



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Blida -1-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie et agroécologie

Laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques de Biotechnologie

Mémoire de Fin d'Etudes

Pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie

Option : « Biotechnologie et valorisation des plantes »

Thème :

**Etude de l'activité cicatrisante de deux plantes la consoude
Symphytum officinale et la ronce *Rubus fruticosus* et formulation
d'une crème traitante**

Soutenue le : 23/06/2022.

Présenté par :

- ALIKECEM Roumaïssa Chourouk
- BOUKADER Ouafa

Devant le jury :

Mme BELGUENDOZ.R	MCA	Université Blida 01	Promotrice
Mme GHANAI.R	MAA	Université Blida 01	Présidente
Mme ARRAR.K	MCA	Université Blida 01	Examinatrice

Année 2021-2022

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage, et les moyens afin de pouvoir pour accomplir ce travail et surmonter l'ensemble des difficultés réaliser ce travail, et toute chance d'étudier et de suivre le chemin de la science.

*C'est avec un grand plaisir que nous adressons nos sincères remerciements à notre promotrice **Mme Belguendouz R** maître de conférences A, qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, et pour ces conseils judicieux*

*Nous remercions également **Mme Ghanai R** maître assistante à l'université de Saad Dahleb de Blida d'avoir accepté de présider le jury*

*Nous remercions **Mm Arrar K** maître assistante à l'université Saad Dahleb de Blida d'avoir accepter d'examiner ce modeste travail*

Nous réservons une pensée spéciale à tous les enseignants du département de biotechnologie qui ont su nous donner une formation didactique et appréciable durant tous notre cursus

Un grand remerciement à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet

DÉDICACES

Je remercie dieu le tout puissant de m'avoir donné la volonté d'entamer ce travail

Je dédie ce travail

A mes chères parent « MOURAD et KHADIDJA »

que dieu vous protège , merci pour votre grande pousse et votre encouragement durant mes études, vous êtes la prunelle de mes yeux

A mon âme sœur « RAJAA » et mes frères « AYOUB et HAMZA » ,

que dieu vous garde à moi , je vous souhaite plein de joie et la réussite, je vous aime

A toute ma famille mon cousin et mes cousines

qui m'ont aidé , soutenu , encouragé au long de mes études

A mes amies « MALAK, MARIA, FELA, NESRINE »

merci pour le beau temps que nous avons passé ensemble plein de joie et de folie , que ce travail soit l'expression de mon grand amour

A ma chère binôme « CHOUROUK »

pour les années d'étude passées que nous avons passé ensemble à rire, à stresser, à étudier, et beaucoup d'amusement et sincérité

A tous mes collègues et mes amis de la promo

Enfin, à tous ceux qui m'aiment et qui ont une place dans mon cœur

BOUKADER OUAFI HIBA

DÉDICACES

Je remercie dieu le tout puissant de m'avoir donné la volonté d'entamer ce travail

Avec tout mon amour éternel avec l'intensité de mes émotions. Je dédie ce mémoire

A «ma mère AHLEM »

pour tous ses efforts , ses conseils et les moments qu'elle a consenti afin de me voir réussir

A mes chers « grand parent MOURAD et AKILA»

que dieu vous garde à moi et vous protège , je vous souhaite une bonne santé , une vie pleine de joie

A mes chères tantes « FADIA et MAHDIA »

merci pour vos conseils et vos bénédictions

A mon demi père « ABDENOUR »

que je considère comme mon vrai père, symbole de soutien moral, m'ayant témoigné tous l'aide dont j'avais besoin au cours de mon cursus universitaire que dieu me le garde

A mes frères « KAKI, WASSIM, ADEM, YUCEF » et sœur « AYA »

que dieu vous protège et vous offre une vie pleine de réussite

A mes chères amies « CHICHI, IKRAM, LINA, FELA »

pour tous les moments inoubliables qu'on a passé ensemble et leurs encouragements et soutiens

A mon chère binôme OUAFA

pour les années d'étude passées que nous avons passé ensemble à rire, à stresser, à étudier, et beaucoup d'amusement et sincérité

A tous mes collègues et amis de la promo

A tous ceux qui m'aiment, ceux qui m'ont aidé de près ou de loin

ALI KACEM CHOUROUK

RÉSUMÉ

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales, notre présente étude avait pour but d'évaluer l'activité cicatrisante de deux extraits polyphénoliques de *Symphytum officinale* et *Rubus fruticosus* par obtention avec un rendement de 1,21% et 1,78%. L'étude phytochimique de *Symphytum officinale* et *Rubus fruticosus* a révélé des métabolites secondaires en flavonoïdes et les polyphénols. L'étude quantitative de l'extrait polyphénolique au moyen des dosages spectrophotométriques qui permet de déterminer la teneur totale des polyphénols et des flavonoïdes, a révélé des taux élevés et variables qui sont respectivement de 91,34 mg/g, 154,14 mg/g d'extrait et 22,83mg/g, 30,8mg/g d'extrait. Le pouvoir cicatrisant qui consiste à l'application des pommades à base des extraits testés sur des plaies préalablement provoquées sur le cuir des lapins, montre une très bonne activité cicatrisante de traitement à base d'extrait de consoude par rapport aux produits de référence (médicament, vaseline) et celle des plaies non traitées.

Mots clé : plantes médicinales, *Symphytum officinale*, *Rubus fruticosus*, polyphénols, activité cicatrisante.

ABSTRACT

In the context of the valorization of medicinal plants, our present study aimed to evaluate the healing activity of two polyphenolic extracts of *Symphytum officinale* and *Rubus fruticosus* by maceration in a 70% hydro-ethanoic solution with a yield of 1.21 % and 1.78. First, we proceed with a phytochemical study of *Symphytum officinale* and *Rubus fruticosus*. The results recorded revealed a composition rich in secondary metabolites were flavonoids and polyphenols. The quantitative study of the polyphenolic extract by means of spectrophotometric assays which makes it possible to determine the total content of polyphenols and flavonoids revealed high and variable rates which are respectively 91.34 mg/g, 154.14 mg/ g of extract and 22.83mg/g, 30.86% extract. The healing power which consists in the application of ointments based on the test extracts on previously caused wounds on the backs of rabbits shows a very good healing activity of treatment based on comfrey extract compared to reference products (medicine, petroleum jelly) and that of untreated wounds.

Keywords: medicinal plants, *Symphytum officinale*, *Rubus fruticosus*, polyphenols, healing activities.

المخلص

في سياق تثمين النباتات الطبية، الهدف من دراستنا الحالية تقييم فعالية الشفاء لمستخلصين بوليفينول من *Rubus fruticosus* و *Symphytun officinale* عن طريق النقع في محلول مائي إيثاني بنسبة 70٪ مع عائد 1.21٪ و 1.78. ننتقل أولاً إلى دراسة كيميائية نباتية لـ *Rubus fruticosus* و *Symphytun officinale*. أظهرت النتائج المسجلة وجود تركيبة غنية بالمستقبلات الثانوية مثل مركبات الفلافونويد والبوليفينول. كشفت الدراسة الكمية لمستخلص البوليفينول باستخدام المقياسات الطيفية التي تجعل من الممكن تحديد المحتوى الكلي للبوليفينول والفلافونويدات عن معدلات عالية ومتغيرة وهي على التوالي 91.34 غ/مغ ، 154.14 غ/مغ من المستخلص و 22.83 غ/مغ ، 30.86٪ من المستخلص. تظهر قوة الشفاء التي تتمثل في تطبيق المراهم بناءً على مستخلصات البوليفينولات على الجروح التي سبقت حدوثها على ظهر الأرانب نشاطاً جيداً للشفاء يعتمد على مستخلص السنفيتون مقارنة بالمركبات المرجعية (الطب ، الفازلين) وتلك الموجودة في الجروح غير المعالجة.

الكلمات المفتاحية: النباتات الطبية، *Rubus fruticosus* ، *Symphytun officinale* ، البوليفينول ، الأنشطة العلاجية.

Liste des abréviations

Abs : Absence

C1 : Première Concentration

C2 : Deuxième Concentration

Coll : Collaborateurs

Cp : centipoises

H/E : Huile / Eau

FL : Flavonoïdes

M ext : Masse de l'extrait de plante

M séchée : Masse séchée de plante

PPT : Polyphénols

R : Rendement

SM : Spectrophotomètre

SNV : Science de la nature et la vie

Tm (-) : Témoin négatif

Tm (+) : Témoin positif

UV : ultra-violet

UFC : Unité Formatrice de Colonie

Liste des figures

Figure 1 : Schéma représente la classification des composés phénoliques	5
Figure 2 : Acide hydroxy-benzoïque	6
Figure 3 : Structure acide hydroxy-cinnamique	6
Figure 4 : Squelette de base flavonoïdes	7
Figure 5 : Structure des flavonols	8
Figure 6 : Structure des flavones	8
Figure 7 : Structure des flavanones	9
Figure 8 : La grande consoude	10
Figure 9 : Image de consoude	11
Figure 10 : Fleur et feuille de la consoude	12
Figure 11 : Ronce <i>Rubus fruticosus</i>	15
Figure 12 : Organe de la ronce, feuille, fleur, fruit	16
Figure 13 : Anatomie de la peau	17
Figure 14 : Coupe de peau (l'épiderme)	19
Figure 15 : La consoude et la ronce (originale)	24
Figure 16 : Lapins expérimentaux	25
Figure 17 : Extraction de polyphénol	26
Figure 18 : Méthode de préparation de traitement par les extraits obtenus et le témoin vaseline	30
Figure 19 : Méthode d'affection des plaies	32

Figure 20 : Extraction de l'hydrolat par hydro distillation	33
Figure 21 : Processus de formulation de la crème cicatrisante industriel	34
Figure 22 : Méthode de formulation d'une crème cicatrisante a base d'extrait de consoude en industrie	35
Figure 23 : L'extrait polyphénolique des deux plantes	37
Figure 24 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage de polyphénols totaux	38
Figure 25 : Courbe d'étalonnage de la quercétine	38
Figure 26 : Pommade à base d'extrait de Ronce et de Consoude, de mélange des deux plantes et de la pommade Madecassol	39
Figure 27 : Plaies du lot 1 au cours de cicatrisation/ extrait de consoude (lot 1)	41
Figure 28 : Plaies au cours de cicatrisation / extrait de deux plantes (lot 2)	42
Figure 29 : Plaies au cours de cicatrisation /par l'extrait poly phénolique de ronce	43
Figure 30 : Les plaies au cours de cicatrisation du lot 4 (vaseline)	45
Figure 31 : Les plaies au cours de la cicatrisation du lot 4 (Madecassol).....	45
Figure 32 : Plaies au cours de cicatrisation du lot 5	45
Figure 33 : Profil sensoriel de la crème formuler	49

Liste des tableaux

Tableau 1 : Propriété biologique de quelque composés phénoliques	9
Tableau 2 : Classification botanique de la consoude	10
Tableau 3 : Classification botanique de la ronce	14
Tableau 4 : Application des traitements	31
Tableau 5 : Résultats des caractéristique organoleptiques et le rendement des PPT totaux 37	37
Tableau 6 : Teneur en polyphénols	38
Tableau 7 : Des tests sensoriels de la pommade	39
Tableau 8 : Résultats des traitements durant 15 jours/Lot 1/consoude (C1 et C2)	40
Tableau 9 : Résultats des traitements durant 15 jours/Lot 1/consoude (C1 et C2)	41
Tableau 10 : Résultats des traitements par les polyphénols de la ronce (C1 et C2) durant 15 jours/ lot 3	42
Tableau 11 : Résultats des traitements après 15 jours/ lot 4/témoins (Madecassol et vaseline)	44
Tableau 12 : Les résultats de la formulation de la crème cicatrisante	48
Tableau 13 : Analyses microbiologiques de la crème le jour de formulation.....	49

SOMMAIRE

INTRODUCTION

.....

1

Chapitre I : Synthèse bibliographique..... 4

I.1. Les composés phénoliques4

I.1.1. Définition.....4

I.1.2. Les polyphénols.....4

I.2. Les principales classes de composés phénoliques5

I.2.1. Les acides phénoliques5

I.2.2. Acide hydroxy-benzoïques.....6

I.2.3. Acide hydroxy-cinnamique.....6

I.2.4. Les flavonoïdes.....7

I.2.4.1. Nature et origine des flavonoïdes7

I.2.4.2. Structure des flavonoïdes.....7

I.2.4.3. Classification des flavonoïdes8

I.3. Présentation de plantes étudiées10

I.3.1. La grande consoude (*Symphytum officinale*).....10

I.3.1.1. Histoire de l'utilisation de la consoude en phytothérapie.....10

I.3.1.2. Classification botanique de la consoude.....	10
I.3.1.3. Description botanique de la consoude	11
I.3.1.4. Composition chimique de la consoude.....	12
I.3.1.5. Place de la consoude dans les phytothérapies	13
I.4. La ronce <i>Rubus fruticosus L</i>.....	14
I.4.1. Histoire de l'utilisation de la ronce en phytothérapie	14
I.4.2. Classification botanique.....	14
I.4.3. Description botanique	15
I.4.4. Composition chimique de la ronce.....	16
I.4.5. Place de la ronce dans la phytothérapie	17
I.5. La peau et la cicatrisation.....	17
I.5.1. La peau	17
I.5.2. Le rôle de la peau.....	17
I.5.3. Structure de la peau	18
I.5.3.1. L'épiderme	18
I.5.3.2. Le derme	19
I.5.3.3. L'hypoderme	19
I.5.4. La plaie.....	20
I.5.5. Cicatrisation	20
I.5.6. Les étapes de la cicatrisation de la peau.....	20
I.6. Les médicaments utilisés pour soigner les plaies.....	21

Chapitre II : Matériels et méthodes	23
II.1. Matériels	24
II.1.1. Matériels biologiques.....	24
II.1.1.1. La plante	24
II.1.1.2. Les lapins	24
II.1.2. Matériels non biologiques	25
II.2. Méthodes.....	26
II.2.1. Extraction polyphénols.....	26
II.2.2. Dosage de polyphénols totaux.....	27
II.2.3. Dosage des flavonoïdes	28
II.2.4. Formulation de la pommade à base d'extrait de plante.....	28
II.2.4.1. Méthode de préparation d'une pommade traitante	28
II.2.4.1.1. Dilution de l'extrait de la consoude.....	28
II.3. Étude de l'activité cicatrisante.....	30
II.4. Formulation d'une crème cicatrisante	32
II.4.1. Extraction de l'hydrolat de consoude	32
II.4.2. Formulation de la crème cicatrisante avec la meilleur dose (3g d'extrait/100g de solvant) et la plante qui a montré un meilleur effet cicatrisant	33
II.4.3. Procédure de la fabrication.....	34
II.4.4. Contrôle du produit finis.....	35
Chapitre III : Résultats et discussion.....	37

III.1. Extraction de polyphénols totaux	37
III.1.1. Caractéristiques organoleptiques et le rendement	37
III.1.2. Teneur des extraits en polyphénols totaux.....	37
III.1.3. Résultats Dosage des flavonoïdes totaux	38
III.1.4. Caractéristiques organoleptiques des pommades traitantes.....	39
III.1.5. Résultat de l'activité cicatrisante	40
III.1.6. Discussion.....	46
III.2. Formulation d'une crème cicatrisante	48
III.2.1. Extraction de hydrolats de consoude.....	48
III.2.2. Caractéristiques organoleptiques de la crème cicatrisante	48
III.2.3. Analyses microbiologiques	49
Conclusion et perspectives	50
Références bibliographiques	52
Annexes	57

Introduction

La phytothérapie, la connaissance et l'usage des plantes médicinales (entières ou extraits), est une science très ancienne qui constitue un vrai patrimoine de l'être humain, obtenu de l'évolution de savoirs animaux dont l'origine nous échappe encore. Les progrès en physique et en chimie permettent l'extraction et la mise en évidence des principes actifs de certains végétaux. On parvient ainsi à identifier de nombreuses molécules utilisées encore aujourd'hui (la morphine de l'opium du pavot, la colchicine du colchique, la théobromine du cacao, la coumarine). L'étude de la chimie des plantes est toujours d'actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives à intérêts multiples en alimentation, en cosmétologie et en pharmacologie. Ces molécules constituent une immense ressource pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments de synthèse utilisés dans le traitement de nombreuses maladies. [1].

