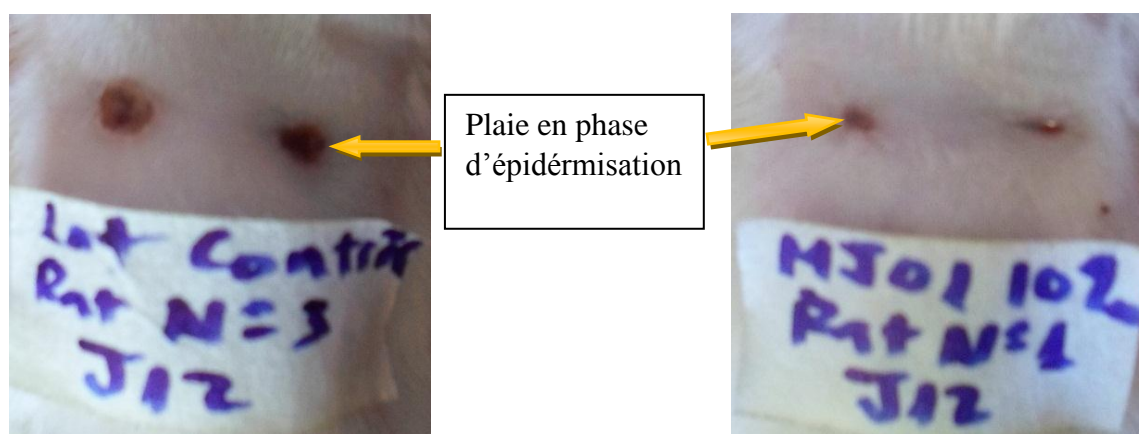


Figure 10. Plaie en phase d'épidermisation, plaie contrôle (gauche) et plaie traité avec l'extrait MJ01 (droite).

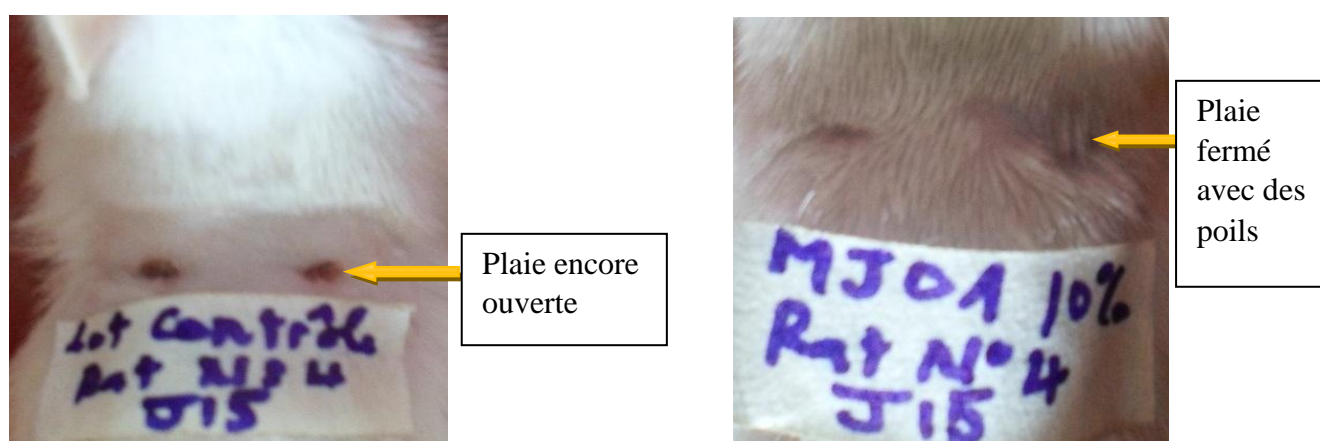


Figure11. Plaie encore ouverte au 15^{ème} jour de traitement avec la crème de base.

Figure12. Plaie fermée avec des poils. Chez les plaies traitées avec la crème contenant 10% de l'EHA de MJ01 après 15 jours de traitement.

DISCUSSION

IV. DISCUSSION

Notre objectif a été d'étudier l'activité cicatrisante d'une plante médicinale utilisée dans la région Nord-ouest de Madagascar. Nos résultats montrent que l'extrait MJ01 possède une activité cicatrisante, il réduit également la durée de la phase inflammatoire des plaies.

L'examen macroscopique des plaies révèle que les plaies traitées avec l'extrait sont recouvertes d'une croûte épaisse bien avant celles du lot témoin. Cette croûte résulte de la coagulation sanguine et joue un rôle important pour la cicatrisation de la plaie. Les caillots forment la matrice tissulaire provisoire de la phase précoce de la cicatrisation des plaies et protège la plaie contre des agents extérieurs (FOLKMAN J. et SHING Y., 1992).

