



**FACULTÉ DES SCIENCES**  
**DOMAINE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES**  
**MENTION PHYSIOLOGIE ANIMALE,**  
**PHARMACOLOGIE, COSMÉTOLOGIE**  
**LABORATOIRE DE PHARMACOLOGIE GÉNÉRALE,**  
**DE PHARMACOCINETIQUE ET DE COSMÉTOLOGIE**

LPGPC

Mémoire pour l'obtention du diplôme de MASTER

Option : PHARMACOLOGIE

**ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ**  
**CICATRISANTE DE L'EXTRAIT**  
**AT-92 CHEZ LE RAT**

Présenté publiquement par:

**RASOLOFOMANANA Andry Tokiniaina**

**Le 23 Août 2017**

Devant le jury composé de:

**Président : Madame RANDRIANAVONY Patricia**  
**Professeur**

**Rapporteur : Monsieur RANDIMBIVOLOLONA Fanantenirainy**  
**Professeur Titulaire**

**Examineur : Monsieur RASAMINDRAKOTROKA Andry**  
**Professeur Titulaire de Chaire à la Faculté de Médecine d'Antananarivo**

*Année universitaire : 2016-2017*

**Nom** : RASOLOFOMANANA  
**Prénoms** : Andry Tokiniaina  
**Adresse** : C.U Ankatso II Tanambao Bloc DII Porte 01  
**E-Mail** : [andrytokynyayna@gmail.com](mailto:andrytokynyayna@gmail.com)  
**Tél** : 034 69 858 63



# ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ CICATRISANTE DE L'EXTRAIT AT-92 CHEZ LE RAT

**Promotion** : HASINA  
**Option** : PHARMACOLOGIE  
**Laboratoire** : Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de  
Cosmétologie  
**Rapporteur** : Monsieur RANDIMBIVOLOLONA Fanantenainy  
Professeur Titulaire  
**B.P** : 8351  
**E-Mail** : [frandimbi@gmail.com](mailto:frandimbi@gmail.com)  
Domaines des Sciences et Technologies  
Université d'Antananarivo

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier le Professeur **RANDIMBIVOLOLONA Fanantenainy** de m'avoir accepté au sein de son laboratoire et a guidé mes études. Un maître et un encadreur me prodiguant de précieuses directives qui ont permis à l'aboutissement de ce travail. Tous mes sincères remerciements aussi à sa famille.

Un immense merci à Madame le Professeur **RANDRIANAVONY Patricia**, qui m'a fait un grand honneur en acceptant de présider ce mémoire. Sans oublier vos conseils, votre disponibilité et votre sympathie tout au long de ce travail.

Je remercie très sincèrement le Professeur Titulaire de Chaire à la Faculté de Médecine d'Antananarivo, **RASAMINDRAKOTROKA Andry** d'avoir accepté de juger ce travail. Veuillez recevoir toute ma considération.

Au Docteur **Nat QUANSAH** de bien voulu traduire en anglais le résumé malgré ses programmes chargés.

Un grand merci à toute l'équipe de **LPGPC** en particulier la promotion **HASINA** qui m'a aidé dans la réalisation de ce travail.

Je suis heureux de profiter de cette occasion pour remercier mes parents et mes sœurs pour leurs soutiens et pour les sacrifices qu'ils ont généreusement consentis pour mon éducation.

## TABLES DES MATIÈRES

TABLES DES MATIÈRES .....	I
LISTE DES TABLEAUX .....	II
LISTE DES FIGURES.....	III
LISTE DES SIGLES ET DES ABBRÉVIATIONS .....	IV
I. INTRODUCTION .....	1
II. MATÉRIELS ET MÉTHODES .....	5
A. Partie chimique.....	5
1. Préparation de l'extrait .....	5
2. Criblage phytochimique .....	5
B. Partie pharmacologique .....	7
1. Animaux d'expérimentation.....	7
2. Préparation des animaux .....	7
3. Préparation de la crème avec 10 % de l'extrait AT-92 et de la crème de base .....	7
a. Préparation de la crème de base .....	8
b. Préparation de la crème à 10 % de l'extrait AT-92.....	8
4. Etude de l'effet de l'extrait AT-92 sur les différentes phases de la cicatrisation .....	9
a. Etude de l'effet de l'extrait AT-92 sur l'hémostase .....	9
b. Etude de l'effet de l'extrait AT-92 sur la phase inflammatoire .....	9
c. Etude de l'effet de l'extrait AT-92 sur la phase de prolifération .....	9
d. Etude de l'effet de l'extrait AT-92 sur la phase d'épithélialisation .....	10
5. Etude de l'effet de l'extrait AT-92 sur la fermeture des plaies .....	10
6. Etude de l'effet de l'extrait AT-92 sur la vitesse de cicatrisation .....	10
C. EXPRESSION ET ANALYSES DES RÉSULTATS .....	10
III. RÉSULTATS .....	11
IV. DISCUSSION .....	18
V. CONCLUSION .....	20
BIBLIOGRAPHIE.....	21

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I.</b> Tests utilisés pour déterminer les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait AT-92 (FONG H. H. S. et coll., 1997) .....	6
<b>Tableau II.</b> Composition de 140 g de la crème de base.....	8
<b>Tableau III.</b> Quantités des familles chimiques présentes dans l'extrait AT-92.....	11

## LISTE DES FIGURES

- Figure 1.** Plaies au 3<sup>ème</sup> jour de traitement chez les 2 lots, avec une croûte épaisse chez les plaies traitées avec la crème contenant 10 % de l'extrait AT-92 (a), et une croûte fine avec de la rougeur et œdème au niveau de la berge chez le lot témoin (b).....12
- Figure 2.** Plaies au 4<sup>ème</sup> jour de traitement, temps d'apparition de bourgeon chez le lot traité avec la crème contenant 10 % de l'extrait (a) et absence chez le lot témoin ayant reçu de la crème de base (b).....13
- Figure 3.** Apparition du tissu épithélial au 8<sup>ème</sup> jour (J7) chez le lot traité avec la crème contenant 10 % de l'extrait AT-92 (a), et absence chez le lot témoin ayant reçu de la crème de base (b) .....14
- Figure 4.** Apparition de tissu épithélial chez les plaies témoins au 10<sup>ème</sup> jour d'application (J9) de la crème de base.....14
- Figure 5.** Fermeture complète de la plaie au 15<sup>ème</sup> jour d'application chez le lot traité avec la crème contenant 10 % de l'extrait AT-92 (a) et contraction chez lot témoin ayant reçu de la crème de base (b).....15
- Figure 6.** Fermeture complète des plaies chez le lot témoin au 21<sup>ème</sup> jour d'application de la crème de base.....15
- Figure 7.** Variation de la surface des plaies traitées avec la crème contenant 10 % de l'extrait AT-92 (■) et celle du lot témoin (■) ( $\bar{m} \pm e.s.m$ ; n=6 ; P < 0.05).....16
- Figure 8.** Variation de la vitesse de cicatrisation chez le lot traité avec la crème contenant 10 % de l'extrait AT-92 (■) et celle du lot témoin ayant reçu de la crème de base (■) en fonction de temps ( $\bar{m} \pm e.s.m$ ; n=6; P < 0,05).....17

## LISTE DES SIGLES ET DES ABBRÉVIATIONS

<b>coll.</b>	: Collaborateur
<b>e.s.m</b>	: écart type standard en moyenne
<b>FGF</b>	: fibroblast growth factor
<b>g</b>	: gramme
<b>IGF1</b>	: insulin growth factor 1
<b>LPGPC</b>	: Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie
$\bar{\mathbf{m}}$	: moyenne
<b>MEC</b>	: matrice extracellulaire
<b>Mm</b>	: millimetre
<b>mm<sup>2</sup></b>	: millimetre carré
<b>P</b>	: Pourcentage
<b>PDGF</b>	: platelet-derived growth factor
<b>R</b>	: Rendement
<b>SER</b>	: Sérotonine
<b>TGF<math>\beta</math></b>	: beta transforming growth factor
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	: alpha tumor necrosis factor
<b>UV</b>	: Ultra-Violet
<b>VEGF</b>	: vascular epidermal growth factor
<b>°C</b>	: Degrés Celsius
<b>%</b>	: Pourcent

