



Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



*Université Saad Dahlab de Blida
Faculté Des Sciences agronomiques
Vétérinaires et biologiques
Département de biologie*

*Mémoire fin d'étude en vue de l'obtention du
Diplôme de Master en biologie
Option : Phytothérapie et santé*

Etude phytochimique de *Rubus ulmifolius* *Schoot* et étude de l'effet cicatrisant et anti inflammatoire in vivo

Présenté par :

BOUHEDIR Nawal

Soutenue le 04/07/2013

Devant le jury :

M ^{me} OUARAB S.	Maitre de ² conférences	USDB	Présidente
Mr BOUKHATEM N.	Maître-Assistant A	USDB	Examineur
M ^{me} BENNASSEL N.	Maitre-assistant A	USDB	Examinatrice
M ^{me} SAIDI F.	Professeur	USDB	Promotrice

Année universitaire : 2011/2012



REMERCIEMENT

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant pour nous avoir donné la santé.

Nous tenons vivement à remercier notre promotrice M^{me} SAIDI.F qui nous a guidées et encouragées à établir ce modeste travail.

Nous exprimons nos remerciements aux honorables membres du jury :

M^{me} OUARAB qui nous a honorés de sa présidence de notre jury, M^{me} BENNASSEL et M^r BOUKHATEM avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions M^{me} BETTACH, la technicienne du laboratoire de la police scientifique.

Nous tenons à remercier tous les personnels et les responsables de la station expérimentale du département d'Agronomie.

Nos remerciements vont à tous nos enseignants qui nous ont guidés sur le chemin de la science tout au long de notre cursus universitaire.

Dédicace

Je dédie le fruit d'une année de travail à :

Mes parents :

Pour vos mains qui ont tant travaillés.

Pour votre cœur qui m'a tant donné.

Pour votre sourire qui m'a tant réchauffé.

Pour vous qui m'avez tant aimé.

Mes frères et sœurs qui mon soutenue a chaque étape de ma vie.

A tous mes enseignants du primaire à l'Université.

A ma promotrice qui m'avez encouragée et soutenu dans les pires moments de ma vie



Référence
Référence
Bibliographique
Bibliographique

INTRODUCTION

Partie II
Partie II
Matériel et Méthodes

Partie I

Bibliographique

*

Conclusion

Conclusion

Partie III

Résultat et Discussion

Liste des abréviations

CRD : Centre de recherche et de développement

PFE : Projet de fin d'étude

ADP : Adénine di phosphate

DHHDP : Déhydrohexahydroxydiphénique

HHDP : Hexahydroxydiphénique

ml : Millilitre

Lot PM : Lot de lapins traités avec pommade

Lot PD : Lot de lapins traités avec la poudre

Ph. EUR : pharmacopée européenne

HPLC : High performance liquid chromatography

R. : *Rubus*

H : Heure

% : Pourcentage

g : Gramme

mn : Minute

SEA : Station expérimental d'agronomie

Liste de figures

Figure A : Les fruits de la ronce à feuille d'orme.

Figure B : La fleur de la ronce à feuille d'orme.

Figure. 1: Les fruits et les fleurs de *R. ulmifolius* « la ronce à feuilles d'orme ».

Figure. 2: Feuilles et tige de *R. ulmifolius*.

Figure. 3: Brûlure superficielle.

Figure. 4: Brûlure du second degré et formation d'un œdème.

Figure. 5: dilatation des vaisseaux et formation d'un œdème.

Figure. 6: Brûlure du second degré profond et décoloration du derme.

Figure. 7: coupe histologique par la technique de la double coloration.

Figure. 8: Protocole expérimental de l'extraction des tanins.

Figure. 9: lapin épilé au niveau de la cuisse.

Figure. 10: Zone brûlée par ébouillement.

Figure. 11: Figure 12 : Injection de la solution diluée des tanins de *R. ulmifolius*

Figure. 12: Figure 13: Coupe transversale de la feuille de *Rubus ulmifolius* observée au microscope.

Figure. 13: Photonique G : 40X.

Figure. 14: Coupe transversale dans la feuille de *R. ulmifolius* observée au microscope photonique G : 10.

Figure. 15: Coupe transversale dans la tige de *R. ulmifolius* observée au microscope photonique G : 100X.

Figure. 16: Disposition des poils en touffe dans la coupe transversale observée au microscope photonique G X100

Figure. 17: L'extrait de tanins de *R. ulmifolius*.

Figure. 18: Rasage localisé et brûlure thermique par de l'eau bouillante à 100°.

Figure. 19: Aspect de la peau après la brûlure.

- Figure. 20:** Lapin traité avec la poudre de la plante.
- Figure. 21:** Lapin traité avec la pommade « sulfazine »
- Figure. 22:** Photo prise le 4^{ème} jours du traitement avec la poudre.
- Figure. 23:** Photo prise le 4^{ème} jours du traitement de la pommade.
- Figure. 24:** Lots des lapins témoin traité à l'eau physiologique.
- Figure. 25:** Accélération de la cicatrisation de la partie brûlée à partir du 6^{ème} jour du traitement.
- Figure. 26:** Pénétration difficile de la pommade dans la zone brûler dure.
- Figure. 27:** Photo prise après dix jours de traitement avec la poudre de la ronce.
- Figure. 28:** Photo prise après dix jours se traitement avec la pommade.
- Figure. 29:** Lot des PD qui commence le renouvellement des poils après douz jours de traitement.
- Figure. 30:** Lot PD (sulfazine) après douz jours de traitement.
- Figure. 31:** Le lot traités avec la pommade après deux semaine de traitemen.
- Figure. 32:** Zone d'inflammation dure dépourvue de poils après dix-sept jours de traitement du lot PM.
- Figure. 33:** Lots de lapin PM observée après vingt de la brûlure.
- Figure. 34:** Lot de lapins PD observe après quarante jours de la brûlure.
- Figure. 35:** Histogramme comparatif entre le pourcentage de réduction de l'œdème.
- Figure. 36:** Brûlure thermique deuxième degré profond et troisième degré.
- Figure. 37:** La peau sous l'œdème blanchâtre après rupture de l'œdème.
- Figure. 38:** Photo prise après quatre jours du traitement avec la poudre de *R.ulmifolius*.
- Figure. 39:** Application du traitement phytothérapeutique (la poudre de *R.ulmifolius*.
- Figure. 40:** photo prise après cinq jours du traitement avec la poudre.
- Figure. 41:** Après une semaine du traitement avec la poudre.
- Figure. 42:** Photo prise après dix jours du traitement avec la poudre de la plante.
- Figure. 43:** PHOTO prise après deux semaines du traitement.