L'Algérie a une superficie de 2 381 741 km² et présente des caractéristiques bioclimatiques variables en raison de sa situation géographique, induisant une diversité variétale en PAM utilisées comme condiments, aliments naturels et à des fins thérapeutiques. Les plantes aromatiques et les plantes médicinales occupent une place importante dans l'économie nationale et jouent un rôle important. Ils sont utilisés dans différents domaines : industrie alimentaire, conserverie, pharmacie et phytothérapie [2]. Une plante est dite « médicinale » lorsqu'elle est inscrite à la Pharmacopée, selon la définition de la pharmacopée française (11^e édition en vigueur) : « Les plantes médicinales sont des médicaments à base de plantes qui, aux mauvais endroits, ont un effet préventif ou thérapeutique sur maladies humaines ou animales [3].

En effet, Une plante médicinale, contrairement à une plante « classique » possède donc des principes actifs responsables d'une action thérapeutique, leur action provient de leur composition chimique (métabolites primaires et secondaires) ou des synergies entre les différents composés présents mais aussi responsables d'effets indésirables appelés toxicité, tout comme les médicaments chimiques [4].

Les plantes médicinales constituent un groupe de plantes ayant une grande importance socio-économique car elles contiennent des composants actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies. On peut les estimer à environ 700 espèces pour le monde entier. Parmi les plantes médicinales d'Algérie, nous avons choisie deux plantes utilisées dans la médecine traditionnelle locale qui sont : La consoude (*Symphytum officinale* : Rhamnacée) et la ronce (*Rubus fruticosus* : Rutacée) dont le but d'étudier leur activité cicatrisante afin de les valoriser dans le domaine phyto-thérapeutique qui n'est pas très abordé dans la recherche scientifique [5]

Ces plantes sont largement utilisées en médecine populaire pour leurs propriétés thérapeutiques. Selon la littérature, la ronce a des propriétés Antibactériennes, anoxydantes, anti-inflammatoires, digestives et dermatologiques et la consoude a des propriétés thérapeutiques comme hypotenseur, anti troubles pulmonaires et des voies aériennes, contre les maladies de la peau, anti-inflammatoire et antiseptique. La bibliographie a mentionné que *Rubus fruticosus* est plus riche en composés phénoliques et en flavonoïdes par rapport à *Zizyphus vulgaris* avec une activité antiinflammatoire plus importante comparable à celui de l'indométacine [6]. D'autre espèces du même genre *Zizyphus lotus* et *Rubus peregrina* riche en flavonoïdes et phénols totaux ont montré une bonne activité antioxydante [7].

Pour réaliser ce travail, le principe de la méthodologie nous oblige à le scinder en deux parties : la première partie, comprend une revue bibliographique succincte sur les composés phénoliques, les principales caractéristiques des deux espèces : *Symphytum officinale* et *Rubus fruticosus* et des rappels sur la structure de la peau et la cicatrisation. La deuxième partie renferme le travail expérimental consacrée à la présentation du matériel et des méthodes utilisées suivi de la présentation des résultats et discussion et se termine par une conclusion.

Chapitre I : Synthèse
bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Les composés phénoliques :

I.1.1. Définition :

Les composés phénoliques sont des composés phytochimiques très courants dans le règne végétal, synthétisés par les plantes pour assurer des fonctions non essentielles, mais comme ils ne peuvent pas être synthétisés naturellement par leurs organismes, ils font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale. A ce jour, plus de 100 000 métabolites secondaires ont été identifiés, présents dans des compartiments spécifiques ou sur des durées de vie spécifiques. Contrairement aux métabolites primaires, ils ne sont pas directement impliqués dans le développement des organismes (généralement des plantes), ils sont un composé organique intermédiaire [7] et impliqués dans la vie végétale, ils ont des rôles variés [8]. Ces métabolites secondaires ont des effets allélopathiques qui affectent la survie de l'organisme et sont classés en plusieurs groupes selon leurs voies de biosynthèse : composés phénoliques, terpènes, composés azotés, hétérosides [7]. Ces composés se trouvent dans toutes les parties des plantes mais distribués selon leurs rôles défensifs.

I.1.2. Les polyphénols :

Les polyphénols sont des composés aromatiques, également appelés composés phytochimiques ou phytonutriments, qui constituent le groupe le plus important et le plus répandu du règne végétal, avec plus de 8000 structures phénoliques connues [9]. Ils sont présents dans tous les organes de la plante et considérés comme des micronutriments végétaux et constituent les pigments responsables de la coloration automatique des feuilles ainsi que de la couleur des fruits et des fleurs. Ils sont des composés aromatiques sans azote d'acides aminés aromatiques : la phénylalanine, en particulier la tyrosine et le tryptophane [11]. Leurs structures forment un groupe très diversifié de composés qui diffèrent par le nombre et l'ordre des cycles aromatiques (C6, C1), caractérisés par la présence de cycles aromatiques avec des groupements hydroxyle libres ou liés à des sucres [12]. Les acides phénoliques sont des composés qui ont des propriétés antioxydants pouvant contribuer à prévenir l'apparition de plusieurs maladies (cancers, maladies cardiovasculaires et maladies liées au vieillissement) en neutralisant les radicaux libres de

l'organisme [13], et des diverses propriétés physiologiques comme les activités anti-inflammatoire, antivirale, antibactérienne, anti-carcinogénique [14].

On peut les classer en quatre grands groupes :

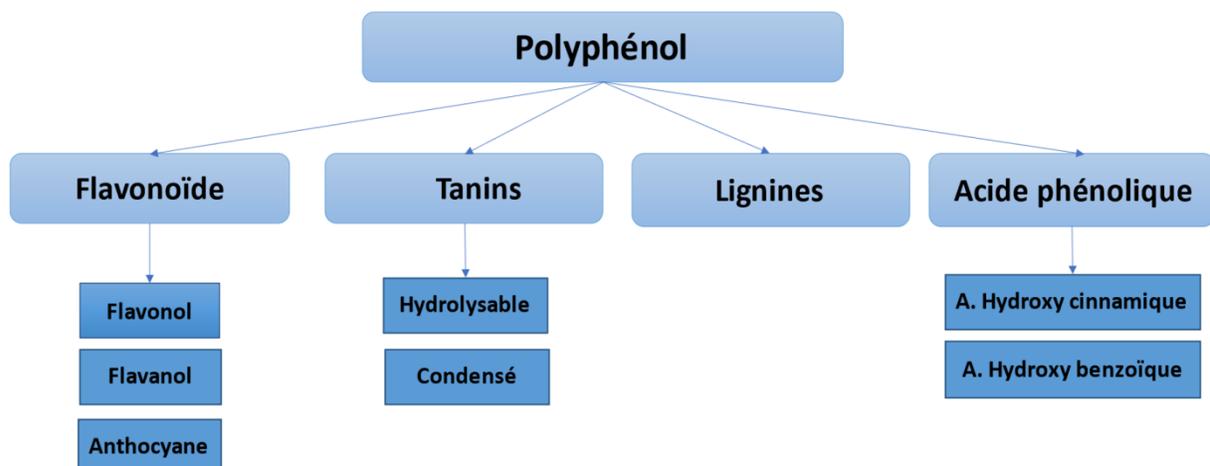


Figure 1 : Schéma représente la classification des composés phénoliques[11]

I.2. Les principales classes de composés phénoliques :

I.2.1. Les acides phénoliques :

Un acide phénolique est une molécule partie de métabolite secondaires sont des molécules organiques participent dans le système de défense de la plante [14]. C'est un composé à faible poids moléculaire sont considérer comme les polyphénols les plus simples sont de 9 atomes de carbone possédant au phénolique cette fonction se définit par un noyau aromatique benzénique substitué par moins fonction carboxylique et un hydroxyle une un groupe hydroxyle qui peut être méthyles, acylés ou glycolyses [15].

I.2.2. Acide hydroxy- benzoïques :

Ils sont des acides phénols dérivés de l'acide benzoïque, constitué du 7 atome de carbone. Les acides hydroxy benzoïques (**Figure 2**) existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides, les formes plus abondantes sont : acide benzoïque, acide vinylique, acide salicylique, acide gallique, acide syringique, acide gneissique, acide protocatechique [10].

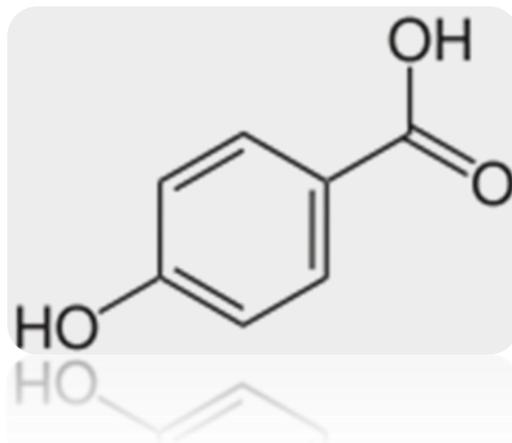


Figure 2 : Acide hydroxy-benzoïque

I.2.3. Acide hydroxy cinnamique :

L'acide phénol, dérivé de l'acide cinnamique constitué des 9 atomes de carbone, est un composé biochimique existant se forme combine avec des molécules organiques. [10]

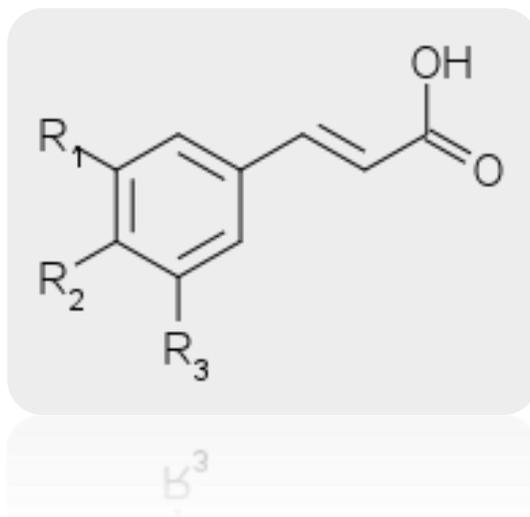


Figure 3 : structure acide hydroxy cinnamique [10]

I.2.4. Les flavonoïdes :

I.2.4.1. Nature et origine des flavonoïdes :

Flavonoïde est dérivé du mot "Flavus" en latin, qui signifie couleur jaune [14]. Ces flavonoïdes proviendraient du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange [16]. Ils sont des composés phénoliques présent au niveau des plantes comprenant au moins 6500 molécules (Stöckigt et al, 2002). Ils sont présents chez toutes les plantes vasculaires et la plupart des bryophytes.

Les aglycones sont plutôt présents sous forme de cire dans les feuilles, les écorces et les bourgeons. Ils sont localisés dans divers organes de la plante : la cuticule foliaire et les cellules épidermiques pour assurer la protection de la plante contre les rayonnements ultraviolets B et posséder même des activités antifongique et antioxydants [15].

I.2.4.2. Structure des flavonoïdes :

Ils sont des molécules de 15 atomes de carbones forment des structures C₆ C₃ C₆ (figure 4), de type benzo-γ-pyrone de deux noyau aromatique relié par à port hétérocyclique oxygéné à 3C et relié par 2 noyaux A et B, Le flavonoïde présent se forme glycoside son classement des flavonoïdes basé sur le degré d'insaturation [18]

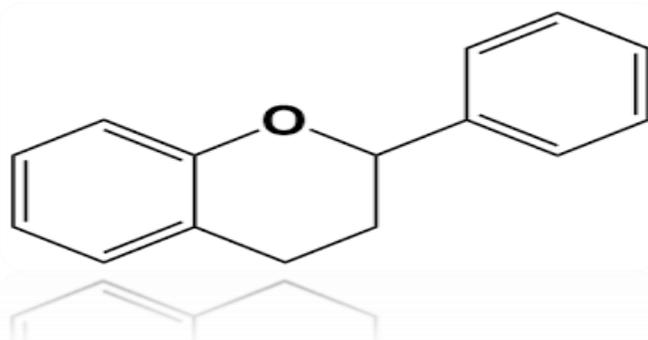


Figure 4 : squelette de base flavonoïdes [19].

I.2.4.3. Classification des flavonoïdes :

D'après [20] les flavonoïdes sont classés comme suit :

a. Les flavonols :

Ce sont les composés les plus abondants dans les composés flavonoïques. Ils possèdent un grand pouvoir antioxydant, de structure 2-phényl-2,3-dihydro-hydroxy-chromone et se différencient des flavones par la présence d'un OH en Co [19].