# **INTRODUCTION**

## I. INTRODUCTION

La peau est un tissu souple et résistant qui recouvre le corps. Grâce à sa continuité et la résistance des cellules de la couche cornée à l'abrasion, elle constitue une barrière physique ou mécanique. Les glycolipides imperméabilisent l'épiderme et bloquent la diffusion de l'eau et des substances hydrosolubles à travers la peau, aussi bien de l'extérieur vers l'intérieur que l'inverse. Tandis que la continuité de la peau et le film hydrolipidique acide qui la recouvre ainsi que les macrophages, qu'elle referme, protègent l'organisme contre les invasions bactériennes au niveau de la peau. La mélanine sécrétée par les mélanocytes protège l'organisme contre les effets néfastes des rayons UV. Le derme est parcouru par des vaisseaux sanguins, ce qui lui permet de jouer un rôle important dans la régulation de la température et de réservoir sanguin. Grâce à son pouvoir métabolique, elle est capable de transformer le cholestérol dans la peau en vitamine D, en présence de rayons UV. Enfin, grâce à la graisse dans les adipocytes, l'hypoderme constitue une réserve d'énergie pour l'organisme (MARIEB E. N., 2010).

Vu ces différents rôles joués par la peau, son intégrité est primordiale. Or en cas de blessure, sa continuité est rompue avec une perte de substances. Cependant, cette rupture est réparée spontanément pour reconstituer la peau, c'est la cicatrisation. Elle commence juste après le traumatisme et se termine en quelques jours ou semaines selon la surface et la profondeur de la plaie (DRENO B., 2009). Elle se déroule en 5 étapes: la phase vasculaire, la phase inflammatoire, la phase de granulation, de l'épithélialisation et enfin la phase de remodelage.

Lorsque la blessure touche un vaisseau, le sang coule, et pour éviter une hémorragie le vaisseau se contracte, ainsi la vitesse d'écoulement de sang diminue pour faciliter la formation du caillot qui va obstruer la brèche au niveau du vaisseau lésé. Cette vasoconstriction locale est due à la sérotonine libérée par les plaquettes activées lors de la blessure. En outre, cette lésion vasculaire, met à nu l'endothélium qui entre en contact avec la plaquette entraînant l'agrégation plaquettaire, bouchant momentanément la brèche au niveau du vaisseau. Ensuite une cascade de réactions a lieu et aboutit à la formation de clou plaquettaire qui arrête temporairement le saignement (GACHET C., 2013). L'arrêt définitif du saignement est assuré par le caillot formé lors de la coagulation. La thrombine transforme le fibrinogène en fibrine et les fibrines renforcent le clou plaquettaire et vont ensuite se cristalliser pour former le caillot sanguin (GACHET C., 2013).

Les plaquettes activées lors de l'hémostase libèrent de l'histamine et constituent une source essentielle de cytokines, qui sont des médiateurs pro-inflammatoires assurant le recrutement

des cellules inflammatoires au niveau de la lésion. La phase inflammatoire a pour objectif de nettoyer la plaie en éliminant les bactéries et les débris provenant des tissus lésés par phagocytose. Elle est caractérisée par la rougeur et l'œdème au niveau de la berge de plaie et l'exsudat au niveau de sa surface. L'histamine provoque une vasodilatation, qui augmente la perméabilité vasculaire et favorise l'exsudation extra vasculaire qui se manifeste extérieurement par l'œdème au niveau de la berge de la plaie et l'exsudat au niveau de sa surface (CRICKX B., 2005). L'exsudat contient des protéines, il assure la dilution des substances toxiques, l'apport en oxygène et en nutriments nécessaires à la réparation tissulaire et enfin le transport des agents inflammatoires par les monocytes vers la lésion, grâce à leur capacité de phagocytose, nettoient la plaie.

Lorsque la plaie est nettoyée, un réseau vasculaire indifférencié se forme. Ce réseau se présente sous forme de bourgeons, au niveau de la surface de la plaie, ce qui donne le nom de phase de bourgeonnement à cette phase. Le tissu de granulation est riche en cellules endothéliales, les macrophages, lymphocytes, et les fibroblastes. Ces cellules migrent vers la lésion et forme la matrice extracellulaire. Et cette migration est assurée par les cytokines libérés par la plaquette comme "l'insulin growth factor 1" (IGF1), le "transforming growth factor  $\beta$ " (TGF $\beta$ ), le "tumor necrosis factor  $\alpha$ " (TNF $\alpha$ ) et le "platelet-derived growth factor" (PDGF). Ces substances stimulent la prolifération des fibroblastes, la production de collagène et plus généralement la formation du tissu de granulation. Des autres cytokines comme le FGF et le VEGF stimulent aussi la migration, la prolifération des fibroblastes et la synthèse d'une nouvelle matrice extracellulaire (MEC). D'autre part, les fibroblastes des parties non lésées migrent vers cette matrice et forme aussi le tissu de granulation.

Les cellules endothéliales favorisent la prolifération des fibroblastes. Et les fibroblastes produisent des mucopolysaccharides qui servent à l'élaboration de fibres de collagène de la nouvelle matrice (ERTZSCHEID M.D. et coll., 2012). Cette matrice de collagène sert de trame au capillaire et aux cellules qui vont former le tissu de granulation (DIANES S. C., 2012).

Ensuite un tissu épithélial se forme à la surface de la plaie à partir des cellules basales intactes qui se trouvent au niveau de la berge des plaies ou autour des annexes cutanées intactes. Lorsque la plaie est recouverte par ce tissu, la croûte tombe. Et enfin, durant la phase de remodelage et la maturation de cicatrice, le collagène type III synthétisé lors de la phase proliférative devient du collagène de type I, sous l'action de l'enzyme collagénase. Ce collagène solidifie les cellules épidermiques et assurent leur maturation (JULIE V., 2006).

Plusieurs facteurs ou de substances peuvent inhiber ce processus de cicatrisation et entraînent le retard de la régénération du tissu lésé. Comme le tabagisme qui provoque une vasoconstriction grâce à la nicotine, il diminue le flux sanguin et l'apport en oxygène nécessaire à la réparation des tissus lésés (SILVERSTEIN P., 2002). La malnutrition peut perturber aussi le processus de cicatrisation. Comme la carence en vitamine C, entraîne une diminution de la production de collagène par les fibroblastes et perturbent l'angiogenèse (AGBESSI H. D. et DAMON M., 1987). Et la carence en arginine, entraîne une diminution de dépôt de collagène au niveau de la plaie (MASANOVIC M., 2009). Les médicaments immunosuppresseurs inhibent la prolifération des lymphocytes et atténuent la réaction immunitaire, prolongeant ainsi la phase inflammatoire et empêche l'installation de la phase proliférative (MSEDDI M., 2006).