Liste des tableaux

Tableau n° I : Les résultats de test phytochimiques dans les feuilles de *R. ulmifolius*.

Tableau n° II : Le rendement en tanins de *R. ulmifolius*.

Tableau n° III : le pourcentage d'augmentation d'œdème et l'effet anti inflammatoire exprime en pourcentage de réduction.

Tableau n° IV : les moyennes des pattes gauches et droites des différents lots... (Annexe IV).

Résumé :

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales et aromatiques, nous nous sommes intéressées à l'étude d'une plante médicinale, possédant plusieurs vertus thérapeutiques reconnus par la médecine traditionnelle algérienne, le *Rubus ulmifolius*.

Notre travail a porté, d'une part, sur un screening chimique et d'autre part sur une étude biologique de la feuille de *Rubus ulmifolius*. En ce sens, une étude histologique a été effectuée afin de localiser les sites sécréteurs. Par ailleurs des tests phytochimiques préliminaires ont été effectués. L'extraction des tanins a été réalisée sur les feuilles et l'analyse par HPLC a montré la présence de deux types de tanins en l'occurrence d'acide gallique et le 2^{ème} qui n'a pas été identifié car il n'y avait pas d'étalon au sein de la structure.

Nous avons effectué un test biologique sur lapins dont les flancs ont subi un choc thermique afin de mettre en évidence l'effet de la poudre des feuilles séchées sur les brûlures. Cette étude a pour but de confirmer les activités anti inflammatoire et cicatrisante de la plante.

L'étude de l'activité anti inflammatoire égedes tanins, extraits à partir des feuilles, réalisée sur souris a été concluante.

Motsclés : *Rubus ulmifolius*, brûlure, cicatrisant, anti inflammatoire, tanins

Abstract :

As part of the enhancement of the medicinal and aromatic plants, we took interest in the study of a medicinal plant, having several therapeutic virtues recognized by the Algerian traditional medicine, the *Elmleaf blackberry*

Our work is based, on the one hand, on a chemical screening, on the other hand on a biological study of the *Rubus ulmifolius* leaf. In this sense, a histological study was carried out so as to localize the secreting site. Besides, preliminary phytochemical tests were done. The tannins extraction was realized on the leaves and the HPLC analysis showed the presence of two types of tannins, as it happens, of gallic acid and the second was not identified because there was no standard within the structure.

We carried out a biological test on burned rabbits in order to highlight the dried leaves powder's effect on the burnings. The goal of this study is to confirm the anti-inflammatory and the healing activities of the plant.

The study of the anti-inflammatory activity of those tannins, extracted from the leaves, on the mice has been convincing.

Keywords: *Elmleaf blackberry*, burnings, healing, anti-inflammatory, tannins.

الملخص

في إطار تبيين الأعشاب الطبية فإننا مهتمون بدراسة عشبة طبية لها عدة خصائص علاجية معترف بها من قبل الطب التقليدي الجزائري، إنها: توت العليق.

يستند عملنا من جهة، على غربة كيميائية. ومن ناحية أخرى على دراسة بيولوجية لورقة توت العليق في هذا المفهوم، تم إجراء دراسة نسيجية من أجل حصر الموقع المفرز. فضلا عن ذلك، تم القيام باختبارات بيئية كيميائية أولية. تم استخراج الديغ من الأوراق و التحليل من قبل HPLC ، و أثبت وجود نوعين من الديغ و هذه الحالة، حمض عفصيك، والثاني لم يتم التعرف عليه، لأنه لم يكن لديه نماذج في الهيكل. لقد أجرينا اختبار بيولوجيا على أرناب مصابة بحروق من أجل توضيح أثر مسحوق الأوراق الجافة على الحروق. تهدف هذه الدراسة إلى تأكيد النشاطات المضادة للإلتهاب و الندوب للعشبة. كانت دراسة النشاط المضاد للإلتهاب حول الديغ، مستخلصات الأوراق، التي أجريت على الفئران مُرضية.

الكلمات المفتاحية: توت العليق ، الحروق ، الندوب، مضادة للإلتهاب، الديغ.

Sommaire

Introduction.....	1
Partie I : Synthèse Bibliographique	
Chapitre I : La phytothérapie et les plantes médicinales	
I .La phytothérapie et la science moderne.....	3
II. Définition	3
II.1. La phytothérapie.....	3
II.2.Les plantes médicinales	3
II.3.La récolte.....	4
II.4.Le séchage.....	4
II.5.La conservation.....	4
III. Mode d'utilisation.....	5
III.1. Usage interne.....	5
III.2. Usage externe.....	5
III.3. Les extraits.....	5
III.4. Les poudres.....	6
III.5. Les huiles essentielles.....	6
III.6. Les autres formes galéniques	6
Chapitre II : Etude de la plante	
II.1.Appellations et synonyme	8
II.2.Systématique.....	8
II.3.Description morphologique	8
II.4.Mode de reproduction	9
II-5.Les exigences écologiques.....	9
II-6.Habitat et répartition.....	9
II.7.Propriétés et vertus thérapeutique de <i>R.ulmifolius</i>	12
II.8.Les principaux constituants.....	12
II.8.1.Les tanins	12
a)Classification des tanins	13
b) Propriétés physico-chimique.....	14
c)Propriétés biologiques des tanins.....	14