La rapidité de la vitesse de cicatrisation pourrait s'expliquer par l'apparition rapide de la croûte sur les plaies traitées. Cela expliquerait également la diminution de la durée de la phase inflammatoire chez les plaies traitées avec l'extrait.

D'après EZIKE A. C. et ses collaborateurs (2010), les tanins contribuent en partie dans la phase hémostatique en précipitant les protéines pour former des bouchons au niveau d'une plaie ouverte. Ce qui nous permet d'avancer une hypothèse selon laquelle, les tanins dont leur présence est révélés au cours du criblage phytochimique sont responsables de cette activité.

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait, observée par la réduction de la durée de la phase inflammatoire des plaies traitées avec l'extrait pourrait s'expliquer par la présence des flavonoïdes dans l'extrait. En effet, selon GETIE M. et ses collaborateurs (2002) l'extrait des feuilles de *Dodonea viscosa* (SAPINDACEAE) ; SHAILAJAN S. et ses collaborateurs (2011) sur *Jatyadi taila*, et AKKOL E. K. et ses collaborateurs (2012) sur *Ranunculus sp* ont rapporté que les flavonoïdes ont une propriété anti-inflammatoire.

Par ailleurs, les travaux de MUKHERJEE H. et ses collaborateurs (2013) ont attribué l'activité cicatrisante de l'extrait de *Shorea robusta* (DIPTEROCARPACEAE) chez le rat, à l'inhibition directe de la libération de médiateurs de l'inflammation aidant ainsi la contraction de la plaie et à son épithélialisation. D'après nos résultats, et en accord avec MUKHERJEE H. et ses collaborateurs (2013), MJ01 réduit la durée de la phase inflammatoire par rapport au témoin, en inhibant les cytokines pro inflammatoires, ce qui explique en partie l'activité cicatrisante de l'extrait MJ01. Les résultats montrent que la vitesse de la contraction de la plaie est supérieure à celle des plaies contrôles pendant la phase inflammatoire.

Par ailleurs, PURATCHIKODY A. et ses collaborateurs (2006) qui ont étudié l'activité cicatrisante de *Cyperus rotundus* L., ont rapporté que le développement de tissu de granulation encore appelé tissu de bourgeonnement, sont constitués de macrophages et d'une population dense de fibroblastes et de myofibroblastes. Il reconstitue le derme détruit, permettant ainsi à l'épiderme de se reformer sur des fondations solides. Ces fibroblastes possèdent des propriétés contractiles et contribuent à la contraction des berges de la plaie, ce qui favorise la diminution de la surface de la plaie. En même temps les kératinocytes migrent vers la surface pour combler la plaie (MOHAN H., 2005 ; MOLAN P.C., 2006). Ce qui expliquerait la fermeture rapide des plaies traitées avec l'extrait MJ01. En outre, les flavonoïdes augmentent la migration des cellules fibroblastes sur les plaies selon SUDSAI T. et ses collaborateurs (2013) qui ont étudié la propriété cicatrisante de l'extrait du rhizome de *Boesenbergia longiflora* (ZINGIBERACEAE). GELLER F. et ses collaborateurs (2010) ont étudié l'activité anti inflammatoire et de cicatrisation de l'extrait éthanoïque de la plante *Cordia americana* (BORAGINACEAE) de la même famille et même genre que la plante MJ01 et ont conclu que la présence des flavonoïdes sur cette plante est responsable de l'effet anti-inflammatoire et la prolifération des cellules fibroblastes.

D'après ces travaux, il est probable que l'activité cicatrisante de l'extrait MJ01 serait due à la présence des flavonoïdes et tanins. Cela n'écarte pas l'hypothèse de synergisme avec d'autres familles chimiques contenues dans l'extrait.

CONCLUSION

V. CONCLUSION

Les résultats de cette étude montrent que l'extrait MJ01 possède une activité anti-inflammatoire et accélère la cicatrisation chez le rat. Il améliore l'épithélialisation de l'épiderme. Cette activité de l'extrait pourrait être due à l'effet des tanins et/ou des flavonoïdes qu'il contient. Des études plus approfondies sur des produits purs nécessaires pour l'élucidation de son mécanisme d'action.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

AKKOL K.E., SÜNTAR I., ERDOGAN T.F., KELES H., GONENC T.M., KIVÇAK B. (2012).

Wound healing and anti-inflammatory properties of *Ranunculus pedatus* and *Ranunculus constantinopolitanus*: A comparative study.

J. Ethnopharmacol., **139**: 478-484.

ARUNACHALAM K.D., SUBHASHINI S. (2011).