Quoique la plaie se reconstitue spontanément la peau, un cicatrisant accélère la cicatrisation et la fermeture de la plaie. Par exemple, la Néo-cuti géno<sup>l</sup>®, pommade désinfectant, agit dans la phase de détersion en inhibant la croissance bactérienne (BECHAUX S. et coll., 2006). Des pansements peuvent aussi être utilisés pour traiter la plaie (BUSTAMANTE K., 2007). D'autres types de cicatrisant comme les hydro colloïdes agissent dans la phase de bourgeonnement et épithélisation en formant un gel au contact de la plaie pour faciliter le renouvellement des tissus lésés ainsi que la formation de tissu de granulation (FOIT M. 2013). Parmi ces pansements hydro-colloïdes, on peut citer les Duoderm®, Tegisorb®, Cutinova® et Comfeel®. Une autre approche des produits cicatrisants est de stopper le saignement rapidement. Les alginates de calcium font partie de cette catégorie de médicament. Ils forment un gel au niveau de l'exsudat pour arrêter le saignement (JULIE V., 2006). Enfin, les hydro-cellulaires, sous forme de mousse agissent sur la détersion des plaies en jouant un rôle antibactérien (JULIE V., 2006).

En plus de ces cicatrisants élaborés par l'industrie pharmaceutique, les plantes médicinales continuent à être utilisées pour soigner les plaies.

Parmi elles, à Madagascar, les feuilles fraîches d'*Ageratium conizoides* L. vern: bemaambo (ASTERACEAE); *Siegesbeckia orientalis* L. vern: satrikoazamaratra (ASTERACEAE); *Abrus precatorius* L. vern: voanaintilany (FABACEAE) sont broyées et utilisées sous forme de cataplasme pour accélérer la cicatrisation quel que soit leur origine (NICOLAS J. P., 2012).

Au Cameroun, la population utilise *Zea mays* Linn (POACEAE); *Syzyglum aromaticum* (MYRTACEAE); *Cylicodiscus gabonensis* (FABACEAE) et *Chromolaena odorata*

(ASTERACEAE) dans la cicatrisation des plaies. Leurs feuilles fraîches sont broyées et appliquées directement sur la plaie ouverte (NGENE J. P. et coll., 2015).

D'après les enquêtes que nous avons effectuées auprès de la population et des tradipraticiens à Miadanandriana district de Manjakandriana, les feuilles fraîches de la plante que nous avons choisie sont broyées et la pâte est appliquée directement pour soigner la plaie ouverte. Selon eux, elle limite la perte du sang en cas d'une blessure et soulage la douleur qui accompagne cette blessure. Ces données nous ont incités à étudier l'effet de cette plante sur les différentes phases de la cicatrisation. Pour étudier l'activité de l'extrait, il a été testé *in-vivo* sur des plaies ouvertes expérimentales chez le rat. Ses effets sur les différentes phases de la cicatrisation ont été observés ainsi que son effet sur la vitesse de contraction.

**MATÉRIELS**

**ET**

**MÉTHODES**

## II. MATÉRIELS ET MÉTHODES

### A- PARTIE CHIMIQUE

#### 1. Préparation de l'extrait

Les feuilles de la plante utilisées dans ce travail ont été récoltées à Miadanandriana, district de Manjakandriana, le mois de novembre 2016. Les feuilles ont été séchées à l'ombre dans une salle aérée, à la température ambiante, pendant 6 semaines. Deux cent grammes de feuilles sèches ont été broyées à l'aide d'un broyeur à marteau (BROOK CROMPTON® série 2000) au Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie, à la Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

La poudre obtenue a été macérée dans un mélange éthanol-eau (60:40), à la température ambiante, pendant 3 jours en agitant tous les jours. Le macérât a été filtré sur du coton hydrophile et le filtrat a été évaporé à l'aide d'un distillateur à la température de 80 °C puis dans un bain-marie à la température de 100 °C jusqu'à l'obtention d'un extrait sec. L'extrait obtenu a été codé AT-92, puis pesé et le rendement a été calculé selon la formule:

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse de l'extrait}}{\text{Masse de la poudre macérée}} \times 100$$

#### 2. Criblage phytochimique

Un criblage phytochimique a été effectué sur l'extrait AT-92 pour déterminer les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait. Des réactifs spécifiques ont été utilisés, ces réactifs réagissent avec les familles chimiques correspondantes et donnent un précipité ou provoquent un changement de coloration (FONG H. H. S. et coll., 1997) (Tableau I).

Les signes suivants ont été utilisés pour représenter la teneur de la famille chimique contenue dans l'extrait:

+++ : Présence en forte quantité

++ : Présence en moyenne quantité

+ : Présence en faible quantité

± : Présence en très faible quantité

**Tableau I.** Les tests utilisés pour déterminer les familles chimiques présentes dans l'extrait AT-92 (FONG H. H. S. et coll., 1997).

Familles chimiques	Tests	Réactifs	Observations
ALCALOÏDES		DRAGENDORFF, MAYER, WAGNER	Précipitation
TANINS		Gélatine + NaCl	Précipitation verte
		Gélatine + FeCl <sub>3</sub> Méthanol	Précipitation bleue
COMPOSÉS PHENOLIQUES		Gélatine 1%	Précipitation
STÉROÏDES ET TRITERPÈNES	LIERMAN BURCHARD	Anhydride acétique + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Coloration violette
	BADGET KEDDE	Acide picrique	Coloration rouge
	SALKOWSKI	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Anneau de séparation rouge
FLAVONOÏDES	WIL-STATER	Ruban de Mg + HCl concentré	Coloration rouge
LEUCOANTHOCYANES	BATH-SMITH	HCl concentré+bain marie	Coloration rouge violacée
ANTHOCYANES		HCl à froid	Coloration rouge
POLYSACCHARIDES		+ 3Volumes d'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) après 30mn

## **B- PARTIE PHARMACOLOGIQUE**

Notre objectif a été d'étudier l'effet de l'extrait AT-92, sous forme de crème contenant 10 % de l'extrait AT-92, sur une plaie ouverte expérimentale chez le rat. Ses effets sur les différentes phases de la cicatrisation ont été étudiés et la vitesse de la contraction des plaies a été calculée.

### **1. Animaux d'expérimentation**

Des rats de souche WISTAR des 2 sexes, âgés de 8 semaines et pesant entre 150 et 200 g ont été utilisés. Ces animaux ont été élevés au sein de l'animalerie du Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie (LPGPC), Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, avec un cycle de lumière et d'obscurité de 12/12 heures et à la température de 20 °C environ. Ils ont été nourris avec de la provende CPO AGRIVAL ®, et ont eu accès libre à de l'eau.

### **2. Préparation des animaux**

Pour étudier l'activité de l'extrait AT-92, la partie dorsale de ces animaux, au niveau de la région scapulaire, de part et d'autre de la colonne vertébrale a été épilée. Une cire épilatoire tiède a été étalée au niveau de la partie à épiler, à l'aide d'une spatule en bois, dans le même sens de la pousse des poils. Ensuite, une bande épilatoire a été appliquée sur la cire et tirée dans le sens contraire de la pousse des poils. Enfin la partie épilée a été nettoyée avec de l'eau savonneuse.

Vingt-quatre heures après l'épilation, les animaux ont été anesthésiés par inhalation avec de l'éther diéthylique. Puis deux plaies circulaires ont été créées sur la partie épilée à l'aide d'un dispositif tranchant circulaire de 10 mm de diamètre.

### **3. Préparation de la crème avec 10 % de l'extrait AT-92 et de la crème de base**

Les cicatrisants se présentent sous différentes formes, et l'extrait AT-92 a été appliqué sous forme de crème à 10 % sur les plaies ouvertes expérimentales. Pour étudier ses effets sur les différentes phases de la cicatrisation. Cette crème a été préparée à partir d'une crème de base « eau dans l'huile ».

### a. Préparation de la crème de base

La crème utilisée dans ce travail est de type eau dans huile dont la phase aqueuse est dispersée et la phase grasse dispersante. La phase aqueuse a été constituée d'eau distillée et de bicarbonate de sodium comme conservateur. Tandis que la phase grasse a été constituée d'huile d'olive, de cire d'abeille comme épaississant, d'acide stéarique comme émulsifiant et stabilisant, et enfin d'alcool stéarique comme épaississant lipophile (Tableau II).