Chapitre III : Les brulures

III.1.Définition de la peau	17
III.2.Le rôle de la peau	17
III.3. Physiopathologie des brûlures	17
III.3.1. Brûlures thermiques.....	17
III.4. Les différents degré des brûlures	17
III.5. La cicatrisation épidermique.....	20
III.5.1. La rétraction cicatricielle.....	21

Partie II : Partie expérimental

I. Matériel	22
II. Méthode.....	22
II.1.Etude histologique.....	23
II.2.Tests phytochimiques (screening chimique).....	25
II.3.Extraction et analyse de tanins.....	28
II.3.1.Extraction des tanins.....	28
II.3.2.Etude quantitative des tanins.....	30
II.3.3.Analyse des tanins par HPLC.....	30
II.4.Test biologique.....	31
II.4.1.Etude de l'activité cicatrisante et anti inflammatoire sur cobaille.....	31
II.4.2.Test de l'activité anti inflammatoire des tanins de <i>R.ulmifolius</i>	32
II.5.Test clinique sur personne brûlé.....	35

Partie III : Résultat et discussion

I. Résultat de l'étude histologique.....	36
II. Résultat de screening chimique.....	40
II.1.Résultat des tests phytochimiques.....	40
II.2.Résultat de l'extraction de l'étude quantitative des tanins.....	42
II.3.Résultat de l'analyse HPLC.....	43
III. Résultat de screening biologique.....	45
III.1.Résultat anti inflammatoire et cicatrisons de la poudre sur cobaille.....	45
III.2.Résultat de l'activité anti inflammatoire de tanins de <i>R.ulmifolius</i>	57
IV. Résultat de teste clinique de la poudre de <i>R.ulmifolius</i>	59
Conclusion.....	66

Introduction :

Depuis les temps les plus anciens, les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine) ont eu recours aux plantes médicinales pour leurs propriétés thérapeutiques.

Actuellement, cette médication, par les plantes, connaît un regain d'intérêt notable, et c'est grâce aux études scientifiques basées sur les méthodes analytiques et les expérimentations nouvelles, que le monde médical découvre de plus en plus, le bien fondé des prescriptions empiriques des plantes médicinales.

Le monde végétal offre des ressources inépuisables et l'homme depuis les temps les plus anciens, a appris à utiliser les plantes avec opportunité pour ses besoins les plus élémentaires (Bernard, 2001).

Parmi les disciplines scientifiques qui s'intéressent à la médecine traditionnelle, l'ethnobotanique est considérée comme une science qui permet de traduire le savoir-faire populaire en savoir scientifique (Mehdioui, 2007).

Dans notre travail, nous nous sommes inspirés d'un traitement traditionnel Algérien, que nous avons traduit en traitement scientifique.

Pour réaliser ce travail, nous avons adopté les démarches suivantes :

- L'étude histologique, les tests phytochimiques préliminaires ainsi que l'extraction des tanins à partir des feuilles de *R. ulmifolius* ont été réalisés au sein du laboratoire PFE et biologie végétale de département.
- Au laboratoire de la police scientifique nous avons analysé les extraits des tanins par chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC.
- Au laboratoire de biotique SAIDAL nous avons fait le broyage de la plante *R. ulmifolius* qui a été séchée auparavant.

- Afin de mettre en évidence les activités anti inflammatoire et cicatrisante de la poudre de feuille de *R.ulmifolius*, nous avons réalisé un test biologique sur lapins au sein de la SEA.
- Au laboratoire de pharmacotoxicologie du CRD SAIDAL, nous avons étudié l'activité anti inflammatoire des tanins après leurs extractions de la plante *R.ulmifolius*.
- Nous avons terminé notre travail par un test clinique de la poudre de *R. ulmifolius*.

Chapitre I : la phytothérapie et les plantes médicinales

I. La phytothérapie et la science moderne :

Peu à peu, à partir du 19^e siècle, la phytothérapie acquiert une dimension plus rigoureuse, qui comprend l'examen botanique des végétaux. La pharmacie moderne s'est intéressée de près aux constituants actifs présents dans les plantes. Les progrès de la chimie et la physiologie ont permis de mettre en évidence de façon scientifique les principes actifs des plantes, qui étaient utilisés de façon empirique. Cette démarche, qui allie modernité et tradition, a montré que chaque plante renfermait en réalité plusieurs constituants actifs que la recherche pharmaceutique a isolé les uns des autres, afin de mieux en maîtriser les effets (Ane, 2009).

II. Définitions :

II.1 La phytothérapie :

La phytothérapie c'est le traitement par les plantes (du grec phyton, qui signifie : plantes, et terapeia : traitement). La phytothérapie est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et / ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes ; (Robert, 2003)

Elle existe depuis que le monde tire ses ressources exclusivement des plantes en utilisant des posologies courantes et classiques, et se pratique également d'une façon très courante sous forme de tisane (Ane, 2006).

La phytothérapie dispose dorénavant de tous les atouts qui lui permettent d'accéder au rang des disciplines thérapeutique majeures (Peronny, 2005 ; Loic, 2001).

II-2. Plantes médicinales :

Les plantes sont dites médicinales lorsqu'un de leurs organes, par exemple la feuille, possède des activités pharmacologiques ; ou possède au moins une partie ayant des propriétés médicamenteuses (James A, 1997 ; Beloued, 2005 ; Mohammedi, 2006).

II-3. La récolte :

L'efficacité d'une plante dépend nécessairement de la récolte, de la conservation, de la culture et de l'environnement.

Les ou leur organes (feuilles, bourgeons, fleurs, fruits) doivent être cueillis par temps sec et de préférence après le lever du soleil.

- La cueillette des feuilles se fait au moment propice, ou qu'elles ont atteint leur plein épanouissement.
- Les fruits soient bien mûrs pour les récoltes.
- Les fleurs sont cueillies en pleine éclosion.
- Les racines et les écorces des arbres et arbrisseaux ne devront être cueillis qu'à la fin du cycle de développement des parties aériennes, habituellement pendant l'automne

(Ane, 2006 ; René, 2009 ; Robert, 2003 ; James, 1997).