Preliminary phytochemical investigation and wound healing activity of *Myristica andamanica* leaves in Swiss albino mice.

J. Med. Plants Res., **5**(7):1095-1106.

BANGERT C., BRUNNER P.M., STINGL G. (2011).

The immune function of the skin.

Clin. Dermatol., **29**: 360-376.

BHASKAR A., NITHYA V. (2012).

Evaluation of the wound-healing activity of *Hibiscus rosa sinensis* L. (MALVACEAE) in Wistar albino rats.

Ind. J. Pharmacol., **44**: 694-698.

BUILDERS P.F., KABELE-TOGE B., BUILDERS M., CHINDO B.A., ANWUNOBI P.A., ISIMI Y.C. (2013).

Wound Healing Potential of Formulated Extract from *Hibiscus sabdariffa* Calyx.

Ind. J. Pharm. Sci., **75**: 45-52.

DEBRAY M. (1975).

Médecine et Pharmacopée traditionnelles à Madagascar.

Etudes Médicales, **1**, p. 76.

EZIKE A.C., AKAH P.A., OKOLI C.O., UDEGBUNAM S., OKWUME N., OKEKE C., ILOANI O. (2010).

Medicinal plants used in wound care: A study of *Prosopis africana* (FABACEAE) stem bark.
Ind. J. Pharm. Sci., **72**: 334-339.

FOLKMAN J., SHING Y. (1992).

Angiogenesis.

J. Biol. Chem., **267**: 10931-10934.

FONG H.H.S., TIN-WA M., FARNWORTH N.R. (1977).

Phytochemical screening.

College of pharmacy, university of Illinois, Chicago (USA), 6-7.

GALL Y. (2010).

Acide hyaluronique : structure, métabolisme et implication dans la cicatrisation.

Ann. Dermatol., **137**(1): 30-39.

GELLER F., SCHMIDT C., GÖTTERT M.R., FRONZA M.R., SCHATTEL V. HEINZMANN B., WERZ O., FLORES E.M.M., MERFORT I., LAUFER S. (2010).

Identification rosmarinic acid as the active constituent in major *Cordia americana*.

J. Ethnopharmacol., **128**(3): 561-566.

GETIE M., GEBRE M.T., REITZ R., NEUBERT R.H. (2002).

Evaluation of the release profiles of flavonoids from topical formulations of the crude extract of the leaves of *Dodonea viscosa* (SAPINDACEAE).

Pharmazie, **57**: 320-322.

IGAN C. (1982).

Practical manuals of the industrial utilization of medicinal plants and aromatical plants.

Rev. Fac. Pharm., (Bucharest, Romania): 1-34.

KRISHNAN P. (2006).

The scientific study of herbal wound healing therapies: current state of play.

Current Anaesthesia and Critical Care, **17**: 21-27.

KUMAR B., VIJAYAKUMAR M., GOVINDRAJAN R., PUSHANGADAN P. (2007).
Ethnopharmacological approaches to wound healing - exploring medicinal plants of India.
J. Ethnopharmacol., **114**:103-113.

MANJUNATHA B.K., VIDYA S.M., RASHMI K.V., MANKANI K.L.,
SHILPA H.J., SINGH S.D.J. (2005).
Evaluation of the healing power of *Vernonia arborea* Hk.
Ind. J. Pharmacol., **37**(4): 223-226.

MANOJ G., NAGORI B.P., SASMAL D. (2012).
Wound healing activity of latex of *Euphorbia caducifolia*.
J. Ethnopharmacol., **144** : 786-790.

MARTINI M.C. (2006).
Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie.
Ed. Elsevier Masson, France, 20-25; 34-38.

MOHAN H. (2005).
Inflammation and healing. In Textbook of Pathology.
Ed. Jaypee Brothers, New Delhi, 133-179.

MOLAN P.C. (2006).
The evidence supporting the use of honey as a wound dressing.
Int. J. Low Extrem Wounds, **5**: 40-54.

MUKHERJEE H., OJHA D., BHARITKAR Y.P., GHOSH S., MONDAL S., KAITY S.,
DUTTA S., SAMANTA A., CHATTERJEE T.K., CHAKRABARTI S. , MONDAL N.B.,
CHATTOPADHYAY D. (2013).
Evaluation of the wound healing activity of *Shorea robusta*, an Indian ethnomedicine, and its
isolated constituent(s) in topical formulation.
J. Ethnopharmacol., **149**(1): 335-345.

NAGORI, B., SOLANKI, R. (2011).
Role of medicinal plants in wound healing.
Res. J. Med. Plants **5**: 392-405.

PURATCHIKODY A., DEVI C.N., NAGALAKSHMI G. (2006)

Wound healing activity of *Cyperus rotundus*.