**Tableau II.** Composition de 140 g de la crème de base.

Phases	Ingrédients	Quantité	Rôles des ingrédients
Aqueuse	eau distillée	300 ml	
	bicarbonate de sodium	100 mg	Conservateur
Grasse	huile d'olive	600 ml	
	cire d'abeille	23 mg	Epaississant
	acide stéarique	3 mg	Emulsifiant et stabilisant
	alcool stéarique	3 mg	Epaississant lipophile

La cire d'abeille a été râpée puis placée dans un récipient en inox placé dans un bain marie maintenu à la température de 80 °C pour la faire fondre. Lorsque la cire a été fondue, l'huile d'olive, l'acide stéarique et l'alcool stéarique ont été versés dans ce récipient, et le mélange a été chauffé à 80 °C. Dans un autre récipient, l'eau distillée et le bicarbonate ont été chauffés dans un bain marie maintenu à la température de 80 °C. Ensuite la phase aqueuse a été versée petit à petit dans la phase grasse en fouettant sans arrêt jusqu'à l'obtention d'une crème stable (DALLY L. I. et coll., 2007).

### b. Préparation de la crème à 10 % de l'extrait AT-92

Pour préparer la crème contenant 10 % d'extrait AT-92. Quatorze grammes de l'extrait AT-92 ont été incorporés dans 126 g de crème de base, en mélangeant avec une batteuse électrique pour obtenir une crème homogène.

#### **4. Etude de l'effet de l'extrait AT-92 sur les différentes phases de la cicatrisation**

L'effet de l'extrait AT-92 a été étudié en l'appliquant sous forme de crème à 10 %, directement sur des plaies ouvertes expérimentales, une fois par jour à la même heure. Avant d'appliquer la crème, la plaie a été nettoyée. Un coton imbibé d'eau a été placé sur la plaie pour ramollir la croûte, ensuite celle-ci a été enlevée doucement à l'aide d'une coton tige imbibée d'eau, et la plaie a été nettoyée avec de l'eau savonneuse. Enfin, la plaie a été séchée à l'aide d'un papier buvard.

L'effet de cette crème sur la cicatrisation a été étudié en observant ses effets sur les différentes phases de la cicatrisation.

##### **a. Etude de l'effet de l'extrait AT-92 sur l'hémostase**

Les animaux ont été répartis en 2 lots: 1 lot témoin et 1 lot traité avec l'extrait. Tout de suite après la création de la plaie, 10 mg de crème de base ont été appliqués sur les plaies des animaux du lot témoin, et 10 mg de crème contenant 10 % de l'extrait AT-92 ont été appliqués sur les plaies des animaux du 2<sup>ème</sup> lot. La durée de saignement de ces plaies a été chronométrée. Puis le temps d'apparition de la croûte a également été observé chez les plaies des deux lots.

##### **b. Etude de l'effet de l'extrait AT-92 sur la phase inflammatoire**

Pour étudier l'effet de l'extrait AT-92, il a été appliqué une fois par jour sur les plaies ouvertes expérimentales chez le rat, à raison de 10 mg par jour, et par plaie. La durée de la phase inflammatoire chez les plaies traitées avec l'extrait a été notée et comparée avec celle des animaux témoins.

##### **c. Etude de l'effet de l'extrait AT-92 sur la phase de prolifération**

L'activité de l'extrait AT-92 sur la phase de prolifération a été évaluée en l'appliquant sur des plaies ouvertes, une fois par jour. Le temps d'apparition des granulations au niveau de la surface des plaies traitées avec l'extrait a été noté, et comparé à celui des plaies témoins. Le nombre de ces granulations ont également été compté et comparé à celui des plaies des animaux témoins.

#### **d. Etude de l'effet de l'extrait AT-92 sur la phase d'épithélialisation**

L'effet de l'extrait AT-92 sur la phase d'épithélialisation a été étudié sur l'apparition de l'épithélium qui recouvre la surface de la plaie. Le temps d'apparition de ce tissu épithélial a été noté chez les plaies traitées avec l'extrait et comparé avec celui des plaies témoins.

#### **5. Etude de l'effet de l'extrait AT-92 sur la fermeture des plaies**

La crème contenant 10 % d'extrait AT-92 a été appliquée 1 fois par jour sur des plaies ouvertes expérimentales. Les plaies ont été nettoyées une fois par jour, puis observées et leur surface a été mesurée par planimétrie directe. Un papier millimétré transparent a été placé directement sur la plaie, et le contour de la plaie a été tracé sur le papier à l'aide d'un crayon à pointe fine, et le nombre de carreaux dans ce tracé a été compté (BENSEGUENI A. et coll., 2007).

#### **6. Etude de l'effet de l'extrait AT-92 sur la vitesse de cicatrisation**

Tous les jours à la même heure, jusqu'à la fermeture complète de la plaie. La plaie a été nettoyée et sa surface a été mesurée par la méthode de planimétrie directe, puis la vitesse de sa cicatrisation a été calculée selon la formule:

$$V = \frac{S - S'}{T - t}$$

S : Surface de la plaie lors de la dernière mesure (mm<sup>2</sup>)

S' : Surface de la plaie à la dernière mesure (mm<sup>2</sup>)

T-t : Intervalle de temps entre les deux mesures (jours)

(LECOMPTE N., 1916)

### **C- EXPRESSION ET ANALYSES DES RÉSULTATS**

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyennes avec écart type réduit. Ces moyennes ont ensuite été comparées entre elles en utilisant le test 't' de Student, avec un degré de signification P < 0,05.

# **RESULTATS**

### III. RÉSULTATS

#### A- PARTIE CHIMIQUE

##### 1. Rendement de l'extraction

Après extraction, filtration et évaporation à sec du macérât préparé avec 200 g de poudre de la plante, 47 g d'extrait sont obtenus, soit un rendement de 23,5 %.

##### 2. Résultats du criblage phytochimique

L'extrait AT-92 contient des alcaloïdes, des anthocyanes, des leuco anthocyanes, des triterpènes et des sucres réducteurs en grande quantité. Par contre, les tanins et les composés phénoliques sont présents en quantité moyenne. Enfin, les flavonoïdes sont présents en faible quantité dans l'extrait AT-92 (Tableau III).

**Tableau III.** Les familles chimiques présentes dans l'extrait AT-92.

Familles chimiques	Quantité
ALCALOÏDES	+++
ANTHOCYANES	+++
LEUCOANTHOCYANES	+++
TRITERPÈNES	+++
SUCRES REDUCTEURS	+++
COMPOSÉS PHENOLIQUES	++
TANINS	++
FLAVONOÏDES	+

## B- PARTIE PHARMACOLOGIQUE

### 1. Effet de l'extrait AT-92 sur les différentes phases de la cicatrisation

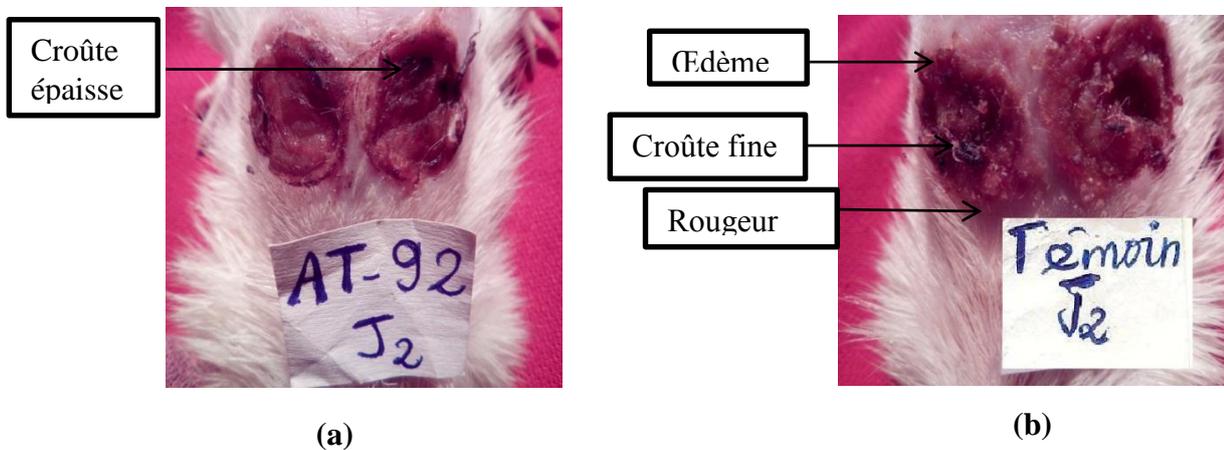
#### a. Effet de l'extrait AT-92 sur l'hémostase