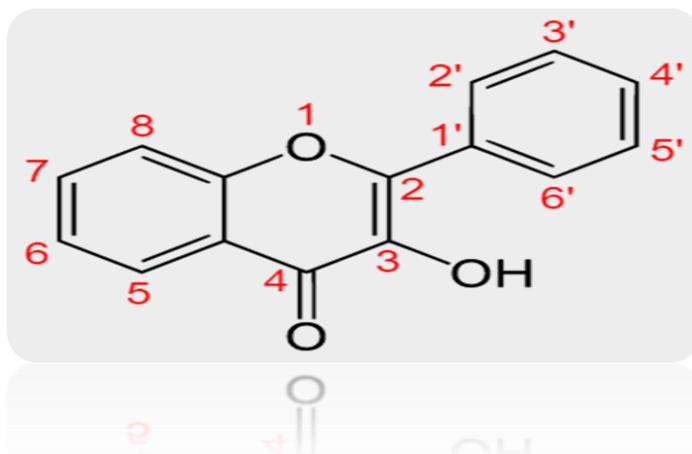


Figure 5 : Structure des flavonols

b. Les flavones :

Ce sont des composés organiques, dérivés de 1-benzopyran-4-one, qui dérivent des flavanones par une oxydation qui introduit une seconde double liaison dans l'hétérocycle saturé. Ils sont des composés incolores se forment de cristaux solubles sans l'eau [19].

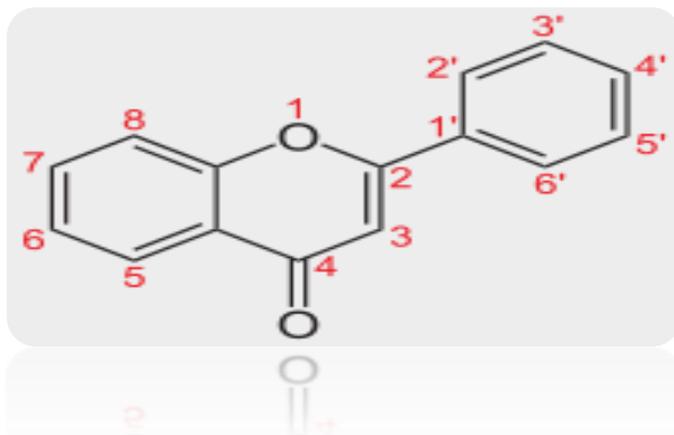


Figure 6 : structure des flavones

c. Les flavonones :

Ce sont des composés un peu colorés dérivés de 2,3 dihydrogènes généralement glycosylés par disaccharide en position 7 pour donner des hétérosides de flavanone. Ils sont caractérisés par l'absence de double liaison en 2,3 et par la présence de centres d'asymétrie [15].

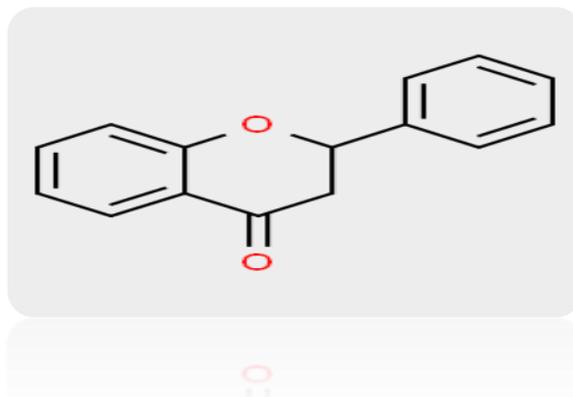


Figure 7 : Structures des flavanones

Tableau 1 : propriétés biologiques de quelques composés phénoliques [24]

Polyphénols	Activité biologique
Acides phénol (cinnamiques et benzoïque)	-Antibactérienne, antiulcéreuse --Antiparasitaire, antifongique -Antioxydantes
Coumarines	-Anti cancérigène, anti-inflammatoire -Antiallergique
Flavonoïdes	-Antioxydant -Réduit l'agrégation plaquettaire -Anti thrombotique -Antiulcéreuse
Anthocyanes	-antioxydant -Anti-inflammatoire, antiulcéreuse
Tanins galliques et cachectiques	-Anti cancéreux -Activité antibactérienne vaste

I.3. Présentation de plantes étudiées :

I.3.1. La grande consoude (*Symphytum officinale*) :

I.3.1.1. Histoire de l'utilisation de la consoude en phytothérapie :

Décrite par le botaniste grec Dioscoride au 1er siècle, la consoude est utilisée en phytothérapie depuis l'Antiquité. Pline l'Ancien a également mentionné sa valeur médicinale dans le traitement des fractures. A l'époque, la consoude était également utilisée pour soigner les troubles intestinaux, la bronchite ou la pleurésie. La plante s'est largement répandue, et sa corolle en sirop peut traiter la toux, les saignements ou la diarrhée, mais elle peut aussi écraser les racines pour soigner les plaies. Très populaire au Royaume-Uni et dans toute l'Europe dès le 19ème siècle, la consoude est devenue une plante médicinale de premier ordre.[30]

I.3.1.2. Classification botanique de la consoude :

Tableau 2: classification botanique de la consoude

Nom scientifique	<i>Symphytum officinale</i>
Noms communs	Grande consoude
Nom en Anglais	Comfrey
Genre	Symphytum
Famille	Boraginaceae
Règne	Plan
Classe	Magnoliopsida
Partie utilisée	Racine, feuille



Figure 8 : La grande consoude

I.3.1.3. Description botanique de la consoude :

Appelée aussi Langue de vache, Grande consoude de Russie, Oreilles d'âne, Herbe à la coupure.



Figure 9: Image de consoude

La consoude est une grande plante herbacée vivace, de 30 à 130 cm de haut, en grandes colonies. Les racines sont noires à l'extérieur et blanches à l'intérieur ; si la profondeur de la terre le permet, elle peut descendre à plus de 2 mètres sous terre. Il peut puiser des éléments minéraux dans cette profondeur que la plupart des plantes ne peuvent atteindre. L'extérieur est brun foncé et l'intérieur est blanc. Ses grandes feuilles (jusqu'à 40 cm de long et 15 cm de large) sont alternes, ovales à lancéolées, effilées et aiguës au sommet, et décombantes (continuant sur la tige). Ils sont couverts de poils durs (incurvés en dessous [25]). Les feuilles sans pétioles s'étendent parfois sur la tige en forme d'ailes, une des caractéristiques qui permet la différenciation. Ses fleurs sont blanches, roses, violet clair à violet foncé, et même jaune pâle ou crème en cymes de scorpions solitaires au sommet des pousses. Leur corolle tubulaire s'élargit en forme de cloche à l'extrémité. Ils fleurissent de la mi-mai à l'août [25]. Ce sont des cloches plus ou moins évasées. Organisé autour du chiffre 5 : 5 sépales fusionnés à leur base, 5 pétales fusionnés en tube. Les étamines soudées à la corolle par la base bénéficient d'une double protection : cloches formées par les pétales et longues écailles internes, trois faces retroussées ; couvertes de poils minuscules, translucides comme des cristaux, et selon les variétés, la couleur va du blanc au lavande.

Son fruit est constitué de 4 akènes lisses et luisants. Avant la floraison, les feuilles de la digitale sont toxiques et peuvent être confondues avec les feuilles de consoude, mais la digitale est douce au toucher tandis que la consoude est rugueuse [25].



Figure 10 : Fleur et feuille de la consoude

La famille des Borraginacées, dont la consoude fait partie, comporte 2000 espèces et cent genres. Il s'agit de plantes herbacées ou petits arbustes aux tiges et feuilles souvent munies de soies, à base renflées, fleurs à cinq parties, inflorescences spiralées, cymes scorpioïdes sur court pédoncule, corolle en entonnoir rétrécie au sommet, cinq étamines soudées au tube de la corolle, ovaire supère avec un style solitaire. Fruits à quatre souvent deux nucules souvent ornementée.

I.1.3.1.4. Composition chimique de la consoude :

Les feuilles et les racines de la consoude contiennent des acides-phénols, des mucilages, de l'allantoïne, des alcaloïdes pyrrolizidiniques, des terpénoïdes, des tanins ainsi que des minéraux (potassium, calcium, fer, silice, phosphore).

- Choline : Choline qui inhibe la formation des œdèmes et favorise l'irrigation sanguine.
- Allantoïne : le principe actif de la consoude existe jusqu'à 1,7% dans la plante. C'est une molécule à la fonction simili-hormonales qui confèrent à la consoude des propriétés d'accélérateur de la multiplication cellulaire. Cette allantoïne se trouverait deux fois plus concentrée dans la racine que dans les feuilles, et les tiges et les nervures en contiennent une quantité intermédiaire. Elle possède les propriétés suivantes:
 - Adoucissantes : rend la peau plus douce et souple
 - Réparatrice : stimule le renouvellement de la peau
 - Apaisant : régule le processus inflammatoire

- Kératolytique : aide à éliminer les cellules mortes, ce qui régénère la peau, lui redonne éclat et douceur
- Les alcaloïdes pyrrolizidiniques : sont des acides monocarboxyliques, présents dans la partie souterraine de la plante et aussi dans les feuilles 0,22% desquelles on tire le remède homéopathique.
- Mucilage : sont présents dans la racine, ils confèrent des propriétés adoucissantes.
- Autres constituants : flavonoïdes, aspagine, choline, amidon, acides aminés, divers, acide siliciques, vit B2 et B 12.

I.1.3.5. Place de la consoude dans les phytothérapies :

Elle possède des propriétés phyto-thérapeutiques suivantes :

- a) **Pouvoir de cicatrisation des blessures** : elle referme les plaies et accélère la consolidation des fractures. Au cours d'un essai clinique, on a traité les éraflures de 256 sujets avec une pommade contenant un extrait de feuilles de consoude ou une pommade renfermant un placebo. La consoude a accéléré la guérison des plaies, par rapport au placebo¹³, ce qui tend à confirmer un des usages traditionnels de la plante [28].
- b) **Pouvoir anti douleurs**: la consoude a également été efficace pour soulager les douleurs causées par des ecchymoses, des étirements musculaires⁵, des maux de dos et des douleurs articulaires
- c) **Pouvoir homéopathique**: le remède homéopathique *Symphytum* est principalement utilisé :
 - En cas de fracture, pour favoriser la consolidation osseuse (en favorisant notamment la formation de la cale)
 - En cas de coup douloureux au niveau du globe oculaire (balles de tennis, coup de poing par exemple...)
 - En cas de douleurs
- d) **Pouvoir anti-inflammatoire** : atténue les contractions et les elongations musculaires, elle agit sur les plaies et les inflammations de la cavité buccale intéressant, et pour les piqûres d'insectes.
- e) **Pouvoir émollient** : utile contre l'acné, psoriasis et toute déshydratation de la peau.
- f) **Pouvoir adoucissante** : voire de piqûres d'insectes. Sur le plan toxicologique, il n'existe pas d'effets indésirables ou secondaires connu pour cette plante [28].

I.4. La ronce *Rubus fruticosus* L :

I.4.1. Histoire de l'utilisation de la ronce en phytothérapie :

Le mot « ronce » apparaît en 1175, du latin classique *rûmex*, signifiant « piquant ». La plante a été utilisée par les médecins grecs au 1er siècle pour ses propriétés astringentes et cicatrisantes. *Rubus* est probablement originaire d'Asie Mineure, plus précisément des montagnes du Caucase. Il est maintenant répandu en Europe, en Asie et en Afrique du Nord. Les feuilles de la ronce possèdent une action antibactérienne et antifongique ; ainsi elles sont utilisées pour soigner les plaies et les blessures extérieures. Le décocté des feuilles peut servir de collyre pour les yeux. Les bourgeons sont employés pour guérir la bronchite et permet d'atténuer les problèmes d'insuffisance respiratoire. La ronce est dotée aussi de propriétés carminative, diurétique et anti-hémorroïdaire [27].

I.4.2. Classification botanique :

Tableau 3 : classification botanique de la ronce

Non scientifique	<i>Rubus fruticosus</i>
Noms communs	mûrier sauvage, ronce ligneuse.
Non anglais	<i>blackberry</i>
Genre	Rubus
Famille	<i>Rosaceae</i>
Règne	Plantae
Classe	Dicotylédone
Partie utilisée	Feuille

I.4.3. Description botanique :

La ronce est un arbrisseau vivace (**Figure 11**), épineux, à tiges bisannuelles très longue, ligneuses et anguleuses. Les feuilles sont alternes et caduques, mais elles peuvent durer sur les lances jusqu'à la fin de l'hiver. Ils ont 3 à 5 folioles aux bords dentés disposés selon un motif festonné. La face supérieure des feuilles est glabre verdâtre ou légèrement poilue ; la face inférieure, plus claire. Les fleurs sont hermaphrodites, régulières, d'un diamètre moyen de 2 cm. Le calice a 5 sépales verts, renversés après la floraison. Le nombre de pétales est de 5, alternant avec des sépales. Ils s'étalent et varient en couleur du blanc au rose foncé. Les étamines sont nombreuses, flétries après la floraison et enroulées à l'intérieur de leurs lignes. Nombreux carpelles glabres ou poilus. Elles se transforment en drupes agglomérées, formant des fruits bleu foncé à noirs, communément appelés : mûres [27].



Figure 1: ronce *Rubus fruticosus*[28]



Figure 2: Organe de la ronce , feuille , fleur , fruit

Les Rosacées représentent des plantes à fleurs qui incluent 4828 espèces différentes réparties en 91 genres. Elles consistent en plantes herbacées, arbustes et arbres, la plupart caduques, qui poussent partout dans le monde, dans les régions qui ne sont ni tropicales, ni désertes. [29]

I.4.4. Composition chimique de la ronce :

Plusieurs études phytochimiques réalisées sur la plante *Rubus fruticosus* ont permis d'identifier certains composants bioactifs auxquels sont attribuées les activités pharmacologiques de cette plante, dont les plus importants sont :

- ❖ Les acides phénoliques comme l'acide éllagique, l'acide gallique, l'acide caféique présentent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, mais aussi anticancéreuses[33]
- ❖ Les flavonoïdes comme la quercitrine, la catéchine [34]. Elles contiennent également des **tanins**, et principalement des ellagitannins, qui contribuent à leurs propriétés antioxydantes, qui protègeraient contre le vieillissement cellulaire et réduiraient le risque de cancer et de maladies cardiovasculaires [35].
- ❖ Les composés aromatiques tels que le 5-hydroxymethylfurfural sont éventuellement présents dans cette plante [36].

I.4.5. Place de la ronce dans la phytothérapie :

Elle possède les propriétés suivantes [37] :

a- Activité antioxydante et antivirale : grâce à ses tanins limitant l'entrée des virus dans l'organisme, la ronce prévient les maux de l'hiver.

b- Activité régulatrice de sébum,

c- Activité astringente : le mûrier sauvage traite gingivites, angines, pharyngites et névralgies dentaires.

d- Activité antibactérienne, et activité cicatrisante.