Ind. J. Pharm. Sci., **68**, 97-101

RABESA Z. A., RANDRIANASOLO S.S., RASOLOMANANA C.J.C. (1986).

Pharmacopée de l'Alaotra.

Ed. Fanantenana, Antananarivo, 17-258.

RAKOTOBÉ E., RASOLOMANANA J.C., RANDRIANASOLO S. (1993)

Pharmacopée de l'Ambongo et du Boina.

Ed. CIDST, Antananarivo, p.540.

RUPEESH T., NITIKA J., RAGHVENDRA P., SARDUL S.S. (2011).

Practices in wound healing studies of plants.

Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 1-17.

SHAILAJAN S., MENON S., PEDNEKAR S., SINGH A. (2011).

Wound healing efficacy of *Jatyadi taila*: In vivo evaluation in rat using excision wound model.

J. Ethnopharmacol., **138**(1): 99-104.

SUDSAI T., WATTANAPIROMSAKUL C., NAKPHENG T., TEWTRAKUL S. (2013).

Evaluation of the wound healing property of *Boesenbergia longiflora* rhizomes.

J. Ethnopharmacol., **150**: 223-231.

SÜNTAR I., AKKOL K.E., KELES K., YESILADA E., SARKER D.S. (2013).

Exploration of the wound healing potential of *Helichrysum graveolens* (Bieb.) Sweet:

Isolation of apigenin as an active component.

J. Ethnopharmacol., **149**: 103-110.

TRAN H.V., CHARLEUX F. EHRLACHER A., HO BA THO M.C. (2005).

Propriétés mécaniques multicouches de la peau humaine *in vivo*.

Ed. ENPC, Paris, 2-3.

TSUCHIYA H., SATO M., MIYAZAKI T., FUJIWARA S., TANIGAKI S., OHYAMA M. (1996).

Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

J. Ethnopharmacol., **50**: 27-34.

Étude de l'activité cicatrisante de l'extrait MJ01 chez le rat

Auteur : MIASA Julephin

Adresse : Lot VS 52 GAA Avaratr'ankatso

Année : 2013 – 2014

Tél : +261326573609

Email : miasajulephin@gmail.com

Rapporteur : RANDRIANAVONY Patricia

Maitres de conférences

Laboratoire : Laboratoire de pharmacologie générale, de pharmacocinétique et de cosmétologie.

B.P : 8385

Email : randrianavonypatricia@yahoo.com

Département de Physiologie Animale et de Pharmacologie

Faculté des sciences

UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

RESUME

L'activité cicatrisante de l'extrait MJ01 a été évaluée sur des plaies ouvertes chez les rats en suivant les différentes phases de la cicatrisation et la vitesse de réduction de la surface de la plaie. Au troisième jour la surface de la plaie contrôle est de $87,27 \pm 2,7 \text{ mm}^2$, contre $72,25 \pm 3,07 \text{ mm}^2$ chez les traitées, et au 6^{ème} jour la surface de la plaie du lot traité avec l'extrait est de $37,44 \pm 2,04 \text{ mm}^2$, contre $66,70 \pm 1,45 \text{ mm}^2$ chez le contrôle ; ce qui donne une vitesse de cicatrisation de $11,78 \pm 0,50 \text{ mm}^2/\text{jour}$ contre $6,15 \pm 0,04 \text{ mm}^2/\text{jour}$ chez le lot contrôle ($P < 0,05$).

La présence des tanins qui favorisent l'hémostase et les flavonoïdes qui exercent un effet anti-inflammatoire et qui augmentent la migration des cellules fibroblastes pourraient être responsables de l'activité cicatrisante de l'extrait MJ01.

Mots clés : cicatrisant, flavonoïdes, tanins, rats.

ABSTRACT

The wound healing activity of the extract MJ01 has been investigated on open wounds in rats. By following the different phases of wound healing process and the speed of reduction of the of the wound surface area. On the third day, the surface area of the wound for the control animals was $87.27 \pm 2.7 \text{ mm}^2$ and that for the treated group was $72.25 \pm 3.07 \text{ mm}^2$. The values were $37.44 \pm 2.04 \text{ mm}^2$ for the treated animals and $66.70 \pm 1.45 \text{ mm}^2$ for the control group on the 6th day. The speed of wound healing were thus $11.78 \pm 0.50 \text{ mm}^2/\text{day}$ for the treated animals as against $6.15 \pm 0.04 \text{ mm}^2/\text{day}$ for control group ($P < 0.05$).

The presence of tannins, that encourages the hemostasis and flavonoids that exercises an anti-inflammatory effect and increases the migration of the fibroblast cells, in the extract MJ01 could be responsible for the wound healing activity.

Key words: wound healing, flavonoids, tannins, rats.