L'application de l'extrait AT-92 sous forme de crème, accélère l'hémostase. Il diminue la durée de saignement des plaies à  $55,75 \pm 4,44$  secondes chez les plaies traitées avec l'extrait, contre  $118,25 \pm 9,87$  secondes chez les plaies témoins ( $P < 0,05$ ).

En outre, la croûte se forme au 2<sup>ème</sup> jour d'application (J1) chez le lot traité avec l'extrait contre au 3<sup>ème</sup> jour (J2) à ceux du lot témoins.

#### b. Effet de l'extrait AT-92 sur la phase inflammatoire

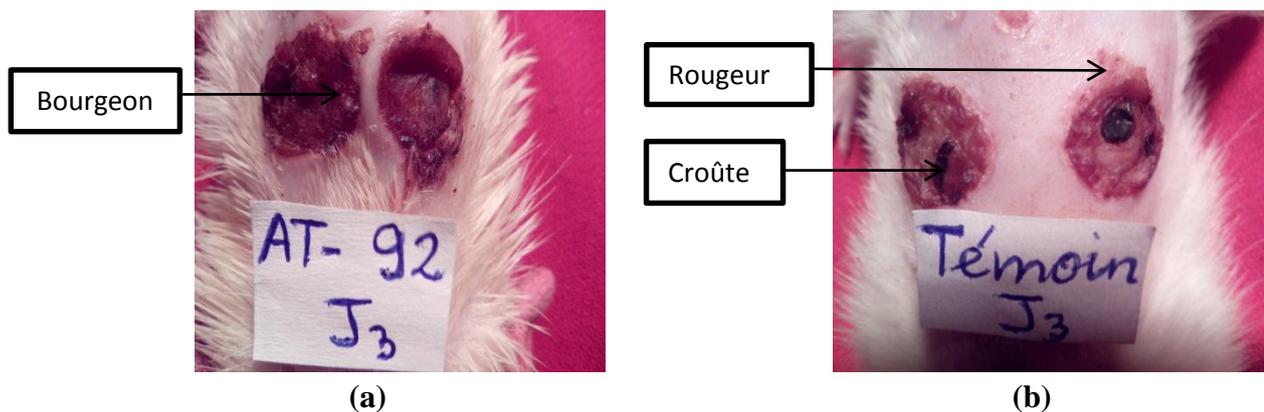
Après la création de la plaie, de la rougeur et de l'œdème apparaissent au niveau de la berge de la plaie, et de l'exsudat au niveau de sa surface. Ces signes caractérisent la phase inflammatoire. Ils sont moins importants chez le lot traité avec l'extrait AT-92 par rapport à ceux du lot témoin. Après 3 jours d'application (J2) de la crème, les plaies traitées avec l'extrait ne présentent plus, ni œdème, ni rougeur au niveau de la berge, ni exsudat au niveau de la surface des plaies. Par contre, la rougeur et l'œdème persistent jusqu'au 6<sup>ème</sup> jour (J5) chez le lot témoin ayant reçu de la crème de base (Figure 1).



**Figure 1.** Plaies au 3<sup>ème</sup> jour de traitement chez les 2 lots, avec une croûte épaisse chez les plaies traitées avec la crème contenant 10 % de l'extrait AT-92 (a), et une croûte fine avec de la rougeur et œdème au niveau de la berge chez le lot témoin (b).

### c. Effet de l'extrait AT-92 sur la phase de prolifération

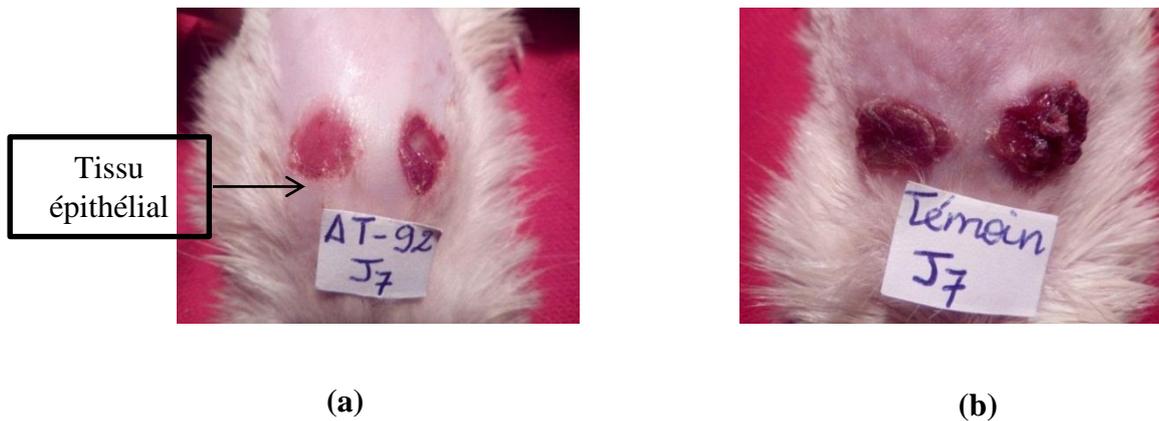
La phase de prolifération est caractérisée par l'apparition des granulations au niveau de la surface des plaies. L'application de la crème contenant 10 % d'extrait AT-92 accélère leur apparition, et le nombre de bourgeons sur les plaies traitées avec l'extrait est supérieur à celui des témoins. Elles commencent à apparaître au 7<sup>ème</sup> jour d'application (J6) de la crème chez les témoins, dont le nombre de granulations est égal à  $29 \pm 0,32$ . A ce jour-là, le nombre de granules est égal au  $27 \pm 0,31$  chez le lot traité avec l'extrait. Par contre chez le lot traité avec l'extrait, elles apparaissent au bout de 4<sup>ème</sup> jour (J3), avec  $50 \pm 0,41$  de bourgeons ( $P < 0,05$ ).



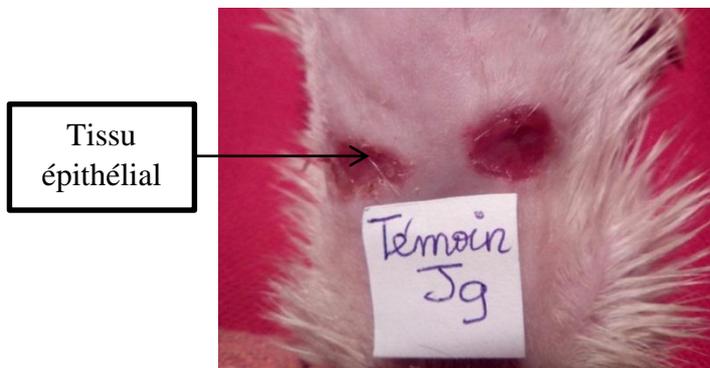
**Figure 2.** Plaies au 4<sup>ème</sup> jour de traitement, temps d'apparition de bourgeon chez le lot traité avec la crème contenant 10 % de l'extrait (a) et absence chez le lot témoin ayant reçu de la crème de base (b).