→**Habitat** : la ronce présente dans les forêts, broussaille, haie, talus, bord des chemins et landes

I.5. La peau et la cicatrisation :

I.5.1. La peau :

La peau est un grand organe ; elle constitue la première barrière protectrice contre les produits chimiques, les radiations et les infections, tout en limitant l'évaporation des fluides corporels. La peau est divisée en trois couches : l'épiderme (qui comprend une couche supérieure de cellules mortes appelée « couche cornée »), le derme et le tissu sous-cutané. (cour)

I.5.2. Le rôle de la peau :

Elle joue le rôle de barrière protectrice contre les agents pathologiques, possède la fonction métabolique et sécrétrice. Elle a le rôle dans la régulation de la température et également dans la réception de sensations. [38]

Anatomie de la peau

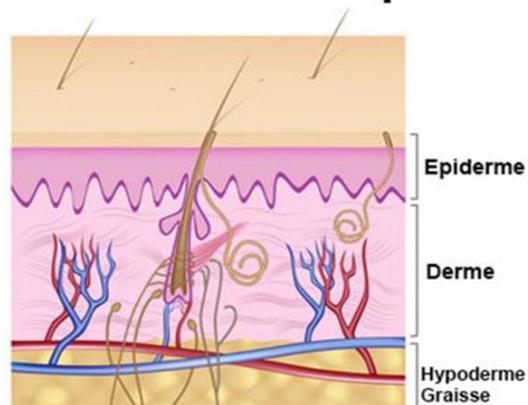


Figure 13 : Anatomie de la peau

I.5.3. Structure de la peau :

La peau est constituée de 3 couches cellulaires :

I.5.3.1. L'épiderme:

La couche superficielle : l'épiderme est un tissu épithélial de revêtement semi-perméable. Il est composé de trois types de cellules :

- **Kératinocytes** : remplies de kératine (protéine entrant également dans la composition des cheveux et des ongles) et de lipides.
- **Mélanocytes** : qui produisent la mélanine responsable de la pigmentation de la peau.
- **Cellules de langerans** : qui participent au système immunitaire de la peau.

L'épiderme se divise lui-même en cinq couches :

a- Couche cornée (*stratum corneum*) : composée de cornéocytes, résultats de l'ultime phase de maturation des kératinocytes qui remontent progressivement depuis la couche basale, et de lipides épidermiques. Son tiers inférieur constitue une véritable barrière de protection face aux facteurs exogènes (pollution, soleil, froid) et à la perte d'eau endogène.

b- Couche claire (*stratum lucidum*) : qui correspond à une phase de transition entre la couche granuleuse et la couche cornée.

c- Couche granuleuse (*stratum granulosum*) : où commence la kératinisation des kératinocytes ; qui évoluent en cornéocytes.

d- Couche épineuse ou corps muqueux de malpighi : comportant 3 à 10 assises de kératinocytes qui s'aplatissent peu à peu vers la surface.

e- Couche basal : la plus profonde de l'épiderme. Elle assure la régénération continue de la peau par division cellulaire : les cellules produites migrent progressivement vers les couches supérieures en subissant diverses mutations. Entre ces cellules basales s'intercalent les mélanocytes, responsable de la mélanogénèse (**figure 14**) [39].

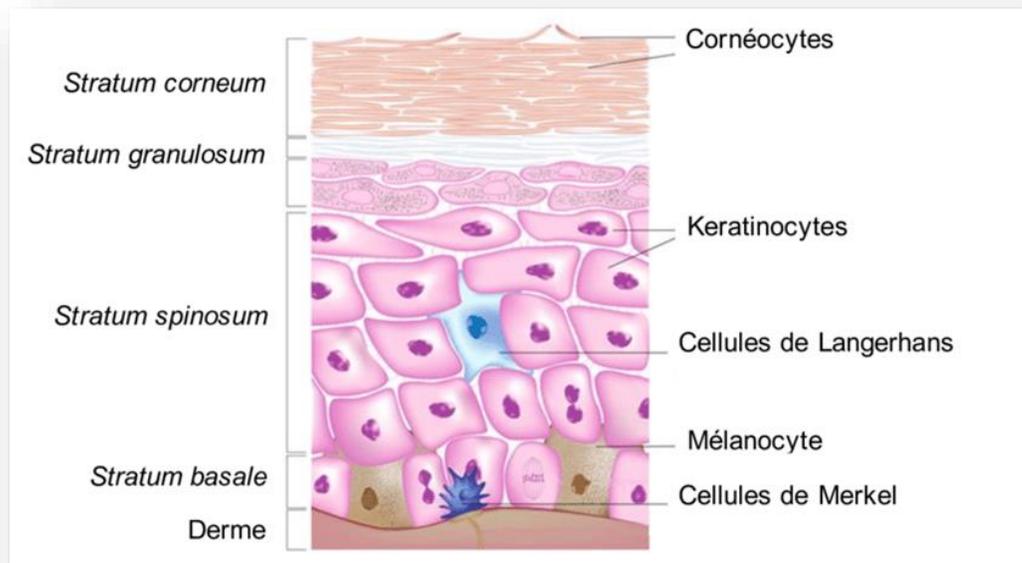


Figure 3: coupe de peau (l'épiderme).

I.5.3.2 Le derme :

Le derme est un tissu conjonctif, qui soutient l'épiderme, protège le réseau vasculaire et les fibres nerveuses. Le derme se divise en deux couches : Le derme papillaire en premier lieu (derme superficiel), c'est une couche intermédiaire riche en terminaisons nerveuses et en symbiose permanente avec l'épiderme, dont il est séparé par la jonction dermo-épidermique. Le derme réticulaire en deuxième lieu (derme profond et moyen), c'est un tissu conjonctif dense composé d'un réseau de fibres élastiques.

Il comporte différents types de cellules : des fibroblastes qui sont des cellules qui synthétisent le collagène, protéine indispensable à l'élasticité des tissus, des histiocytes et mastocytes qui jouent un rôle important dans les réactions immunitaires de la peau [39].

I.5.3.3. L'hypoderme :

L'hypoderme est un tissu adipeux se trouvant sous le derme. Il est traversé par les vaisseaux et les nerfs arrivant dans le derme. Il sert à jouer plusieurs rôles : c'est un protecteur où il sert à être un amortisseur entre le derme et les os, un rôle isolant thermique et morphologique comme il modèle la silhouette en fonction de l'âge, du sexe, de l'état nutritionnel de l'individu, et enfin, il a un rôle énergétique par le stockage des graisses [39].

I.5.4. La plaie :

Une plaie peut se définir comme une rupture de la barrière cutanée, qu'elle soit : plaie par arme blanche ou arme à feu, plaie chirurgicale, brûlure, traumatisme divers. On distingue les trois types de plaies [40] :

A. Les plaies du premier degré : les blessures du premier degré ne concernent que l'épiderme. Ces lésions proviennent la plupart du temps d'une légère brûlure, d'un coup de soleil ou d'une petite abrasion.

B. Les plaies du deuxième degré : la destruction de l'épiderme, de la membrane basale et d'une partie du derme. Ce type de blessure est généralement causé par une brûlure importante, une abrasion de la peau ou une coupure.

C. Les plaies du troisième degré : Une destruction complète de l'épiderme et du derme avec bien souvent atteinte de l'hypoderme, Ces blessures résultent dans la majorité des cas d'une brûlure importante, d'une coupure ou abrasion profonde [40].

I.5.5. Cicatrisation :

C'est l'ensemble des événements biologiques qui aboutissent à la réparation d'une plaie [41].

I.5.6. Les étapes de la cicatrisation de la peau :

L'épiderme guérit par régénération, grâce au renouvellement naturel des kératinocytes. Le derme guérit par réparation, le tissu d'origine étant remplacé par un nouveau tissu non spécifique avec formation d'une cicatrice. Dès qu'une lésion atteint le derme, les vaisseaux sanguins sont endommagés. Il se produit alors un épanchement de sang dans la plaie. Afin de refermer la blessure et de limiter les pertes sanguines, de nombreux mécanismes visant à stopper ou retenir l'hémorragie se mettent en place : on nomme l'ensemble de ces mécanismes Hémostase. Cette hémostase est précédée d'un phénomène d'inflammation. [41]

I.6. Les médicaments utilisés pour soigner les plaies :

Un médicament anti-inflammatoire courant appelé Celecoxib peut favoriser la survie des cellules souches et la cicatrisation lorsque ces cellules sont injectées dans les plaies [42].

MEBO a été utilisé avec succès dans le traitement des plaies et notamment dans les cas suivants : 1. brûlures de premier degré, brûlures de second degré superficielles et profondes. Brûlures de troisième degré, Mebo est utilisée pour atténuer la douleur, contrôler l'infection et activer la cicatrisation. Aussi de nettoyer la plaie avec de l'eau et du savon doux ; on peut également utiliser du sérum physiologique ou avec une lotion asséchante : à base de sulfate de zinc, cet antiseptique asséchant sous forme de spray ou de lingette permet d'assécher une plaie, les peaux irritées et les lésions suintantes [43],[44].

Bepanthen® MED Plus favorise la cicatrisation des blessures superficielles grâce à son principe actif le dexpanthénol [45].

Chapitre II : Matériels et méthodes

Chapitre II : Matériels et méthodes

L'étude expérimentale de notre projet concernant l'activité cicatrisante des deux plantes la ronce et la consoude a été effectuée au niveau de l'université Saad Dahleb-Blida, département d'agronomie, laboratoire de recherche de plantes aromatique et médicinales : pour l'extraction des polyphénols (extrait éthanolique) et également au niveau de l'entreprise de VAGUE de FRAICHEUR Blida plus précisément dans le laboratoire de microbiologie et physicochimie. Notre travail a été réalisé durant la période s'étalant du début du mois de février jusqu'à mois de juin 2022.

Nous avons réalisé l'activité antimicrobienne in-vitro, les tests physico-chimiques et la formulation d'une crème cicatrisante à base de l'extrait éthanolique des plantes étudiées et le contrôle microbiologique la pommade. Le test de l'effet cicatrisant de la pommade a été effectué sur des lapins au niveau de la station vétérinaire de l'USDB.

II.1. Matériels

II.1.1 Matériels biologiques :

II.1.1.1. La plante :

Ces deux espèces la ronce (*Rubus fruticosus*) et de la consoude (*Symphitun officinale*) ont été choisies en raison de leur disponibilité en grande quantité dans la région de Blida et de leur importance économique dans plusieurs domaines, notamment dans le domaine de la phytothérapie. Elles sont classées comme des plantes médicinales et thérapeutiques après leur utilisation

principale pour l'alimentation. Les parties végétales choisies pour réaliser cette étude sont les feuilles à l'état sec.

a. Récolte des plantes :

Leurs feuilles ont été récoltées le 21 septembre 2021 au niveau de la faculté SNV, Université de Blida 1, à 10h du matin (**figure 15**). L'efficacité d'une plante dépend nécessairement de la récolte, de la conservation, de la culture et de l'environnement. Les organes (feuilles, bourgeons, fleurs, fruits) doivent être cueillis par temps sec et de préférence après le lever du soleil. Ces feuilles sont mises dans des sachets en papiers, étiquetées et ramener au laboratoire où les échantillons ont été triés pour enlever celles qui sont abîmées, flétries ou malades, rincés et séchées.



Figure 15 : la consoude et la ronce (originale)

b. Séchage

Les plantes doivent être très soigneusement séchées pour être conservées. Le séchage doit se faire rapidement afin d'éviter l'altération des plantes, leur fermentation et la perte de leurs principes actifs. Le séchage est effectué à l'abri de la lumière dans un endroit chaud vaste et bien aéré.

II.1.1.2. Les lapins :

L'étude expérimentale a été réalisée selon des méthodes décrites par plusieurs recherches scientifiques « Animal Models in Burn Research ». Des lapins albinos de souche Angora de poids

corporel pesant entre 2 à 3 kg ont servi comme un modèle expérimental pour la réalisation des plaies. Les lapins proviennent d'un éleveur de lapins Privé à Alger. Ensuite, à leur arrivée, ils ont été placés dans des cages en fer galvanisé conçu pour l'élevage des lapins à la station expérimentale de l'université de Blida 1, maintenus dans cette sale dans des conditions du milieu de température et d'humidité relative standard, et nourris avec un régime alimentaire standard en granulés à raison de 150g par jour et de l'eau du robinet à volonté. (Figure 16).



Figure 16 : Lapins expérimentaux

II.1.2. Matériels non biologiques :

Le matériel non biologique utilisé renferme l'appareillage (balance, rota vapeur, étuve, spectrophotomètre), la verrerie et les produits chimiques (étalons poly phénoliques : acide gallique, alcool éthanol, eau distillée, le réactif de Folin, Madecassol (voir Annexe).

II.2. Méthodes :**II.2.1. Extraction polyphénols :****a. Mode opératoire :**

Au laboratoire, 50g de poudre des feuilles sèches de la plante sont macérés à température ambiante avec 750ml d'éthanol 70% sous agitation magnétique continue pendant 24h. Puis, nous avons filtré pour éliminer par un papier filtre Wattman et l'extrait obtenu est évaporation sous pression réduite à 40°C. L'extrait sec est récupération par 10ml d'eau distillée stérile est conservé à 40C dans un flacon ambré (**Figure 17**), **voir annexe**

b. Calcul du rendement :

Le rendement des extraits en PPT est exprimé par la formule ci-dessous :

$$R(\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{séchée}}) \cdot 100$$

Avec : R : le rendement en %

M_{ext} : la masse de l'extrait après évaporation en g

M_{séchée} : la masse séchée de plante en g

II.2.2. Dosage de polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait sec est réalisé par la méthode de Folin- cioclteu. Ce réactif est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

a. Principe : Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (HSPW12040) et phosphomolibdique (H3PMO12040), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (WsO₂₃) et de molybdène (Mo₈₀₂₃). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 765nm.

b. Mode opératoire :

➤ Mettre 200 µl de chaque extrait dans des tubes à hémolyse en verre ; dans chaque tube ajouter 1ml de réactif de Folin -Ciocalteu dilué 10 fois dans H₂O distillée.

- Agiter vigoureusement puis laisser agir 6 min avant d'ajouter 800 µl de carbonate de sodium à 7,5%.
- Incuber à l'abri de la lumière pendant 30min à température ambiante,
- Lire l'absorbance à 765 nm, par spectrophotomètre UV-visible.
- Le même protocole a été appliqué pour l'acide gallique à différentes concentrations (de 0 à 0,4 mg/ml). Ce qui nous a permis d'établir la courbe d'étalonnage. Le blanc est représenté par l'éthanol additionné au Fol in-Ciocalteu, et le carbonate de sodium.

II.2.3. Dosage des flavonoïdes :

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par spectrométrie UV-Visible avec le trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 2%. En présence de trichlorure d'aluminium, les flavonoïdes sont capables de former un complexe acide stable de couleur jaunâtre qui présente un maximum d'absorption aux environs de 435 nm. Les résultats obtenus sont exprimés en µg équivalent de quercitrine par milligramme d'extrait en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de la quercitrine.