II-4. Le 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.

L'idéal serait de faire sécher les plantes à l'ombre, à chaud dans un endroit vastes et bien aéré (Messaoudi, 2008 ; Halimi, 2004 ; Bernard, 2001).

II-5. La conservation :

Les plantes séchées, lorsqu'il ne reste plus aucune trace d'humidité se rangent soigneusement et séparément dans des récipients adéquats portant le nom de la plante et la date de récolte (René, 2009 ; Robert, 2003 ; Beloued, 2005 ; Equipe des enseignants, 2007).

III- Mode d'utilisation des plantes médicinales:

On peut faire agir les plantes soit en les prenant par voie interne, ou par voie externe. Dans le premier cas, on a le choix entre l'infusion, la décoction, la macération, le jus, la poudre. Dans le second cas, on peut recourir aux cataplasmes, aux lotions, aux compresses, aux pansements, et au gargarisme(Goldstein, 2003).

III-1. Usage interne :

Cet usage concerne les remèdes destinés à être pris par voie buccale (avalés, absorbés par la muqueuses buccale ou sublinguaux) ; ou par voie injectable.

III-2. Usage externe :

Les remèdes d'application externe sont destinés à être utilisé sur l'épiderme (solution, crème, pâtes, poudre, compresses, savons). Ils peuvent être inhalés dans les orifices corporels (nez, oreille, cavité buccale, anus).

III-3. Les extraits :

Les différents types sont définis par la pharmacopée européenne :

Les extraits sont des préparations liquides (extraits fluides et teintures), de consistance semi-solide (extraits mous ou fermes) ou solide (extraits secs), Ils sont obtenus à partir des plantes ou d'animaux (Robert, 2003 ; Lucienne, 2010).

A- Les extraits fluides :

Les extraits fluides sont des préparations liquides dont en général, la partie en masse ou en volume correspond à la partie en masse de drogue végétale séchée.

Les préparations sont ajustées de façon à répondre aux exigences de la teneur en solvants et dans les cas appropriés en constituants (Anonyme, 2003 ; Anonyme, 2006).

B- Les extraits mous ou fermes :

Les extraits mous ou fermes sont des préparations semi-solides préparées par évaporation total ou partielle du solvant ayant servi à leur extraction.

Ils satisfont aux limites concernant le résidu sec et à l'essai limite du solvant utilisé.

III-4. Les poudres :

Les formes pulvérulentes de la plante sont décrites dans les pharmacopées. Leur préparation implique généralement le séchage préalable, à une température qui est précisée, ou une cryodessiccation de différents organes de la plante. Certaines poudres doivent être tamisées. Car les parties les plus dures correspondent à des zones clarifiées ou de xylème qui ont respectivement un rôle de soutien et de conduction de la sève, mais qui n'accumulent pas les constituants actifs, contrairement aux parenchymes, faciles à pulvériser.

La classification granulométrique des poudres par tamisage est décrite par la Ph. EUR :

- poudre grossière
- Poudre modérément fine
- Poudre fine
- Poudre très fine

Dans une monographie, le numéro de tamis est indiqué pour une poudre donnée et correspond au passage d'un minimum de 97 % de la poudre (Robert A, 2003).

III-5. Les huiles essentielles :

Un liquides d'odeur et de saveur généralement forte, elles sont obtenues par entraînement à la vapeur d'eau, à partir des plantes fraîches ou sèches (Paul, 2007 ; Messaoudi, 2008).

III-6. Les autres formes galéniques :

- **L'alcoolat :**

C'est un alcool chargé par la distillation des principes volatils d'une drogue (alcoolat simple) ou de plusieurs plantes (alcoolat composé).

- **L'alcoolature :**

C'est une préparation résultant de l'action dissolvante de l'éthanol de titre élevé et à froid, sur des plantes fraîches qui perdraient toute activité si elles étaient utilisées à l'état sec.

- **Les suspensions intégrales de plantes fraîches :**

A priori, cette forme galénique est présentée comme conservant du potentiel biochimique de la plante fraîche. Dès la récolte, la plante est congelée, à la fois pour bloquer les processus biochimiques et éviter le rôle métabolique des enzymes, mais aussi pour que l'eau des tissus, qui représente environ 70% de la masse du végétal, soit sous une forme assurant techniquement le broyage de la plante, sans risquer de former une bouillie inutilisable.

Le **cryobroyat** est alors mis en suspension dans de l'alcool à un titre voisin de 30%, assurant ainsi le passage de la température de congélation à celle de la température ambiante, compatible avec un mode de commercialisation et d'emploi par le patient (Anonyme, 2006).

Chapitre II : Etude de la plante

II-1. Nom vernaculaire:

- Nom vernaculaire algérien : Allaique (Beloued, 2005; Halimi, 2004)
- Nom français : Ronce à feuilles d'ormes (Lavoisier, 2003)
- Synonymes : Murier sauvage, Murier des haies (Messaoudi, 2008 ; Paul, 2007 ; Equipe des enseignants, 2007)
- Nom anglais : Elmleaf blackberry (Anonyme, 2002; Anonyme, 2006)
- Nom amazigh : Tassenante (Ait youcef, 2006)

II-2. Systématique :(Boukef, 1986)

Règne	<i>Plantae</i>
Sous règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	Spermatophyta
Sous embranchement	Angiospermatophyta
Classe	<i>Magnoliopsida, dicotylédones</i>
Sous classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Rosales</i>
Famille	<i>Rosaceae</i>
Genre	<i>Rubus</i>
Espèce	<i>Rubus ulmifolius Schott</i>

II-3. Description morphologique :

Partie aérienne : C'est un arbrisseau épineux vivace pouvant atteindre 3 m de longueur. La tige est longue, rougeâtre et anguleuse pourvue d'aiguillons robustes à base dilatée, plus ou moins dense. Elle est garnie de nombreuses glandes pédicellées (Boukef, 1986; Lucienne, 2010 ; Messaoudi, 2008).