#### d. Effet de l'extrait AT-92 sur l'épithélialisation

La phase d'épithélialisation est caractérisée par l'apparition du tissu épithélial de couleur rose qui couvre les plaies, à la place de la croûte. Ce tissu apparaît au 8<sup>ème</sup> jour (J7) de la création des plaies chez les plaies traitées avec l'extrait AT-92, contre au 10<sup>ème</sup> jour (J9) chez les plaies témoins (Figure 3 et 4). Ce tissu se forme à partir de la berge des plaies et migre vers le centre.



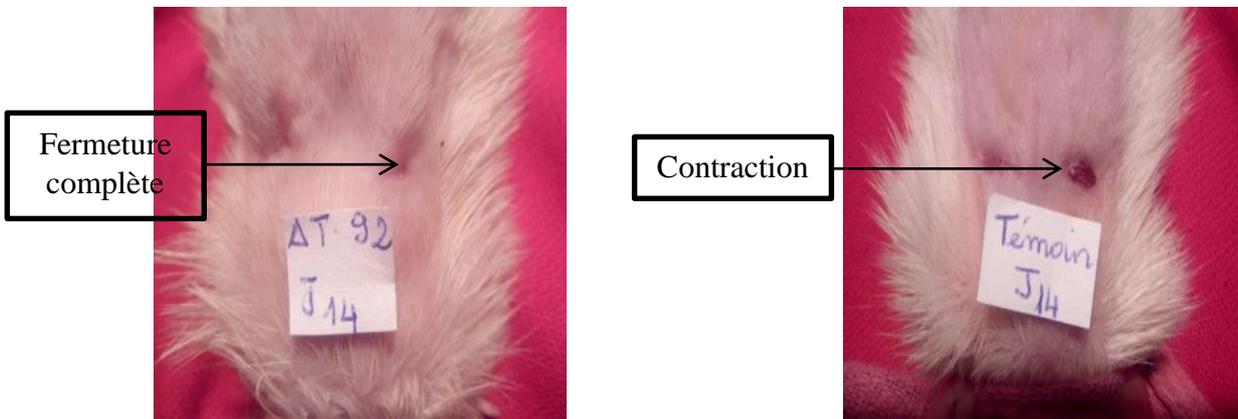
**Figure 3.** Apparition du tissu épithélial au 8<sup>ème</sup> jour (J7) chez le lot traité avec la crème contenant 10 % de l'extrait AT-92 (a), et absence chez le lot témoin ayant reçu de la crème de base (b).



**Figure 4.** Apparition de tissu épithélial chez les plaies témoins au 10<sup>ème</sup> jour d'application (J9) de la crème de base.

### e. Effet de l'extrait AT-92 sur la fermeture de la plaie

L'application quotidienne de l'extrait AT-92 sur les plaies ouvertes expérimentales accélère leur fermeture. Celles traitées avec la crème se ferment au bout de 15 jours (J14) contre 21 jours (J20) chez les plaies témoins (Figure 5 et 6).



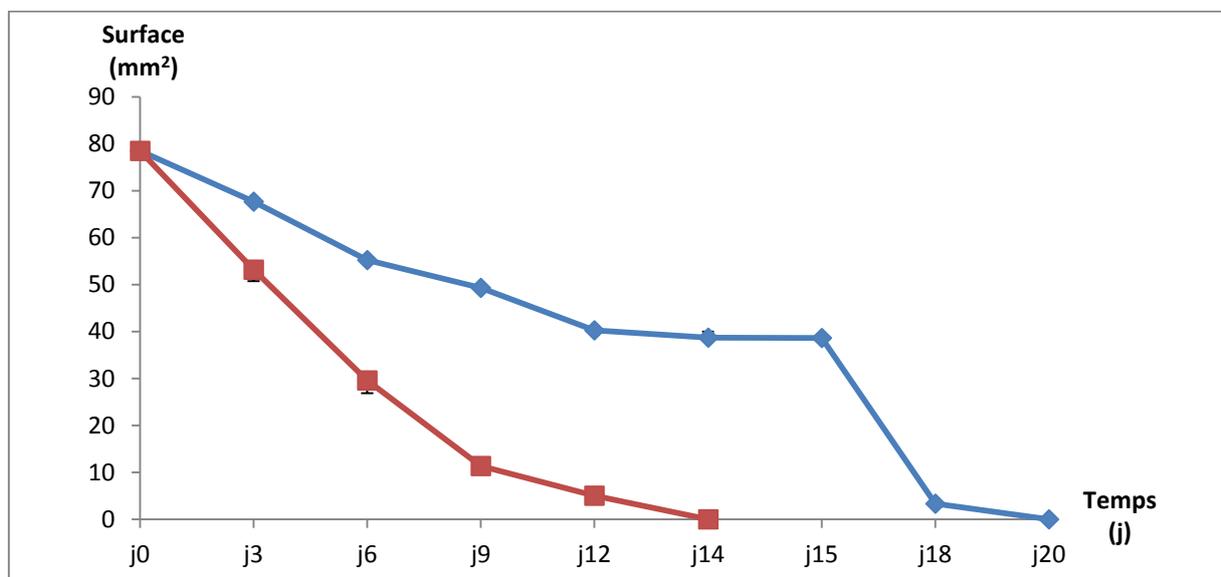
**Figure 5.** Fermeture complète de la plaie au 15<sup>ème</sup> jour d'application de la crème contenant 10 % de l'extrait AT-92 chez le lot traité (a) et contraction chez le lot témoin ayant reçu de la crème de base (b).



**Figure 6.** Fermeture complète des plaies chez le lot témoin au 21<sup>ème</sup> jour d'application de la crème de base.

## 2. Effet de l'extrait AT-92 sur la contraction de la plaie

La crème contenant 10 % de l'extrait AT-92 accélère la fermeture des plaies par rapport aux plaies traitées avec la crème de base. Elles se ferment au bout de 15<sup>ème</sup> jour d'application (J14) de la crème contenant l'extrait AT-92 chez le lot traité. Par contre, elles se ferment au 21<sup>ème</sup> jour d'application (J20) de la crème de base chez les lots témoins. (Figure 7).