Mode opératoire:

- Mettre 500 µl de chaque extrait dans des tubes à essai en verre, dans chaque tube ajouter 1ml d'AlCl₃ 2%.
- Le blanc : 1000 µl AlCl₃ + 500 µl d'éthanol 70%.
- Incuber à l'abri de la lumière pendant 10 min à température ambiante.
- Lire l'absorbance à 435 nm, par spectrophotomètre UV-visible.

Le même protocole a été appliqué pour la quercitrine à différentes concentrations (0-1000 µg / ml) pour établir la courbe d'étalonnage.

II.2.4. Formulation de la pommade à base d'extrait de plante

a. Matériel utilisé : le bain mari, bol, plaque chauffante, cuillère à café, balance.

b. Produit utilisé : vaseline liquide pour adoucir la peau, tween 80% sans activité biologique, extrait des plantes pour étudier le pouvoir cicatrisant.

II.2.4.1. Méthode de préparation d'une pommade traitante :

II.2.4.1.1. Dilution de l'extrait de la consoude :

a. Principe : Mélanger la vaseline liquide et le Tween 80 dans un bicher et mettre au bain Marie pour fondre, retirer le bicher et ajouter l'extrait de plante et la Vit E lorsque la température descend à 40°C, Continuer à mélanger jusqu'à refroidissement total et obtention d'une pommade recherchée.

A- Pommade à base de chaque extrait de plante :

La 1^{ère} concentration C1 :

Dans un bicher mélanger 60g de vaseline et 30g de Tween 80 mettre dans un bain Marie à feu doux jusqu'à ce que le mélange devienne liquide homogène. Retirer le bicher et laisser refroidir jusqu'à 40°C et ajouter 3g d'extrait de consoude et la vitamine E, et bien mélanger jusqu'à refroidissement total. Puis la conserver dans un flacon stérile ambré et étiqueter

La 2^{ème} concentration C2 :

La même procédure, sauf que, la concentration est de 1,5 g d'extrait de consoude dans le mélange. Le témoin positif est le médicament Madecassol utilisé pour la cicatrisation des plaies, et le témoin négatif est composé de vaseline et le Tween 80 uniquement plus la vitamine E (**figure 18**), voir annexe.

B- Pommade à base du mélange des deux extraits des deux plantes :

La 1^{ère} concentration C1 :

Dans un bol Mélanger 60g de vaseline avec 30g de tween 80, mettre dans un bain Marie sur feu doux jusqu'à dissolution de la vaseline, mélanger bien et retirer du feu, laisser refroidir jusqu'à 40°C. Ensuite, ajouter 3g d'extrait de consoude et 3g d'extrait de ronce, concentrations qui ont donné le meilleur pouvoir cicatrisant, plus la vitamine E et mélanger bien jusqu'à refroidissement du produit et obtention d'une pommade homogène. Puis la conserver dans un flacon ambré et étiqueter

La 2^{ème} concentration C2 :

Même procédure sauf que, le traitement est composé de 1,5 g d'extrait de Consoude et 1,5 g d'extrait de Ronce (**figure 20**). Dans le témoin : mélanger 60g de vaseline avec 30g de tween plus vitamine E. Les traitements sont mis dans des pots étiquetée et conservé au réfrigérateur à 4°C.

II.3. Étude de l'activité cicatrisante :

a. Le principe : Consiste en l'application du produit à tester sur des plaies préalablement provoquées. Les applications se feront de façon quotidienne jusqu'à la cicatrisation complète de la plaie. Nous avons réalisé une comparaison entre l'effet du traitement phytothérapeutique « poudre de ronce/*Rubis fruticosus* » et « poudre de consoude /*symphutun officinale* » et le traitement chimique « pommade Madecassol » sur les plaies.

b. Protocole expérimental

Cette évaluation a été faite au niveau du laboratoire de recherche de plantes médicinales et aromatiques, université de Blida 1.

La veille du test expérimental, les lapins ont été marqué au niveau des pattes avec un stylo à feutre indélébile (un bracelet d'encre pour le premier lapin, deux bracelets d'encre pour le deuxième lapin) et les cages ont été étiquetées (**lot 1/C1 et C2/Cons**, **lot 2/C1 et C2/mélange**, **lot 3/C1 et C2 Rns**, **lot 4/Madecassol**, **lot 5/Tm-**). Chaque lot est constitué de 2 lapins (1 mâle et 1 femelle), et 1 lots est constitué d'un seul lapin.

Tableau 4 : Application des traitements

Lots	Traitement	Nombre de lapins
------	------------	------------------

Lot 1	Reçoit des applications dermiques De traitement à base d'extrait de consoude (C1 + C2)	2
Lot 2	Reçoit des applications dermiques De traitement mélange d'extrait de ronce et consoude (C1 +C2)	2
Lot 3	Reçoit des applications dermiques De traitement d'extrait de ronce (C1 +C2)	2
Lot 4	Reçoit des applications dermiques avec vaseline + TWEEN et un médicament Madecassol®	2
Lot 5	Ne recevra à aucun traitement (témoin négatif)	1

❖ **Madécassol** : c'est un traitement local d'appoint des ulcérations cutanées acheté de la pharmacie.

c. Mode opératoire :

- Mettre les lapins sur la table de dissection.
- Désinfecter la région épilée avec l'alcool chirurgical à 70%.
- Epiler à la main les lapins au niveau de la cuisse
- Créer 3 à 4 plaies de 3cm sur la zone épilée avec une lamelle stérile.
- Appliquer la pommade traitement après blessure une fois par jour à la même heure de la journée, en commençant par la désinfection de la plaie par un coton stérile, et ensuite mesurer la longueur de la plaie avec une règle et marqué les mesures sur une fiche de prélèvement résultats, observer l'état sanitaire des plaies : noter présence ou absence des infections, et inflammations. Ce travail est réalisé durant 15 jours à partir du jour de réalisation des plaies.



Figure 19 : Méthode d'affection des plaies

II.4. Formulation d'une crème cicatrisante :

II.4.1. Extraction de l'hydrolat de consoude :

a. Principe : l'hydro distillation peut être réalisée dans différents équipements selon les laboratoires. Ceux-ci incluent : Clevenger. Placer le matériel végétal dans l'eau dans un ballon à fond rond, concentrer les huiles essentielles tout en faisant bouillir le matériel végétal/l'eau pendant 1 à 3 heures. La durée de l'hydro distillation peut être très variable, jusqu'à plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation affecte le rendement ainsi que la composition de l'extrait. Il s'agit de la récupération des huiles essentielles contenues dans les végétaux grâce à la vapeur. Les ingrédients aromatiques naturels sont placés dans un alambic rempli d'eau et portés à ébullition. Sous l'action de la chaleur, les cellules végétales libèrent des molécules odorantes entraînées par la vapeur d'eau

b. Hydrolat :

Un hydrolat (ou eau de distillation ou eau aromatique) est un produit aqueux de condensation obtenu après distillation d'une matière première naturelle, généralement végétale, qui subsiste après l'entraînement à la vapeur d'eau et la séparation de l'huile essentielle. La séparation de l'eau (**hydrolat**) et des huiles essentielles se fait par la différence de densité dans la carafe ou l'essence. L'hydrolat de décantation est encore très parfumé. L'hydrolat extrait des fleurs est appelé eau florale.

c. Mode opératoire :

Au niveau de laboratoire de l'université, on a effectué la technique d'hydro distillation qui est comme suit :

- Peser à l'aide d'une balance 65g de matière sèche de la consoude.
- Dans une cocote, ajouter 2 litres d'eau et la matière sèche.
- Placer dans une plaque chauffante.
- On obtient une solution qui contient deux phases non miscibles (la phase aqueuse (hydrolat) et l'huile essentielle). Sauf que notre plante est une plante médicinale et non aromatique, donc on ne récupère que l'hydrolat.
- L'hydrolat doit être conservé dans un flacon étiqueté.



Figure 20 : Extraction de l'Hydrolat par hydro distillation

II.4.2. Formulation de la crème cicatrisante avec la plante consoude :

La formulation de cette crème cicatrisante de type émulsion **H/E** a été effectuée au niveau de laboratoire de la société VAGUE DE FRAICHEUR (BLIDA) avec une dose de 3g d'extrait et 100g de solvant plus la plante qui a montré un meilleur effet cicatrisant : la consoude.

Cette formulation a été réalisée en passant par trois phases contenant différents composants pour une quantité de 190 g (**voir annexe**).

II.4.3. Procédure de la fabrication :

Ce travail a été effectué dans des conditions d'aseptique totale :

- ✓ Désinfection de la table de travail
- ✓ Utilisation des blouses
- ✓ Stérilisation du matériel
- ✓ Désinfection des mains
- Dilution de l'extrait : il a été dilué 3 fois. 3g d'extrait de consoude dilués dans 9ml de l'eau distillée stérile
- Préparer les deux phases aqueuses et huileuses
- Chauffer les phases huileuse et aqueuse séparément à 75 -80°C
- Ajouter la phase huileuse dans la phase aqueuse sous agitation
- Homogénéiser jusqu'à obtention d'une crème
- Refroidir sous faible agitation jusqu'à 45°C
- Ajouter un conservateur sous faible agitation
- Laisser refroidir
- Mettre dans une boîte, étiqueter et conserver

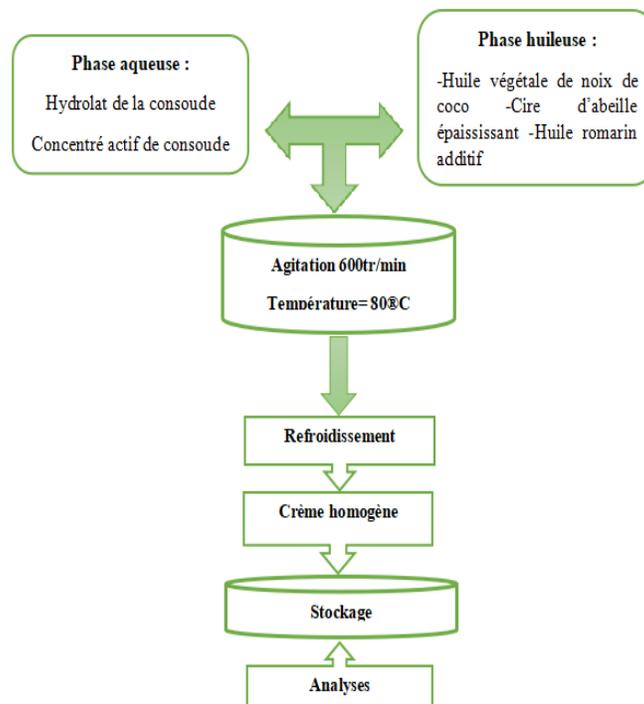


Figure 21 : Processus de formulation de la crème cicatrisante industriel



Figure 22 : Méthode de formulation d'une crème cicatrisante a base d'extrait de consoude en industrie

- **Stockage et conservation** : L'emballage utilisé pour le conditionnement doit être inerte vis-à-vis du produit fini et doit assurer une bonne conservation.

II.4.4. Contrôle du produit fini :

Notre crème formulée est celle qui correspond le plus exactement possible aux crèmes de soins vendus sur le marché. Elle doit subir un certain nombre de contrôles.

Des analyses physico-chimiques comme : le contrôle de stabilité (centrifugation), le contrôle rhéologique (viscosité) et le degré de pH. D'autres contrôles sensoriels : comme : l'aspect, l'odeur et la couleur.

Chapitre III : Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion**III.1. Extraction de polyphénols totaux :****III.1.1. Caractéristiques organoleptiques et le rendement :**

Le rendement varie selon les espèces étudiées, pour la consoude il est de 1,21 %, inférieur à celui de la ronce qui est de 1,78 % pour la même quantité de poudre végétale. Les extraits ont été caractérisé par une couleur marron et un aspect onctueux et gluant pour la ronce et onctueux et plus au moins liquide pour la consoude (**tableau 5**) (**figure 23**).

Tableau 5 : Résultats des caractéristiques organoleptiques et le rendement des PPT totaux

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement
PP de la consoude	Onctueux plus au moins liquide	Marron	1,21 %
PP de la ronce	Onctueux et gluant	Marron	1,78 %



Extrait de la consoude



Extrait de la ronce

Figure 23 : L'extrait polyphénolique des deux plantes**III.1.2. Teneur des extraits en polyphénols totaux :**

Les résultats quantitatifs des PPT ont été déterminé à partir de la courbe d'étalonnage, en utilisant l'acide gallique comme standard (**figure 24**).

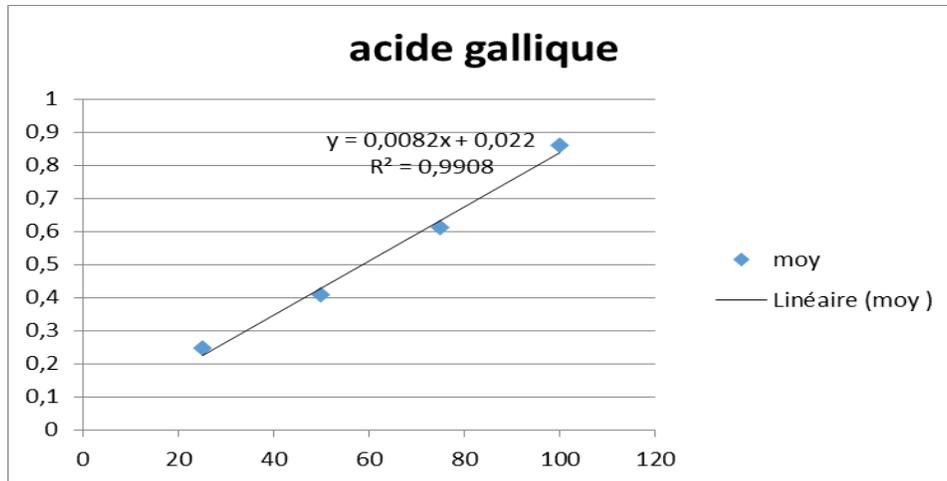


Figure 4 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage de polyphénols totaux

La teneur la plus élevée des polyphénols a été obtenu par l'extrait de la ronce (154,14 mg/g) par rapport à l'extrait de la consoude (91,34mg/g) (**Tableau 6**).

Tableau 6 : Teneur en polyphénols

Extrait	Quantité des polyphénols totaux (mg/g)
Extrait de la consoude	91,34
Extrait de la ronce	154,14

III.1.3. Résultats Dosage des flavonoïdes totaux :

Pour le dosage des flavonoïdes, nous avons choisi l'étalon standard de quercétine.