- **Les feuilles** : sont alternes à 3 ou 5 folioles (Anonyme, 2003; Equipe des enseignants, 2007 ; Lavoisier, 2003). Elles sont ovales et dentées, avec une nervure

médiane couverte de fines épines (Messaoudi, 2008). Elles sont de couleur vert foncé sur la face ventrale (Boukef, 1986). Les pétioles sont armés d'aiguillons.

- **Les fleurs :** sont disposées en grappes terminales. Les fleurs présentent cinq pétales blanches ou roses à pédoncules très étalés garnis d'aiguilles falciformes (Boukef, 1986; Equipe des enseignants, 2007 ; Lavoisier, 2003).

II-4. Mode de reproduction :

La ronce se reproduit sexuellement, la semence exige la stratification, où est mieux semé au début de l'automne sous châssis froid. Ou par stolons, marcottage, drageons et bouturage (Messaoudi, 2008).

II-5. Les exigences écologiques :

Les différentes espèces de *Rubus* tolèrent les climats des régions froides comme des régions tempérées, on les trouve au bord des mers (Anonyme, 2008)

L'espèce *Rubus ulmifolius*, à l'état sauvage préfère les habitats ouverts, on les rencontre dans des endroits ensoleillés ou semi ombrés (Anonyme, 2000), au sol, elle tolère la craie, les sols argileux, et même des sols pauvres tant qu'ils ne sont pas à sec (Anonyme, 2000)

II-6. Habitat et répartition :

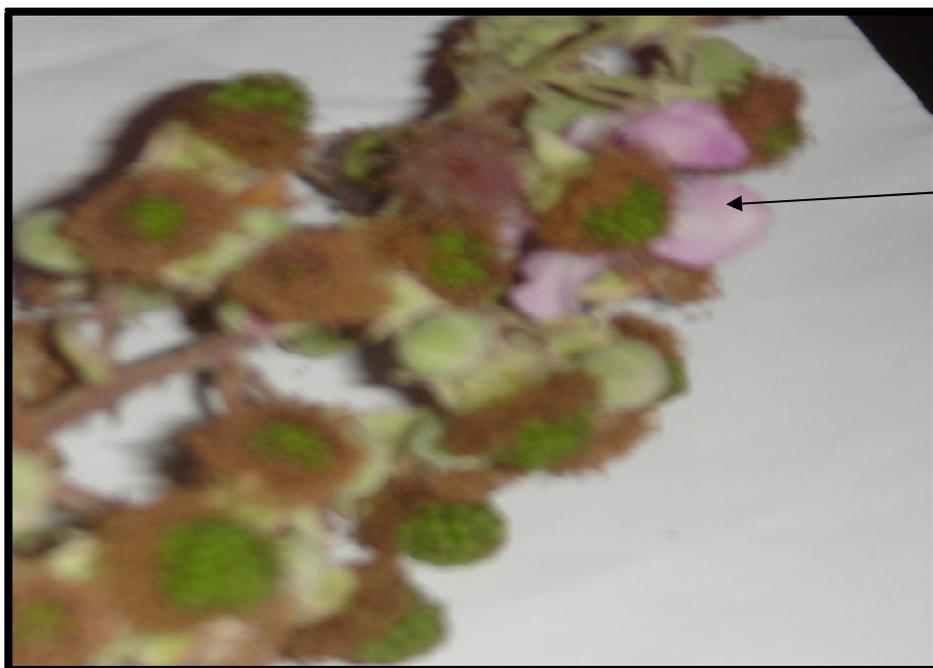
Elle se rencontre dans les lisières des forêts, clairières, les talus, sur les décombres, ou elle forme des haies compactes et infranchissables.

On la trouve dans toute l'Europe, en Asie, en Afrique du nord. En Algérie, dans les forêts du Tell (Halimi, 2004)



Les fruits

Figure A : les fruits de la ronce à feuille d'orme



La fleur rose

Figure B : la fleur de la ronce a feuille d'orme

Figure 1 : Les fruits et les fleurs de *Rubus ulmifolius* « la ronce à feuilles d'orme »