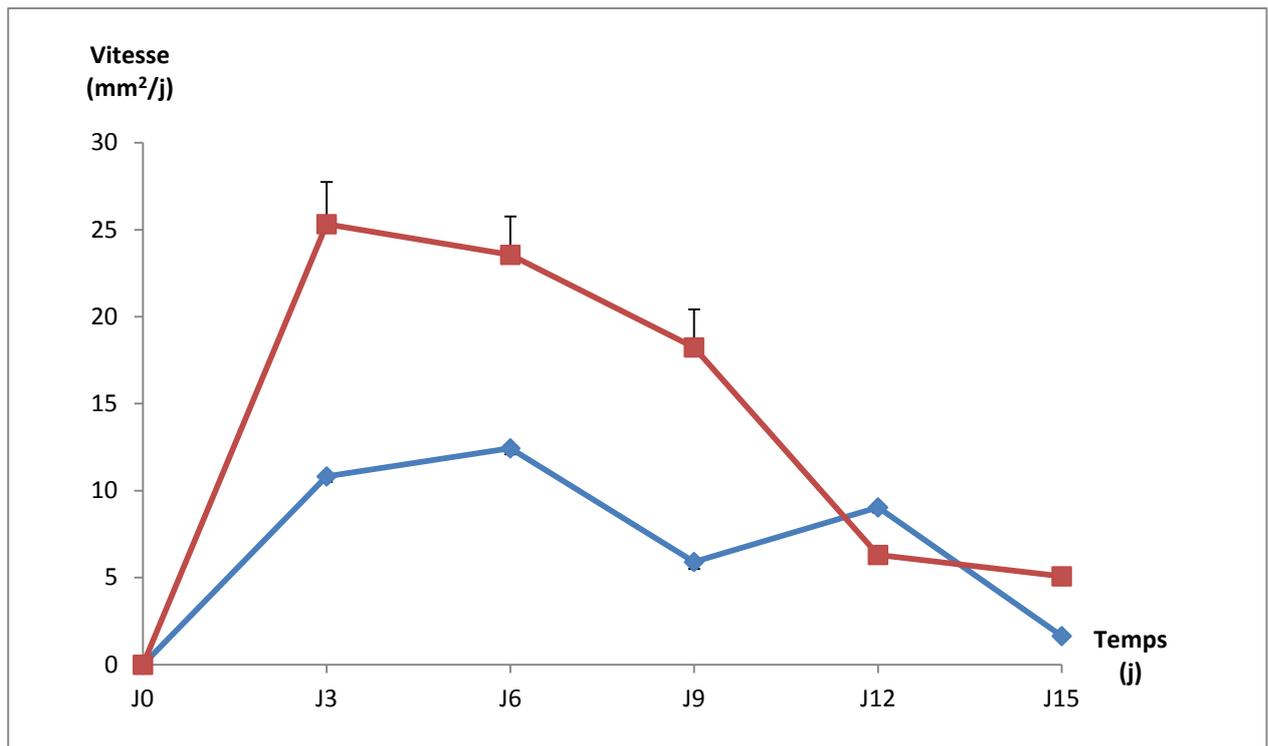


**Figure 7.** Variation de la surface des plaies traitées avec la crème contenant 10% de l'extrait AT-92 (■) et celle du lot témoin (◆) ( $\bar{m} \pm e.s.m$ ; n=6 ; P < 0,05).

## 3. Effet de l'extrait AT-92 sur la vitesse de cicatrisation

L'analyse de la vitesse de cicatrisation des plaies traitées avec l'extrait montre qu'elle est plus rapide que celle des plaies témoins. Elle est maximale au 4<sup>ème</sup> jour (J3) chez les animaux traités avec l'extrait AT-92, contre 7<sup>ème</sup> jours (J6) chez le lot témoin.

Au 3<sup>ème</sup> jour, la vitesse maximale de contraction des plaies est égale à  $25,32 \pm 2,43$  mm<sup>2</sup>/j chez les rats traités avec la crème contenant l'extrait AT-92. Par contre, cette vitesse maximale est atteinte au bout de 6 jours chez le lot non traité. Sa valeur est égale à  $10,83 \pm 0,37$  mm<sup>2</sup>/j (P < 0,05) (Figure 8).



**Figure 8.** Variation de la vitesse de cicatrisation chez le lot traité avec la crème contenant 10% de l'extrait AT-92 ( ■ ) et celle du lot témoin traité avec la crème de base ( ◆ ) en fonction de temps ( $\bar{m} \pm e.s.m$ ;  $n=6$  ;  $P < 0,05$ ).

# **DISCUSSION**

#### IV. DISCUSSION

Notre objectif a été d'étudier l'effet de l'extrait AT-92 sur la plaie ouverte expérimentale sous forme de crème à 10 % chez le rat.

L'application de la crème contenant 10 % de l'extrait AT-92 diminue la durée du saignement et accélère la formation de la croûte. La croûte n'est autre que du caillot séché, elle protège la plaie contre l'agression extérieure et les agents pathogènes externes. Car l'infection de la plaie retarde sa cicatrisation (FOLKMAN J. et SHING Y., 1992). L'analyse phytochimique d'AT-92 révèle la présence de tanins. On peut avancer que ces composés seraient à l'origine de son activité hémostatique comme ceux trouvés dans l'extrait de *Prosopis africana* (FABACEAE) (EZIKE A. C. et coll., 2010).

La phase inflammatoire se caractérise par l'apparition de la rougeur, l'œdème au niveau de la berge et de l'exsudat au niveau de sa surface. Ces signes disparaissent plus tôt chez les plaies traitées avec la crème contenant 10 % de l'extrait AT-92 par rapport au lot témoin. La phase inflammatoire a pour objectif de nettoyer par phagocytose la plaie en éliminant les bactéries et les débris provenant des tissus lésés (LE TOUZE A. et ROBERT M., 1993). Il se peut que les tanins présents dans l'extrait empêchent le développement des bactéries, qui a pour conséquence d'empêcher l'apparition de l'inflammation. La reconstitution de la peau pourrait alors commencer rapidement. Cette hypothèse est basée sur les résultats obtenus avec l'extrait de *Sclerocarya birrea* (ANACARDIACEAE), dont les tanins inhibent la croissance bactérienne ce qui a eu pour effet de diminuer la durée de la phase inflammatoire (SEREME A. et coll., 2008).

Après la phase de détersion, la réparation tissulaire débute avec l'apparition de tissu de granulation. Ce tissu est constitué de fibroblastes, de myofibroblastes, de collagène et de néo vaisseaux (CRICKX B., 2005). Les capillaires néo formés qui se trouvent dans les granules assurent l'apport en éléments nutritifs et en oxygène nécessaire aux divisions cellulaires qui ont lieu dans la zone lésée afin d'assurer la réparation des plaies. Ce qui expliquerait la formation d'un bourgeon charnu qui comble la lésion tissulaire et l'épithélialisation des plaies traitées avec l'extrait avant celle des animaux témoins (DERMACHEZ M. et coll., 1987). L'apparition de ces granules est due à la prolifération des fibroblastes qui est accélérée par AT-92 grâce aux triterpènes qu'il contient. Des résultats similaires ont été rapportés avec l'extrait total de *Centella asiatica* (vern: talapetraka)

(APICEAE) dans le cas de madicassoside ou de l'asiaticoside qui accélère la formation de tissus de granulation (BOITEAU P., 1986).

Enfin, l'extrait AT-92 accélère la fermeture de la plaie où les fibroblastes présents dans les granulations se transforment en myofibroblastes contractiles; ce qui accélère le rapprochement des berges de la plaie (LE TOUZE A. et ROBERT M., 1993). L'apparition tardive du tissu de granulation expliquerait le retard de la fermeture des plaies témoins.

L'effet de l'extrait sur la réparation des plaies expérimentales pourrait être dû aux tanins et aux triterpènes qu'il contient. Mais pour être sûr des molécules responsables de cette activité, ainsi que de leur mécanisme d'action, il est nécessaire d'isoler et d'identifier ces molécules. Les études ultérieures consisteraient à purifier cet extrait afin de pouvoir étudier les mécanismes mis en jeu dans son activité sur la réparation tissulaire.

# **CONCLUSION**

## **V. CONCLUSION**

La crème contenant 10 % de l'extrait AT-92 accélère la cicatrisation de la plaie expérimentale. Elle diminue la durée de saignement, raccourcit la durée de la phase inflammatoire. Elle accélère l'apparition du tissu de granulation et l'épidermisation. Cette activité pourrait être due à la présence des tanins et du triterpène contenus dans l'extrait.

# **BIBLIOGRAPHIE**

## **BIBLIOGRAPHIE**

AGBESSI H. D., DAMON M. (1987).

Manuel de Nutrition Africaine: Elément de Base Appliqué.

*Ed. Karthala, Amazon (France), 133-135.*

BECHAUX S., EGASSE-BROCA I., FILEET M., GALLAY I., ROUDIL F., ROSTAIN G., TOUBEL G. (2006).

Etude de l'intérêt en monothérapie d'une émulsion hydratante à base de *Centella asiatica* dans la composante rétionnelle, inflammatoire et cicatriciel de l'acné modérée.

*Ed. Nouv. Dermatol.*, 31 rue Sommeiller (Paris), (25): 671-674.

BENSEGUENI A., BELKHIRI A., BOULEBDA N., KECK G. (2007).