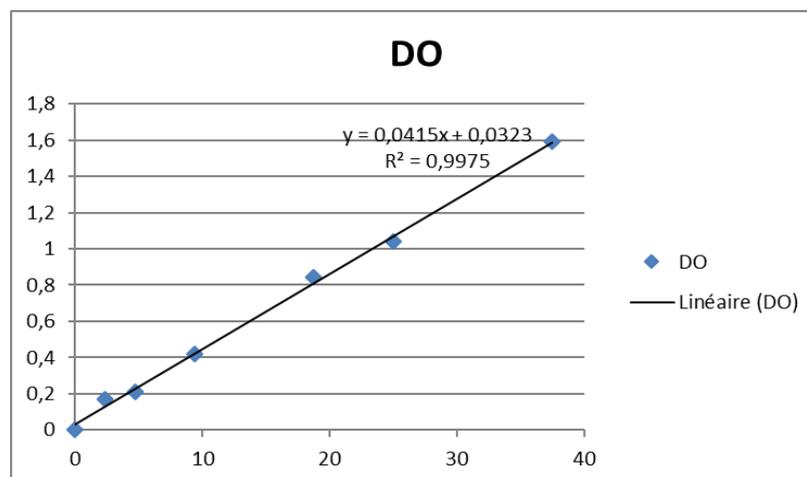


Figure 25 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

Conclusion:

Les résultats quantitatifs des flavonoïdes, ont été déterminé à partir de la courbe d'étalonnage, en utilisant la quercétine comme standard. La teneur la plus élevée des flavonoïdes a été obtenue par l'extrait de la ronce qui est de 30,86mg/g par rapport à l'extrait de la consoude qui est de 22,83mg/g. Les teneurs en flavonoïdes ou en polyphénols ne sont pas stables et diffèrent d'une plante à une autre même entre les espèces du même genre. Ceci peut être due aux différences de polarité des solvants, aux techniques d'extraction ou peut dépendre à certain nombre de facteur environnementaux agissant sur la phytochimie telles que les conditions climatiques : climats, l'exposition au soleil, la composition du sol, la maturité de la plante à la récolte et les conditions de stockage toutes ces conditions peuvent changer les métabolites secondaires de la plante.

III.1.4. Caractéristiques organoleptiques des pommades traitantes :

Les pommades formulées sont utilisées dans le traitement de cicatrices présentant un aspect visqueux, une couleur allant du jaune, marron, blanche à verte, leur étalement est facile sur la peau et leur odeur est très prononcée.

Tableau 7 : Des tests sensoriels de la pommade

Aspect	Couleur	Etalement	Odeur
Visqueux	Jaune Marron Blanche Vert	Facile	Forte



Figure 26 : Pommade à base d'extrait de Ronce et de Consoude, de mélange des deux plantes et de la pommade Madecassol

III.1.5. Résultat de l'activité cicatrisante :

Au cours de la période d'expérimentation, aucune mortalité n'a été observée chez les animaux. Tous les lapins ont été en bonne santé et prêts pour l'évaluation de l'activité cicatrisant sur leur peau. Les paramètres qualitatifs et quantitatifs ont été utilisés pour évaluer l'efficacité de **PPT** dans la cicatrisation des plaies, comparativement au médicament conventionnel Madecassol, la vaseline et l'effet de la défense immunitaire propre des lapins non traités. La mesure de la longueur des plaies était faite tous les jours pendant 15 jours et évalué en cm. L'observation des infections, d'inflammations et la vitesse de cicatrisation (temps de l'épithélialisation) des plaies sont notées toutes les 24 h pendant toute la durée du traitement.

Tableau 8 : Résultats des traitements durant 15 jours/Lot 1/consoude (C1 et C2)

Les jours	J1	J4	J7	J10	J15
Mesure de la plaie : C1 de l'extrait de la consoude	3 cm	1,5cm	0cm	0cm	0cm
Observation (taux de la cicatrisation)	-Plaie rouge -Taux de la cicatrisation 0%	-Absence d'inflammation -Abs d'infection -Début de la cicatrisation -taux de la cicatrisation 50%	-Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%	-Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%	-Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%
Mesure de la plaie : C2 de l'extrait de la consoude	3cm	2cm	1,5 cm	0,5cm	0cm
Observation (taux de la cicatrisation)	-Plaie rouge -Taux de la cicatrisation 0%	-Abs d'inflammation -Abs d'infection -les plaies commence à se cicatrise mais lentement Taux de la cicatrisation 33%	-cicatrisation moyenne -Taux de la cicatrisation 50%	-Plaie Au cours de la cicatrisation -Taux de la cicatrisation 83%	-Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%

On remarque les rougeurs des plaies dans les premiers jours et au 4ème jours y'a pas eu d'inflammation ou d'infection et avec une cicatrisation de 50% pour la 1ère concentrations (c1) et une cicatrisation de 33% pour la 2ème concentration (c2) . Au 7ème jours on remarque une cicatrisation complète pour la 1ère concentration (c1) par contre la 2ème concentration (c2) ce cicatrise aux 15ème jours.



Figure 27 : Plaies du lot 1 au cours de cicatrisation/ extrait de consoude (lot 1)

Tableau 9 : Résultats des traitements durant 15 jours/ lot 2 / mélange des deux extraits des deux plantes (C1 et C2)

Les jours	Jr 1	Jr 4	Jr 7	Jr10	Jr 15
Mesure de la plaie : C1 de l'extrait de consoude + ronce	3cm	1.5cm	0.25cm	0	0
Observation (taux de la cicatrisation)	-Plaie rouge -Abs d'infection -Abs d'inflammation -Taux de la cicatrisation 0%	- La plaie se cicatrise -Abs d'infection -Abs d'inflammation -Taux de la cicatrisation 50%	-La plaie est au cours de la cicatrisation -Taux de la cicatrisation 91%	*Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%	*Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%
Mesure de la plaie : C2 de l'ext de consoude + ronce	3cm	1.5cm	1cm	0,5cm	0
Observation	-Plaie rouge -Taux de la cicatrisation 0%	-Abs d'infection -Abs d'inflammation -Taux de la cicatrisation 50%	-La plaie est au cours de cicatrisation -Taux de la cicatrisation 66%	-Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 83%	-Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%

On remarque les rougeurs des plaies dans les premiers jours et au 4ème y'a pas eu d'inflammation ou d'infection et la cicatrisation est à 50% pour les deux concentrations C1 et C2 et au 7ème jours la cicatrisation de la 1ère concentration est à 91% par contre la 2ème concentration est à 66%. En fin la cicatrisation est complète au 10ème jours pour la 1ère concentration C1 par contre la 2ème concentration C2 prend 5 jours de retard.

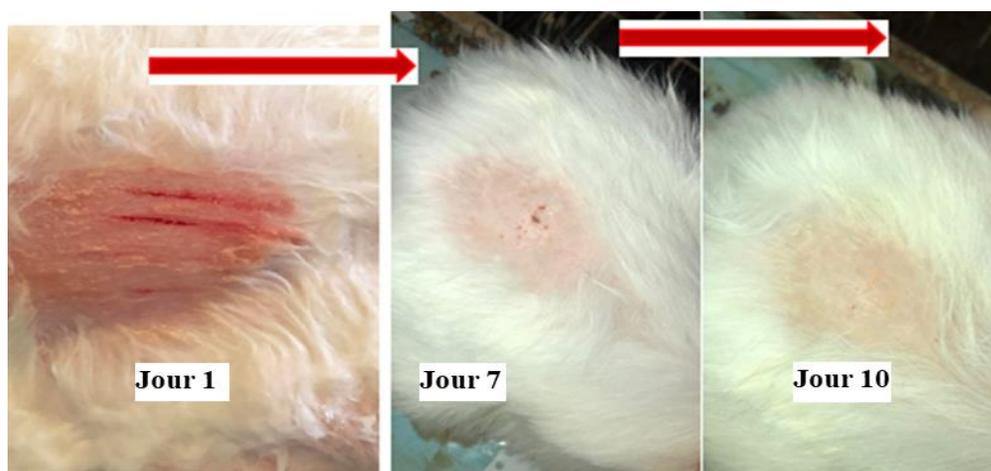


Figure 28 : Plaies au cours de cicatrisation / extrait de deux plantes (lot 2)

Tableau 10 : Résultats des traitements par les polyphénols de la ronce (C1 et C2) durant 15 jours/ lot 3

Les jours	J1	J4	J7	J10	J15
Mesure de la plaie : C1 de l'extrait de la ronce	3cm	1,5 cm	0,5 cm	0cm	0cm
Observation (Taux de la cicatrisation)	-Plaie rouge -Taux de la cicatrisation 0%	-Abs d'infection -Abs d'inflammation -Début de la cicatrisation Taux de la cicatrisation 50%	-La plaie est au cours de la cicatrisation -Taux de la cicatrisation 83%	-Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%	-Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%
Mesure de la plaie : C2 de l'extrait de la ronce	3cm	2,5cm	1cm	0,25cm	0cm
Observation (Taux de la cicatrisation)	-Plaie rouge Taux de la cicatrisation 0%	-Abs d'infection -Abs d'inflammation - de la cicatrisation 16%	- plaie est au cours de la cicatrisation -Taux de la cicatrisation 66%	-La plaie est au cours de la cicatrisation -Taux de la cicatrisation 91%	Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%



Figure 29 : Plaies au cours de cicatrisation /par l'extrait poly phénolique de ronce

On remarque les rougeurs des plaies dans premiers jours et au 4ème jours y'a pas eu d'inflammation ou d'infection avec une cicatrisation de 50% pour la 1ère concentrations (c1) et à 16% pour la 2ème concentration (C2). Au 10ème jour nous remarquons une cicatrisation totale pour le traitement de la 1ère concentration par rapport au traitement de la 2ème concentration qui se cicatrise aux 15èmes jours

Tableau 11 : Résultats des traitements après 15 jours/ lot 4/témoins (Madecassol et vaseline)

Les jours	J1	J4	J7	J10	J15	J17	J22
Mesure de la plaie : témoin (+) vaseline	3cm	2,75cm	2cm	1,25cm	0,25cm	0cm	0cm
Observation (taux de la cicatrisation)	-plaie rouge - Taux de la cicatrisation 0%	-Inflammation légère -Petite infection -Taux de la cicatrisation 8,3%	-Abs d'infection -Abs d'inflammation -Début de la cicatrisation -Taux de la cicatrisation 66%	-La plaie est au cours de la cicatrisation -Taux de la cicatrisation 58%	-La plaie est au cours de la cicatrisation -Taux de la cicatrisation 91,%	-Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%	-Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%
Mesure de la plaie : témoin madecassol	3cm	2cm	0,5cm	0cm	0cm	0cm	0cm
Observation (taux de la cicatrisation)	-Plaie rouge -Taux de la cicatrisation 0%	-Abs d'infection -Abs d'inflammation -Début de la cicatrisation -Taux de la cicatrisation 66%	-La plaie est au cours de la cicatrisation -Taux de la cicatrisation 83%	-Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%	-Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%	-Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%	-Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 100%
Mesure de la plaie : témoin (-)	3cm	3cm	2,75cm	1,75cm	1,5cm	1cm	0cm
Observation	-Plaie rouge -Taux de la cicatrisation 0%	-Inflammation légère -Petite infection Taux de la cicatrisation 0%	-La pousse des poils -Plaie resté ouverte Taux de la cicatrisation 8,3	-Début de la cicatrisation -Taux de la cicatrisation 42%	-La plaie est au cours de la cicatrisation -Taux de la cicatrisation 50%	-La plaie est au cours de la cicatrisation -Taux de la cicatrisation 0%	-Cicatrisation complète -Taux de la cicatrisation 0%

On remarque les rougeurs des plaies dans les premiers jours. Au 4^{ème} jours y'a pas eu d'inflammation ou d'infection et une cicatrisation de 66% pour le traitement Madecassol et à 8,3% pour la vaseline avec une inflammation légère et une petite infection au niveau de la plaie et pour le témoins négative 0% qui est sans traitement. Aux 7^{ème} jours nous remarquons la pousse des poils de témoins positifs. Aux 10^{ème} jours les plaies traitées par le Madecassol se cicatrise totalement par rapport au témoins traité par la vaseline qui se cicatrise aux 17^{ème} jours et le témoin non traité se cicatrise aux 22^{ème} jours.



Figure 30 : les plaies au cours de cicatrisation du lot 4 (vaseline)

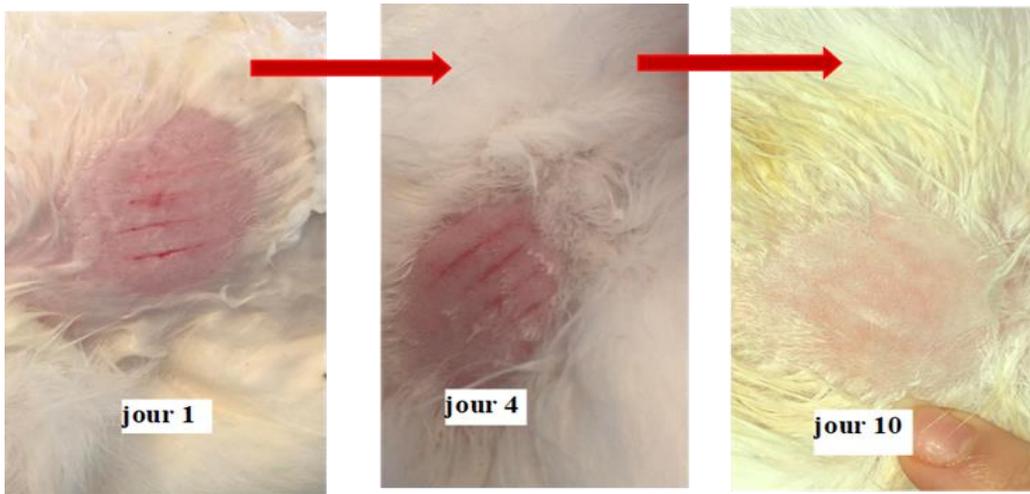


Figure 31 : les plaies au cours de la cicatrisation du lot 4 (Madecassol)



Figure 32 : Plaies au cours de cicatrisation du lot 5

III.6. Discussion :

Les résultats de l'activité cicatrisante permettent de comprendre le bien-fondé de l'utilisation traditionnelle de *Symphitum officinale* et *Rubus fruticosus* dans les soins de plaies et ouvrent la voie à une meilleure valorisation de ces plantes. L'effet cicatrisant important (3-0.cm) de réduction de longueur de plaies de *Symphitum officinale* et *Rubus fruticosus* a été signalé par d'autres travaux qui mentionnent aussi que ces plantes possèdent des propriétés d'activation du système immunitaire ; cette activation serait due à la présence des polyphénols, responsables de la guérison des plaies externes [46]

L'examen macroscopique des plaies permet de constater une action très nette de Madecassol et de la pommade à base d'extrait de consoude sur la vitesse et la qualité de cicatrisation complète 0cm (100%). Les figures qui récapitulent les résultats de l'activité cicatrisante, montrent que la cicatrisation des lots traités par Madecassol et par la pommade préparée à base d'extrait de consoude augmente progressivement avec le temps de traitement. Les trois traitements ont donné une bonne cicatrisation avec des délais de guérisons un peu différentes et qui est de 7 jours pour la pommade à base d'extrait consoude, de 8 jours pour Madecassol et 10 jours pour la pommade à base d'extrait de ronce. La cicatrisation naturelle et complète de témoins (vaseline) et le témoin non traité a été faite au bout de 17^{ème} jours jusqu'à 22^{ème} jours. Nous observons une meilleure cicatrisation de la pommade à base d'extrait consoude en comparaison avec celle de ronce et Madecassol. L'extrait de consoude peut être envisagé comme traitement pour la guérison des plaies.