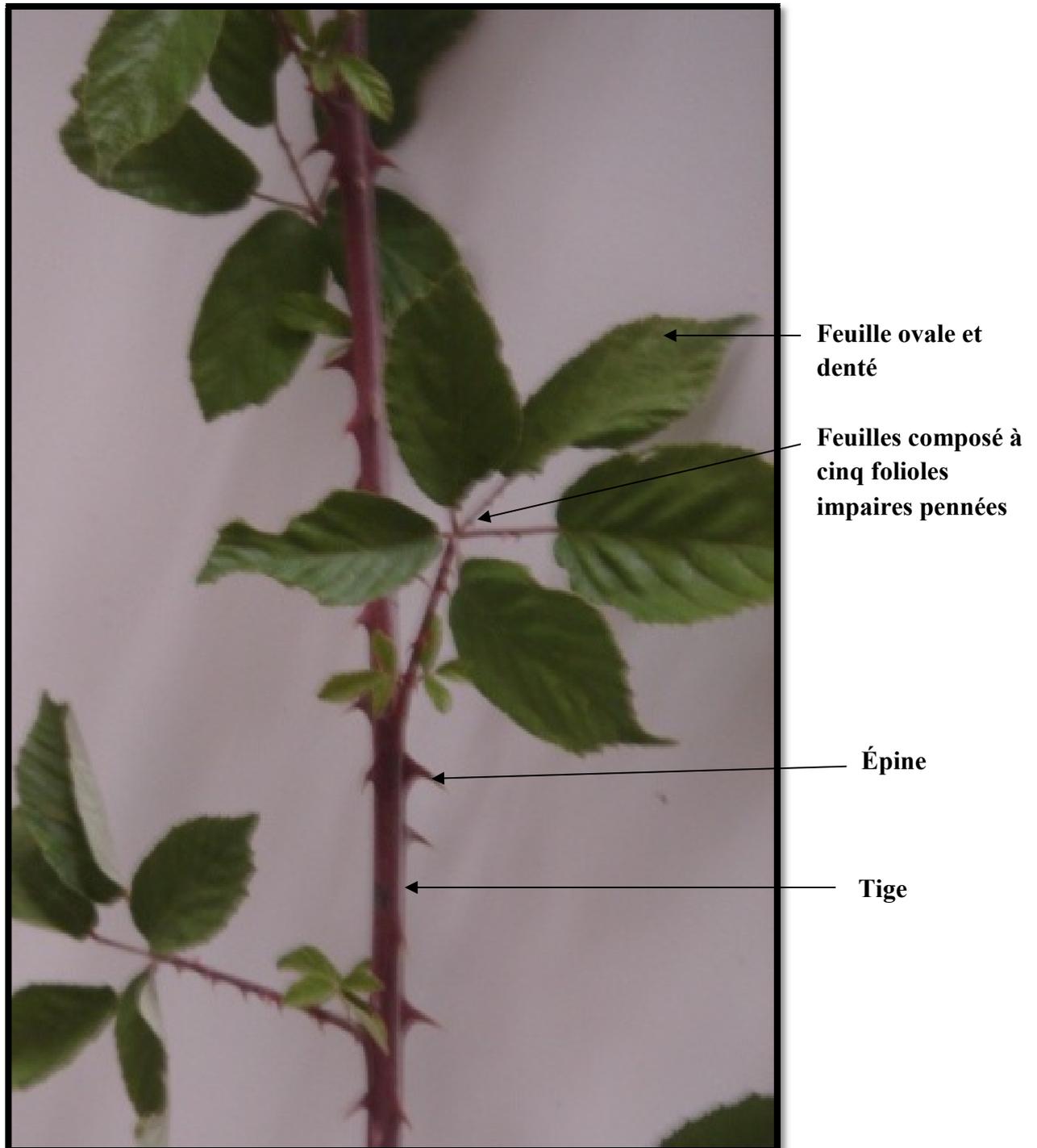


Figure 2 : feuilles et tige de *Rubus ulmifolius*

II-7. Propriétés et vertus thérapeutique:

La richesse de *R. ulmifolius* en tanins, lui confère des vertus astringentes (Messaoudi, 2008 ; Anonyme, 2003 ; Bruneton, 2009) et anti diarrhéique. Elle a une action protectrice des vaisseaux capillaires (Equipe des enseignants, 2007 ; Anonyme, 2003).

Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés anti inflammatoire, anti viral et anti microbienne (Anonyme, 2006).

II-7-1. Usage externe :

Elle active la cicatrisation des ulcères et des plaies dues aux brûlures (Lucienne, 2010 ; Beloued, 2005 ; Robert, 1990).

II-8. Les principaux constituants :

Les fruits renferment de la vitamine C, des flavonoïdes, des pectines, des acides organiques (Anonyme, 2003 ; Lucienne, 2010 ; Bonnassieux, 1988). Les feuilles de la ronce sont riches en fractions phénoliques, plus précisément en tanins (5-14%) (gallotanins et d'ellagitanins) également des acides organiques (acide malique, acide succinique, acide oxalique, acide lactique et pectine) (Equipe des enseignants, 2007 ; Valnet, 1992 ; Lucienne, 2010)

II-8-1. Les tanins :

L'importance des plantes à tanins est liée à leurs propriétés tannantes, c'est-à-dire à la propriété qu'ils ont de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible : le cuir (Mohammedi, 2006 ; Bruneton, 2009)

La résultante est l'établissement de liaison entre les fibres de collagène de la peau, ce qui confère à cette dernière une résistance à l'eau, à la chaleur et à l'abrasion. Cette aptitude des tanins à se combiner aux macromolécules explique qu'ils précipitent la cellulose, les pectines, les protéines. Elle explique également leur astringence, cette âpreté caractéristique : en précipitant les glycoprotéines riches en proline que contient la salive, les tanins font perdre à celle-ci son pouvoir lubrifiant.

La combinaison entre les tanins et les macromolécules s'établit par l'intermédiaire d'interactions hydrophobes et des liaisons hydrogènes entre les groupements phénoliques des tanins et les protéines et autres polymères. D'autres types de liaisons irréversibles doivent également intervenir pour assurer la stabilité dans le temps de la combinaison entre les tanins et les structures du collagène. C'est le cas de liaisons covalentes qui s'établissent après oxydation des phénols en quinones (Guedira, 2005).

Toutefois, une condition est nécessaire à la formation de ces liaisons. En effet la masse moléculaire du tanin doit être comprise entre des limites bien définies. Si celle-ci est trop élevée, la molécule ne peut pas s'intercaler entre les espaces interfibrillaires de la macromolécule ; si elle est trop faible, la molécule s'intercale, mais ne peut pas former un nombre suffisant de liaisons pour assurer la stabilité de la combinaison (Biaye, 2005).

a) Classification des tanins :

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

➤ Tanins hydrolysable :

Ces sont des Oligo- ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol. Le sucre est très généralement le glucose. L'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des *tanins galliques*, soit l'acide Hexahydroxydiphénique et ses dérivés d'oxydation (DHHDP, acide chébulique) dans le cas des tanins classiquement *dénommés tanins éllagiques*. Depuis 1985, plusieurs représentants d'une nouvelle catégorie de tanins ont été isolés. Ces tanins appelés *tanins complexes*, sont des éllagitanins modifiés résultant de l'addition d'un dérivé phénylchromanique sur une molécule d'ester HHDP du glucose : flavanol (flavano-éllagitanin), procyanidol (procyanidino-éllagitanin).