Evaluation de l'activité cicatrisante d'un onguent traditionnel de la région Constantine sur les plaies d'excision chez les rats.

*Sci. Technol.*, (26): 83 - 87.

BOITEAU P. (1986).

Précis de matière médicinale malgache. Plante médicinale de Madagascar.

*Ed. Karthala, Amazon (France), 37-61.*

CRICKX B. (2005).

Les grandes fonctions de la peau.

*Ann. Dermatol. Venereol.*, (132)s: 8S<sub>3-48</sub>.

DAILLI L. I., COULIBALY S., ANGNIMEL L. H., BAMBA M. (2007).

Formulation, contrôle galénique, toxicologique et essai biogalénique d'une crème à activité cicatrisante à base de fraiche de *Baphia nitida* (PAPILIONACEAE).

*J. Sci. Pharm. Biol.*, **8**(1): 3-34.

DERMARCHEZ M., HARTMANN D., HERBAGE D., VILLE C., PRUNIERAS M., (1987).

Wound healing of human skin transplanted onto the nude mouse. An immunohistological and ultrastructural study of the epidermal basement membrane zone reconstruction and connective tissue reorganization.

*Dev Biol.*, **121**(1): 119 – 29.

DIANE S. C. (2012).

Soins des plaies, l'hyper granulation, un obstacle à la cicatrisation des plaies. Perspective infirmière.

*Ed. DIANE St-Cyr, Montréal (Canada), 51-53.*

DRENO B. (2009).

Anatomie et Physiologie de la peau et de ses annexes.

*Ann. Dermatol. Venereol.*, (136): S247-S251

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

Medicinal Plants used in wound care: A study of *prophis africana* (FABACEAE) stems bark.

*Ind. J. Pharm., Sci.*, **72**: 334-339.

FOIT M. (2013).

La cicatrisation favorisée par les huiles essentielles.

Mémoire pour le certificat hypocratus de conseilles des huiles essentielles, Plessis-Trevisse, 10-11.

FOLKMAN J., SHING Y. (1992).

Angiogenesis.

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

FONG H. H. S., TINWAN, FARNSWORTH N. R. (1977).

Phytochemical Screening.

*Rev. Pharmacol. College of Pharmacy University of Illinois, Chicago (USA)*, 275-277.

GACHET C. (2013).

Molecular mechanisms of platelet activation.

*Bull. Acad Natle Med.*, **197**(2): 361-373.

JULIE V. (2006).

Le soin des plaies: Principes de bases.

*Inf. M. Sci.*, 1-53.

LECOMTE N. (1916).

Temps biologique et cicatrisation des plaies.

*Ed. Parrochia D. Université Jean Moulin - Lyon III*, 12-17.

LE TOUZE A., ROBERT M. (1993).

La cicatrisation et la cicatrice.

*Ed. Chirurgicales Pédiatriques* (Strasbourg), 1-10.

MARIEB E.N. (2010).

Anatomie et physiologie humaines.

8<sup>ème</sup> *Ed.* © Editions du Renouveau pédagogique (Valais), 172.

MASANOVIC M. (2009).

Principales causes des retards de cicatrisation.

2<sup>ème</sup> *Ed.* Kane D, FELLIN (New Work) 8-20.

MSEDDI M. (2006).

La cicatrisation.

*Ed. Hassen H. B.* Service de dermatologie-sfax (Tunisie) 46-50.

NGENE J. P., NGOULE C. C., POUKA KIDIK C. M., MVOGO-OTTO P.B., NDJIB R.C.,  
DIBON S. D. (2015).

Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïde vendues dans le  
marché du Douala Est (Cameroun).

*J. App. Biosc.*, **17**: 5-12.

NICOLAS J. P. (2012).

Plantes médicinales du Nord de Madagascar.

*Ed. Jardins du monde* (France), 8-14.

SEREME A., Millongo-RASOLODIMBY J., GUINKO S., NACRO M. (2008).

Propriétés thérapeutiques des plantes à tanin du Burkina Faso.

Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaine, **15**: 41-49.

SILVERSTEIN P. (1992).

Smoking and Wound Healing.

*Am. J. Med.*, **93**: 22-24.

.

# ETUDE DE L'ACTIVITE CICATRISANTE DE L'EXTRAIT

## AT-92 CHEZ LE RAT

**Auteur** : RASOLOFOMANANA

Andry Tokiniaina

**Année** : 2016 - 2017

**Adresse:** C.U Ankatso 2 Tanambao

Bloc DII Porte 01

**Rapporteur:** Mr RANDIMBIVOLOLONA

Fanantenanirainy Professeur Titulaire

**Laboratoire:** Laboratoire de Pharmacologie

Générale, de Pharmacocinétique et de

Cosmétologie

**B.P:** 8357

**E-Mail** : [frandimbi@gmail.com](mailto:frandimbi@gmail.com)

**Domaine des sciences et technologies**

**Université d' Antananarivo**

### RÉSUMÉ

L'objectif de ce travail a été d'étudier l'effet de l'extrait AT-92 sur la plaie ouverte expérimentale en l'appliquant sous forme de crème chez le rat de souche Wistar. Une plaie de 10 mm de diamètre a été créée, la surface a été mesurée par planimétrie directe pour calculer la vitesse de cicatrisation, et l'effet de l'extrait sur les différentes phases de cicatrisation a été observé tous les jours.

La crème contenant l'extrait réduit la durée de saignement à  $55,75 \pm 4,44$  secondes chez les plaies traitées, contre  $118,25 \pm 9,87$  secondes chez les plaies témoins ( $P < 0,05$ ). La phase inflammatoire dure 3 jours chez les plaies traitées avec l'extrait contre 5 jours chez les plaies témoins. Le tissu de granulation apparaît au 4<sup>ème</sup> jour d'application (J3) chez les plaies traitées avec l'extrait, contre 7<sup>ème</sup> jour (J6) chez les plaies témoins. L'application de la crème augmente la vitesse de contraction, elle est égale  $25,32 \pm 2,43$  mm<sup>2</sup>/j chez les plaies traitées, contre  $10,11 \pm 0,53$  mm<sup>2</sup>/j chez les plaies témoins. Les plaies traitées avec l'extrait se ferment complètement au 15<sup>ème</sup> jour d'application (J14) contre au 21<sup>ème</sup> jour (J20) chez les plaies témoins. Ces différents effets montrent que l'extrait possède une activité cicatrisante. Et ce sont les tanins et les triterpènes soient responsables.

Mots clés: cicatrisant, inflammation, granulation, rat.

### Abstract

The objective of this work was to study the effect of extract AT-92 on wound healing while applying it in the form of cream in rat of Wistar stock. A wound of 10 mm of diameter was created and its surface was measured by direct planimetry to calculate the wound healing rate, the effect on the different phase wound healing was observed and the time of closing of the wound was noted. The cream with the extract reduces the duration of bleeding with at value  $55.75 \pm 4.4$  seconds versus  $118.25 \pm 9.87$  seconds in the control group ( $P < 0.05$ ). It also reduces the inflammatory phase at 3 days in the wounds treated with the extract versus wound 4 days in the control group. The granulations appear at the 4<sup>th</sup> day of application (J3) for the wounds treated with the extract, versus 7<sup>th</sup> day (J6) in the control group. The application for the cream increases the speed of contraction, at  $25.32 \pm 2.43$  mm<sup>2</sup> per day in the treated wounds, versus  $10.11 \pm 0.53$  mm<sup>2</sup> per day in the control group ( $P < 0.05$ ). The wounds treated with the extract are closed completely at the 15<sup>th</sup> day of application (J14) versus 21<sup>th</sup> (J20) in the control group. These various effects show that for these extract AT-92 has a healing activity. And the tannins and terpens are responsible.

Key words: healing, ignition, granulation, rat.