Les résultats montrent que la vitesse de la contraction des plaies des extraits est supérieure à celle des plaies des témoins, durant la phase inflammatoire observée du premier jour jusqu'à la guérissant selon l'impact des traitements. 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 de consoude. D'après EZIKE et ses collaborateurs en 2010 [47], les polyphénols contribuent en partie dans la phase hémostatique en précipitant les protéines pour former des couches au niveau d'une plaie ouverte. Ce qui nous permet d'avancer une hypothèse selon laquelle, les polyphénols dont leur présence est révélée au cours du criblage phyto-chimique sont responsables de cette activité.

Selon Miasa en 2015 [48], à partir du troisième jour de l'excision la surface des plaies traitées avec l'extrait de MJ01 commence à diminuer, et au treizième jour elles sont complètement cicatrisées, et au 15ème jour des poils commencent à pousser autour de la blessure. Aussi selon Madièye et *al* en 2020 [49], l'application quotidienne des pommades d'extrait aqueux des feuilles de *E. guineensis* dans la vaseline, montre un résultat au bout de 16 jours. La vitesse de cicatrisation, selon ces auteurs, avec la pommade induit une réparation tissulaire quasi complète au bout de 22 jours. Par ailleurs les travaux de Evreux et *al* en 1989 [50], la grande consoude est douée de propriétés mucilagineuses, émoullientes, adoucissantes et légèrement astringentes, mais c'est surtout un topique épithéliogène grâce à la présence du "proliférant cellulaire", l'allantoïne. Ces auteurs montrent que la Grande Consoude accélère de façon transitoire la cicatrisation de blessures chez des lapins. Les expressions mêmes de consoude rappellent la réputation de la plante comme cicatrisante pour traiter les plaies.

Démarchez en 2015 [51] a rapporté que le développement de tissu de granulation, sont constitués de macrophages et d'une population dense de fibroblastes et de myofibroblastes. Il reconstruit 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. Ceci expliquerait la fermeture rapide des plaies traitées avec l'extrait de consoude. En outre, les flavonoïdes augmentent la migration des cellules fibroblastes sur les plaies.

D'après ces résultats, il est probable que l'activité cicatrisante de l'extrait serait due à la présence des flavonoïdes et polyphénols. Cela montre que l'extrait de consoude et de ronce possèdent une activité cicatrisante, ils réduisent également la durée de la phase inflammatoire des plaies.

L'étude de Debuigne en 2009 [52] a démontré que les extraits des feuilles séchées de consoude et de ronce conservent les propriétés cicatrisantes habituellement exploitées par la médecine traditionnelle. Cet effet résulterait de l'action des composés bioactifs contenus dans l'extrait (notamment les polyphénols), elle referme les plaies et accélère la cicatrisation, aussi elle agit sur les inflammations, et sur les piqûres d'insectes, est émoulliente, adoucissante.

III.2. Formulation d'une crème cicatrisante :

III.2.1. Extraction de hydrolats de consoude :

A partir de deux litres de l'eau distillée et 60g de consoude nous avons récupéré l'hydrolat utilisé pour la formulation de la crème traitant de cicatrices (**annexe**). Une quantité nécessaire de 1000ml a été récupéré après 50min.

III.2.2. Les caractéristiques organoleptiques de la crème cicatrisante :

La crème formulée est caractérisée par une couleur blanc salé claire, et une odeur rapidement pénétrante dans la peau, avec un aspect crémeux et un touché légèrement frais, et possède un ph de 4,6 très convenable aux tissus épidermiques et sa viscosité est de 6027cp, et une moyenne douceur après l'application (**tableau 12**)

Tableau 12 : les résultats de la formulation de la crème cicatrisante

Onctuosité	Crémeux
Couleur	Blanc salé Clair
Etalement	Bien pénétrante
Odeur	normal
Touché	Légèrement frais
Douceur après l'application	Moyenne
Ph	4,6 à 23°C
Viscosité	6027cp (90,4% ,mobile 5 , vitesse 60 tour/min

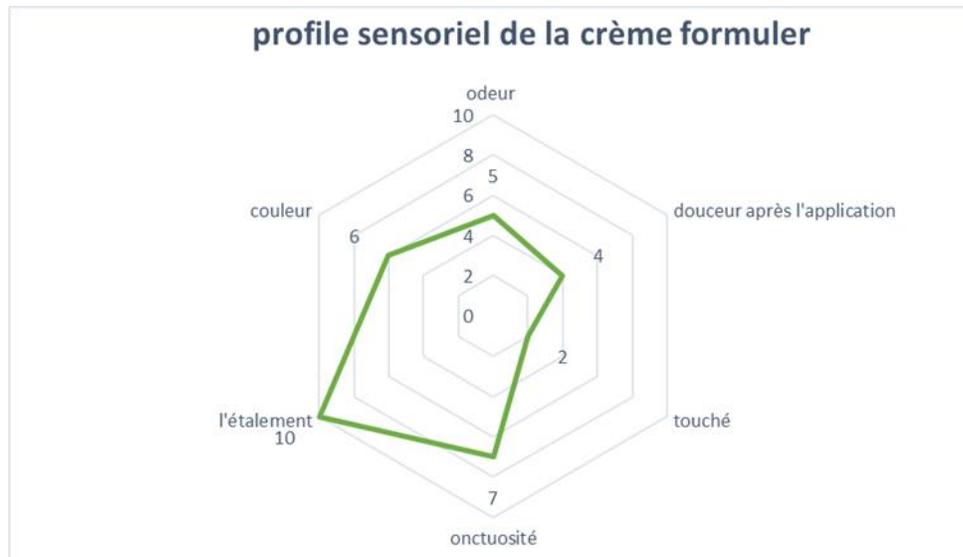


Figure 33 : Profil sensoriel de la crème formulée

III.2.3. Analyses microbiologiques :

Tableau 13 : Analyses microbiologiques de la crème le jour de formulation

Germe recherchés	Résultat	Normes	Unité
Germes aérobie à 30°C	Absence	≤ 10	UFC / ml
Escherichia coli	Absence	Absence	UFC / ml
Staphylocoques à coagulas +	Absence	Absence	UFC / ml
Pseudomonas aeroginosa	Absence	Absence	UFC / ml
Levure / moisissure	Absence	≤ 10	UFC / ml
Candila albicans	Absence	Absence	UFC / ml

Conclusion :

Les résultats d'analyses microbiologique exprimées dans le tableau suivant révèlent une absence de toute contamination bactérienne et fongique recherché : Escherichia coli, Staphylocoques à coagulas + Pseudomonas aeroginosa , levure et moisissure , Candila albicans , Germes aérobie à 30°C , permettent de dire que notre produit final (crème) est de bonne qualité microbiologique et pour assurer la qualité de la crème si elle est saine (**Tableau 13**).

Conclusion et perspectives

Conclusion

L'objectif de notre travail est de valoriser deux plantes locales, la ronce et la consoude, par l'évaluation de leur activité cicatrisante, en accord avec l'efficacité qui leur est reconnue dans la médecine traditionnelle, plus la synergie entre elles qui peut accélérer cette activité. Cette activité cicatrisante s'expliquerait par la présence de métabolites secondaires tels que les polyphénols riches par leurs propriétés anti-inflammatoires, antibactériennes. Pour atteindre notre objectif, nous avons utilisé comme principe actif l'extrait des feuilles séchées du *Rubus fruticosus* et *Symphytum officinale* et incorporer la meilleure dans une crème cosmétique.

Le rendement des extraits en polyphénols totaux est de 1,21 % avec une teneur de 154.14 mg EG/g pour l'extrait ronce et 91.34mg EG/g pour l'extrait de consoude et en flavonoïdes était de 1,78% avec une teneur de 22.83mg EQ/g pour l'extrait de consoude et 154.14 mg EQ/g pour l'extrait de ronce.

La crème bio-cosmétique formulée cicatrisante a été caractérisée par un pH convenable avec la peau et viscosité, une absence d'irritation eu niveau cutané, et aussi efficace sur des personnes ayant des problèmes de peau superficiels. De ce fait l'activité cicatrisante que nous voulions mettre en évidence s'est révélée positive.

On conclue que la consoude possède un excellent pouvoir cicatrisant meilleur que celui de la ronce sur les plaies d'incision avec des pourcentages de contraction des plaies supérieure et meilleure à celui de Madecassol® et que l'évaluation du pourcentage de contraction des plaies traitées par la crème à base de consoude est beaucoup plus rapide et plus efficace par rapport à celles traitées par la crème à base de ronce.

Perspectives

Dans le futur, il sera préférable d'explorer d'autres propriétés biologiques de cette plante médicinale, déterminer les fractions les plus actives, de caractériser les molécules responsables de ses activités et de tester l'évaluation de l'activité cicatrisante en d'autres concentrations.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] : VIDALfr ,2012, pages 2650+356+28p., index., France.
- [2] : Bougendoura Nabila. (2011) pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calamintha ssp nepta* (nabta) et *Ajugavia L.* (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. master en biologie, université abou bakr belkaid, Tlemcen
- [3] : Moreau,2003. < Apparatus for volatile oil determination, Description of New Type >. American Perfumer & Essential Oil Review, 1928, 467-503
- [4] : Sanogo, R. (2006) Le Rôle des Plantes Médicinales
- [5] : MEZITI Asma, 2018. Régulation de l'inflammation par les extraits de *Rubus fruticosus* et *Zizyphus vulgaris*. Doctorat en Sciences, Biologie, Spécialité : Biochimie. Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- [6] : Rhita Zbadi1 , Hicham Mohti2 , Fadila Moussaoui2,2018.Stress oxydatif : évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. Médecine translationnelle. 8p).
- [7] : Sauvion et al., Chapitre 25. Induction natale de la préférence pour l'habitat (NHPI) in Interactions insectes-plantes, IRD Éditions, 2013
- [8] : Martin., 2014 ..Procédé d'extraction des composés phénoliques des huiles végétales
- [9] : COLLIN Sonia, CROUZET Jean. Lavoisier, 2011 - 353 pages ... Sonia Collin,Jean Crouzet,Agence universitaire de la francophonie. Aperçu limité – 2011.
- [10] : F Khater · 2011 · Cité 2 fois — ... présence de dérivés d'acide hydroxybenzoïque ou d'acide hydroxycinnamique,203p.
- [11]: CT Su, VL Singleton - Phytochemistry, 1969 – Elsevier
- [12] : RJ Nijveldt · 2001 · Cité 4088 fois — 2001 Oct;74(4):418-25. doi: 10.1093/ajcn/74.4.418. Authors. R J Nijveldt .
- [13] : Middleton et al., 2000 ; Ksouri et al., 2007, des feuilles de baobab a été réalisé selon Wood et al., (2002). ... protecteurs des artères (Middleton et al., 2000 ; Ksouri et al., 2007).
- [14] : Bruneton, J. (1993) Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2e édition, Tec et Doc., Lavoisier, Paris, 915 p.

- [15] : BRUNETON Jean (EAN13 : 9782743019044) ... de l'édition 2008 de la Pharmacopée européenne et de ses quatre premiers suppléments (07/2009)
- [16] : piquemal,.(2008). Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. Asia of pacific journal of clinical nutrition., 17 (S1) : 275-279.96.
- [18] : E de Rijke · 2006 · Cité 906 fois — E. de Rijke, P.M. Out, W.M.A. Niessen, F. Ariese, C. Gooijer, U.A.T. Brinkman. BioAnalytical Chemistry ... 2006 Elsevier B.V. All rights reserved.
- [19] : Kunieda, T; Fujiyuki, T; Kucharski, R; Foret, S; Ament, S A; Toth, A L; Ohashi, K; Takeuchi, H; Kamikouchi, A; Kage, E—2018-05-01 ... 2018-01-01.
- [20] : MACHEIX Jean-Jacques, FLEURIET Annie, JAY-ALLEMAND Christian. Couverture de l'ouvrage Les ... Date de parution : 05-2005. Ouvrage de 192 p.
- [21] : JH Salem · 2009 · Cité 17 fois — biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse ... (1993) afin d'évaluer l'activité antioxydante des ... Bruneton J. (1999).
- [22] : Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. Asia of pacific journal of clinical nutrition., 17 (S1) : 275-279.96. (2008).
- [23] : IDELA TUMORALE... - 2008 - researchgate.net
- [24] : D benmeziane Farida · 2015 — Auteur(s), Derradji benmeziane Farida (Auteur) Djamai Rachid (Directeur de thèse). Adresse bib. Annaba : [s.n],2015. Collation, 119 f.
- [25] : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé. Liste des plantes médicinales de la Pharmacopée française Xème édition. In: Pharmacopée Française Xème édition [Internet]. Disponible sur:
http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/bdb7871a877feefa68265c7257bad16.pdf 2François Couplan, Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques, Delachaux et Niestlé, 1994, p. 135.
- [26] : [Wound healing effects of a *Symphytum* herb extract cream (*Symphytum x uplandicum* NYMAN:): results of a randomized, controlled double-blind study] Barna M, Kucera A, Hladíková M, Kucera M. Wien Med Wochenschr. 2007;157(21-22):569-74. German.
- [27]: Actifs de la plante *Rubus Fruticosus* L et l'étude de leurs ... diurétique et anti hémorroïdaire (Fournier, 2010 ; Zia-Ul-Haq et al., 2014)
- [28] : Patrons de développement d'une ronce envahissante (*Rubus alceifolius* Poiret. 1993; Oleskevich et al., 1995; Gardner et al., 1997).
- [29] : <https://www.conservation-nature.fr/plantes/rosaceae>