Les tanins galliques (tanins éllagiques) et les tanins déhydroéllagique (simples ou complexes) sont caractéristiques des **Angiospermes Dicotylédones** (principalement

des Rosidae, Dileniidae et Hamamelidae) sauf les Astérides chez les quelils sont généralement absents (Mohammedi,2006 ; Bruneton, 2009)

➤ **Tanins condensés :**

Les tanins condensés ou *proanthocyanidols* sont des polymères flavaniques. Ils ont été isolés ou identifiés chez les gymnospermes et ptéridophytes (Bruneton, 2009)

b) Propriétés physico-chimiques :

Les tanins se dissolvent dans l'eau et donne des solutions colloïdales. Toutefois leur solubilité varie selon le degré de polymérisation (elle diminue lorsque celui-ci augmente). Ils sont solubles dans les alcools et l'acétone. Les solutions aqueuses ont une stabilité généralement modérée, variable selon la structure. Ainsi, lors de l'extraction par l'eau bouillante (c'est-à-dire dans les conditions de décoction) un tanin tel que la géraniine est décomposé en trente minute en acide gallique, acide éllagiques. Les formes dimères et oligomères des esters galliques et HHDP du glucose sont également assez instables. Comme tous les phénols les tanins réagissent avec le chlorure ferrique. Ils sont précipités dans les solutions aqueuses par les sels des métaux lourds ainsi que par la gélatine.

Les tanins hydrolysables et les tanins condensés peuvent être se distinguent par leur comportement en milieu acide (Biaye, 2005).

c) Propriétés biologiques des tanins :

La plupart des propriétés biologiques des tanins sont liées au pouvoir qu'ils ont de former des complexes avec les macromolécules, en particulier avec les protéines (Bruneton, 2009).

➤ **Biodisponibilité :**

Les tanins éllagiques ne sont généralement pas absorbés du fait même de leur masse moléculaire. L'acide éllagiques pourrait, sous certaines conditions, être faiblement absorbé. Soumis à l'action de la flore clonique, les tanins éllagiques sont métabolisés.

La majorité des oligomères proanthocyanidoliques ne sont pas absorbés et atteignent, intacts, le colon ou ils sont dégradés, notamment en phénylpropioniques et phénylacétiques.

➤ **Activités thérapeutiques dues à l'astringence :**

Les applications traditionnelles des plantes à tanins sont assez restreintes et découlent de leurs affinités pour les molécules protéiques. Par voie externe, les tanins imperméabilisent les couches sous-jacentes. Ils ont également un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels. En limitant la perte en fluides et en empêchant les agressions extérieures, les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessure superficielle ou de brûlure. Par voie interne, ils exercent un effet anti diarrhéique. Quelle que soit la voie d'administration (orale ou locale), l'effet antiseptique est clairement démontré de ses molécules (Kebbas, 2009).

➤ **Activité antioxydante :**

De nombreux tanins, particulièrement des tanins hydrolysables, inhibent la peroxydation des lipides induits par l'ADP et l'acide ascorbique sur les mitochondries hépatiques du rat. In vitro, ce sont des piègeurs de radicaux, des inhibiteurs de la lipoxigénase des granulocytes péritonéaux du rat, mais pas de la cyclooxygénase (Anonyme, 2006)

Chapitre III : la brûlure cutané

III-1. La définition de la structure de la peau :

La peau est un organe relationnel extrêmement important. C'est le support du cinquième sens : le toucher. Ainsi, elle nous permet d'avoir de nombreuses informations de façon continue, sur le monde extérieur (Laurent, 2000).

C'est un organe complexe, richement vascularisé et innervé. La peau est constituée de la surface à la profondeur de trois tissus (Msorand & Koepfel, 1996).

- L'épiderme fin en superficie, constitué essentiellement de kératinocytes.
- Le derme est un support conjonctif, constitué d'un réseau dense de collagènes. Ce tissu permet l'attachement aux structures sous-jacentes.
- L'hypoderme est une couche grasseuse mal vascularisée d'épaisseur variable. Il joue deux rôles importants : c'est un isolant thermique naturel et un répartisseur des pressions qui s'exercent sur la peau.

Les annexes épidermiques (glandes sudorales et follicules pilo-sébacés) dérivent de l'épiderme mais s'enfoncent profondément, jusqu'à l'hypoderme.

L'hypoderme et le derme sont parcourus par un dense réseau de vaisseaux sanguins et lymphatiques. Les trois couches sont parcourues par un réseau tout aussi dense de fibres nerveuses. Dans toute la peau, on trouve des cellules immunitaires multiples, en quantités de plus en plus grandes de la profondeur vers la superficie (Garsin & Bargues, 2003).

L'épiderme est attaché au derme par une structure très complexe, la jonction dermo-épidermique, qui associe une membrane basale (collagène nombreuses petites

protéines), la face basale des kératinocytes et des fibres d'ancrage du derme(Laurent, 2000).

Le tissu adipeux ou tissu sous- cutané sépare le derme profond des fascias musculaires (Benezra&Gueiru, 2002).

III-2. Le rôle de la peau :

La peau a de nombreuses fonctions variables, selon les différentes régions du corps :(Echinard, 1995)

- Barrière protectrice contre les agents pathologiques.
- Fonction métabolique et sécrétrice.
- Régulation de la température.
- Réception de sensations.
- Communication et expression.

III-3. Physiopathologie des brûlures :

La brûlure se définit comme la destruction de la peau et des tissus sous-jacents. Les mécanismes conduisant à une brûlure sont extrêmement variés. En général on a l'habitude de les regrouper en trois catégories : brûlure thermique, électrique et chimique (Kramer, 2002 ; Astrid, 2003 ; Kanneth, 1996 ; Lever, 1990).

III-3-1. Brûlures thermiques :

Elles représentent 90 % des brûlures et sont dues au contact avec un corps chaud, à l'aspersion par un liquide chaud (Carsin et al, 1997)

Le type de source d'énergie influe : une ampoule de 100 W à 2 cm de la main crée une brûlure profonde en 0,54 secondes, il faut 10 secondes de contact avec une eau à 85°C pour obtenir la même lésion(Bonaldi&Frank, 1987).