- [30] : <https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/consoude.htm>
- [31] : <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01675622/document>
- [32] : <https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/ronce.htm>
Du bon usage des plantes qui soignent De Jacques Fleurentin Editions Ouest-France 2013 384 pages
- [33] : 98-220 Zduńska Wola ul. Łaska 84. Tel: (43)- 823- 27- 86 ... Rok 2021/2022 · Rok szkolny 2018/2019 · Rok szkolny 2017/2018 · Rok Szkolny 2016/2017, PG2.
- [34] : A Meziti · 2018 · Cité 1 fois — Radovanović et al., 2013 ; Milivojevic et al., 2011). ... Tomczyk (2004) menés sur les feuilles de différentes espèces du genre Rubus y ...112 pages
- [35] : Pinto T, Vilela A, Pinto A, Nunes FM, Cosme F, Anjos R. Influence of cultivar and of conventional and organic agricultural practices on phenolic and sensory profile of blackberries (*Rubus fruticosus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2018;98(12): 4616–24.
- [36] : Türemiş et al (2003) also found that 'Navaho' had the best RI values, whereas 'Loch Ness' had the poorest RI in their study. Kafkas et al (2006) reported
- [37] : https://viagallica.com/v/ronce_des_bois.htm
- [38] : *Rubus ulmifolius* & *Apis mellifera*. Infos. n°10665. Date de création: 01/02/2014. Date de prise de vue: 29/06/2013. Expert: Inra. Auteur. © claudin.jacques
- [39] : Teteamodeler (2010) <http://www.teteamodeler.com/sante/soleil/vichy/imagevy/peau4.jpg>
USDA(2010). US département of Agriculture.
- [40] : Marie FOIT.2013 ; Mémoire pour le certificat hippocratus de conseiller en huiles essentielles ; (la cicatrisation favorisée par les huiles essentielles).
- [41] : Muguet Audey. (2002). Contribution à l'étude de la cicatrisation cutanée – développement d'un modèle expérimental de cicatrisation retardée par ischémie chez le lapin. Thèse présentée à l'université de Claude-Bernard- Lyon I (Médecine – Pharmacie) pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire, 2002, 101p
- [42] : Thi Kim Phung Pham,,2005,,évaluation de la toxicité du rofecoxib et du célécoxib, deux inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase de type 2. 138pages.
- [43] : Rong Xiang Xu ., Page 53,Bruno Regenerative Medicine and Therapy.
- [44] Bob- Books on Demand, 10 févr.2017-64pages ; Le Secret de Beauté des Stars Hpllywoodiennes : L'acné,les Brulures, les Vergetures et les Cicatrices- Disparaissent avec le mucus d'escargot

- [45]: <https://www.bepanthen.ch>
- [46]: Yamada H, Kiyohara, H. Complement-activating polysaccharides from medicinal herbs. In Immunomodulatory agents from plants. H. Wagner, Birkhäuser, Basel; 1999 ; 161-202. Petit Larousse Des Plantes Medicinales / the Little Larousse Dictionary of Medicinal Plants (French Edition) by Gerard Debuigne (2009-11-15) Relié – 1 janvier 1656
- [47]: 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.
- 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
- [48]: http://biblio.univ-antananarivo.mg/pdfs/miasaJulephin_SN_M2_15.pdf
- [49]: Madièye Sene, Firmin Sylva Barboza, Bousso Top, Mamadou Ndiaye, Abdou Sarr, Alioune Dior Fall, Guata Yoro Sy, sene: 239 ... Contribution à l'étude chimique et pharmacologique des feuilles de *Elaeis guineensis* Jacq. ... Cote : thm_2020_0161
- [50]: <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01675622>
- [51]: Démarchez M, Hartmann DJ, Herbage D, Ville G, Pruniéras M. Wound healing of human skin transplanted onto the nude mouse . II. An immunohistological and ultrastructural study of the epidermal basement membrane zone reconstruction and connective tissue reorganization. *Dev Biol.* 1987 May ;121(1):119-29. PubMed PMID : 3552786.
- [52]: Petit Larousse Des Plantes Medicinales / the Little Larousse Dictionary of Medicinal Plants (French Edition) by Gerard Debuigne (2009-11-15) 1 janv. 1656.

Annexes

Matériels :

- Agitateur vortex
- Agitateur magnétique
- Barreau magnétique
- Bécher
- Bain marie
- Ballon à fond rond
- Ballon à fond plat
- Balance
- Boite à pétri
- Entonnoir
- Erlenmeyer
- Eprouvette graduée
- Etiquette
- Lamelle
- Micropipette
- Papier filtre
- Papier aluminium
- Plaque chauffante
- Portoirs
- Rotavavop
- Spatule
- Seringue
- Balance
- Spectrophomètre UV
- Tube à essai

Réactifs:

- Acide gallique
- Alcool chirurgical 70%
- AlCl₃ (trichlorure d'aluminium)
- Carbonate de sodium 7,5%
- Ethanol
- Eau distillé
- Quercitine

Dilution de ethanol à 70%:

- ✓ On a utilisé la table de Gay-Lussac appelée aussi table de mouillage de l'alcool, pour la dilution de l'alcool.
- ✓ Pour la dilution de 70%, il faut ajouter l'eau distillé en ml a la concentration initial X pour obtenir la concentration désirée.

Dilution de l'extrait pour la formulation des pommades traitantes :

- ✓ 9,75g d'extrait diluée dans 4g de vaseline.

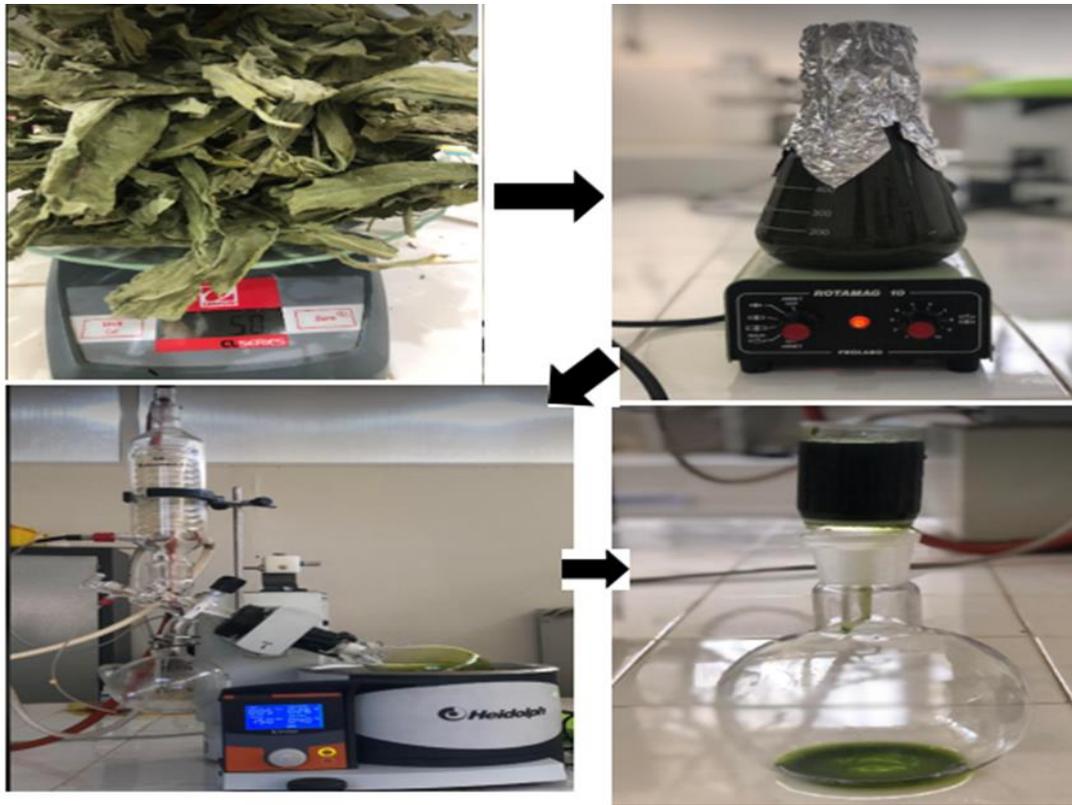


Figure 17 : Extraction de polyphénol

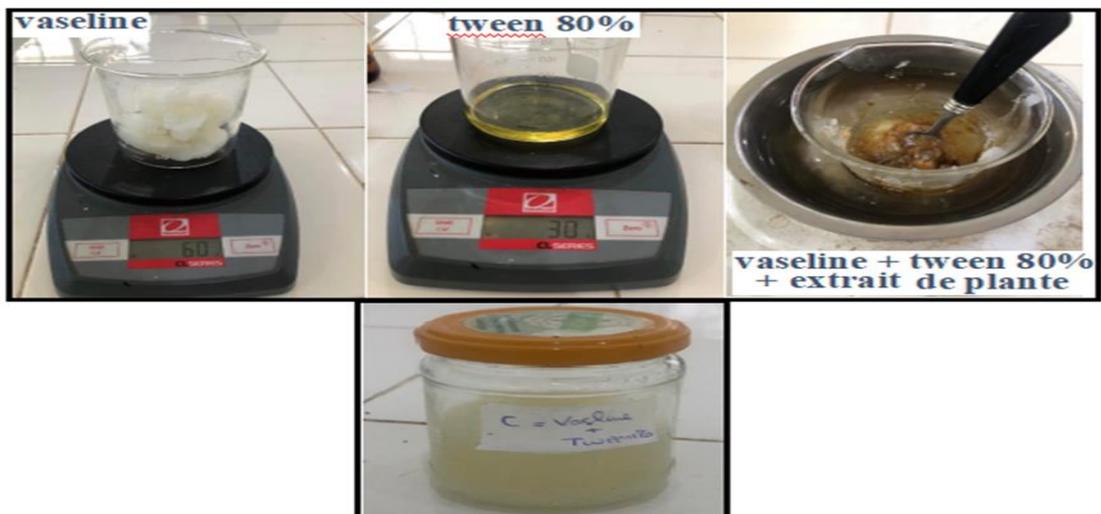
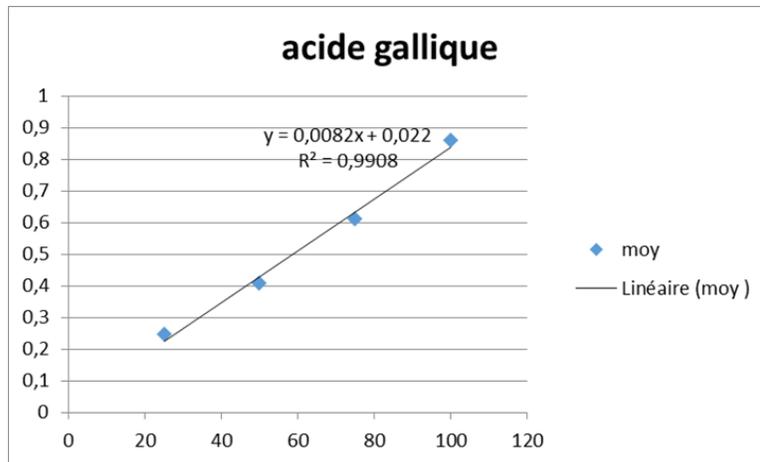
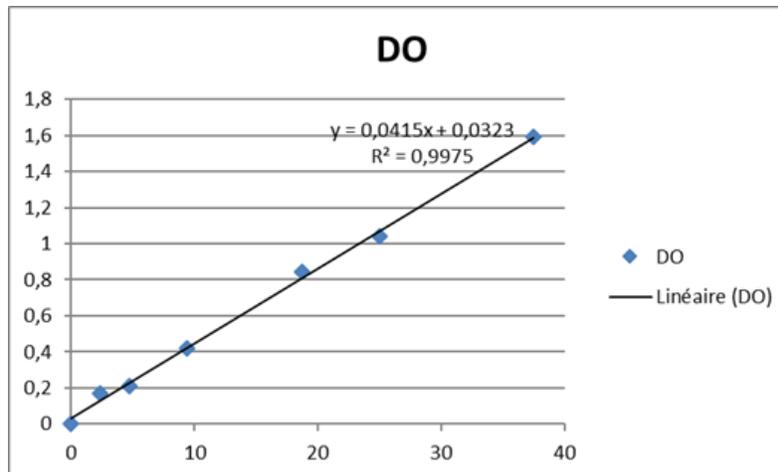


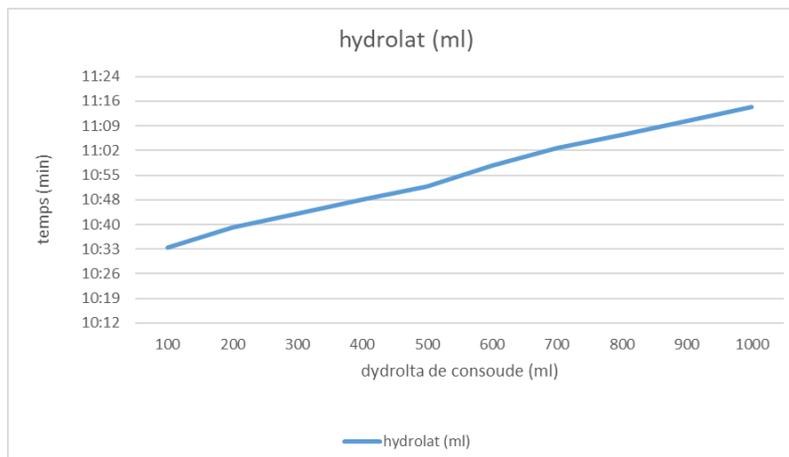
Figure 18 : Méthode de préparation de traitement par les extraits obtenus et le témoin vaseline



Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage de polyphénols totaux



Courbe d'étalonnage de la quercétine



Calcul de pourcentage de cicatrisation

Pourcentage de diamètre – 100% = pourcentage de cicatrisation

3cm \longrightarrow 100% pourcentage de diamètre : $(2 \times 100) \div 3 = 66.66$

2cm \longrightarrow X

$100 - 66.66 = 33.34\%$

Le pourcentage de cicatrisation pour cette plaie de 2cm est de 33.34%

Tableau : Les composants, leurs quantités ainsi leur fonction dans la crème

Phase	Composant	Pourcentage %	Fonctionnement	Propriété physique
P. Aqueuse	Eau déminéralisé	17,1	Ingrédients de base	Liquide transparent
P. Aqueuse	Hydrolat de consoude	19	Eau floral	Liquide transparent
P. Aqueuse	Polyphénol actif de consoude	22,5	Principe actif hydrosoluble	Liquide vert
P. Huileuse	Huile de coco	123,5	Hydratation de la peau	Liquide blanc transparent
P. Huileuse	Tween 80 %	9,5	permet une neutralisation et une meilleure homogénéisation	liquide visqueux jaune
P. Huileuse	Cire d'abeille blanche	11,4	Effet filmogène et nourri la peau	Aspect peu solide Couleur blanche
Additifs	Huile de romarin	3,8	Aditif odeur	Liquide transparent a jaune pale
Additifs	Vit E	0,95	Conservateur	Liquide transparent
	Phénooxyethanol caprylyl glycol	0,2	Conservateur	Poudre blanche