A-Réaction locale :

La pénétration et le transfert de chaleur dans les tissus ne sont pas instantanés : ils dépendent de l'épaisseur de l'épiderme, de la vascularisation de la peau, de la transpiration.

La diffusion de la chaleur aux tissus sous-cutanés se fait par conduction et dure plusieurs minutes .Il en résulte une lésion tridimensionnelle (surface et profondeur) correspondant à une masse de tissus lésés. Une zone de nécrose, ou existe une coagulation protéique qui est bordée d'une zone de souffrance tissulaire dont l'évolution dépend de l'efficacité thérapeutique(Cadi, 2000).

III-4. Les différents degrés des brûlures :

III-4-1. La profondeur :

III-4-1-1. Premier degré :

Sur le plan histologique, elles sont caractérisées par une atteinte de la couche superficielle de l'épiderme.

Sur le plan clinique, il s'agit tout simplement d'un érythème qui se cicatrise par une épidermisation extrêmement rapide (Moulet, 2005 ; Robert, 1998).

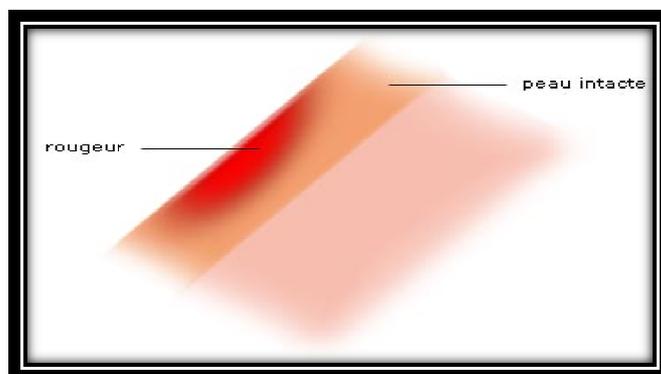


Figure 3 : brûlure superficielle (Goldestin, 2003)

III-4-1-2. Les brûlures de second degré :

Elles sont dites superficielles, lorsque l'épiderme et une partie du derme sont touchés et profondes lorsque la totalité de l'épiderme et du derme sont détruits (Lever, 1990 ; Dr Captier & Dr Griffé, 2003).

A-Deuxième degré superficiel :

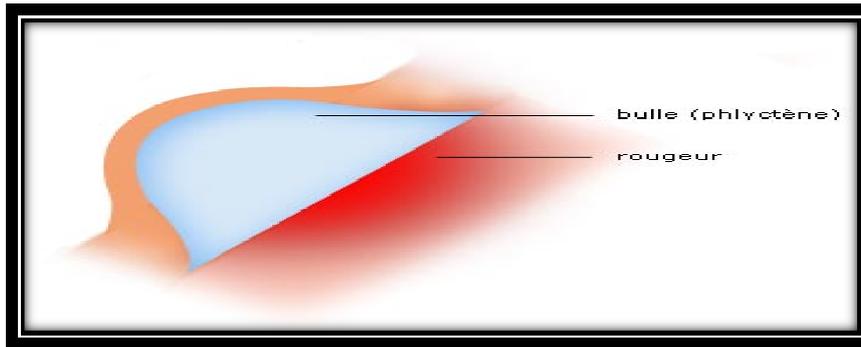
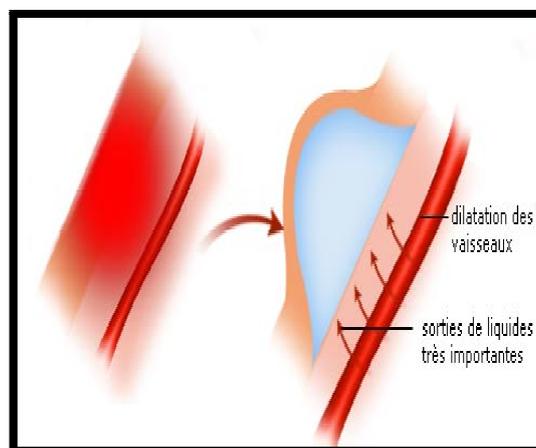


Figure 4 : brûlure du second degré et formation d'un œdème (Dr Captier & Dr Griffe)

Sur le plan histologique selon la classification de Gosset et Baux, la brûlure atteint les couches profondes de l'épiderme sans toucher la jonction dermo-épidermique. (Baux, 1995)

Sur le plan clinique, la libération de substance vaso- active entraîne un exsudat avec décollement des couches superficielles de l'épiderme créant ainsi un œdème, alors que les vaisseaux sanguins sont dilatés mais pas endommagés (Echinard, 1995).



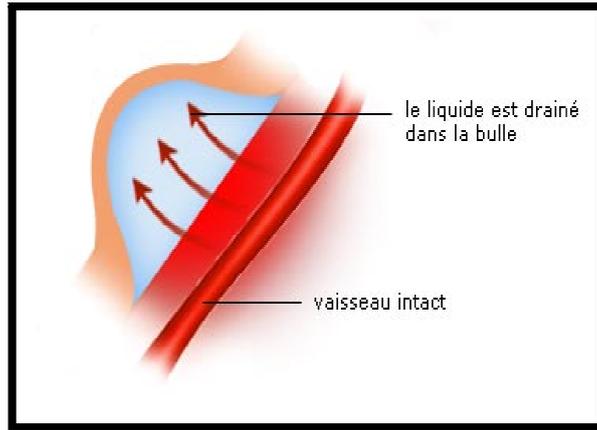


Figure 5 : dilatation des vaisseaux et formation d'un œdème (Dr Captier & Dr Griffe)

A- La brûlure du second degré profond :

Stade intermédiaire dans la classification française

Sur le plan histologique, la jonction dermo-épidermique est partiellement atteinte, il y a effraction plus au moins de la couche basale.

Sur le plan Clinique, la lésion apparaît le plus souvent rouge brunâtre avec persistante du réseau vasculaire, alors que des petites zones blanchâtres sous l'œdème (Echinard, 1995 ; Zawacki, 1947)

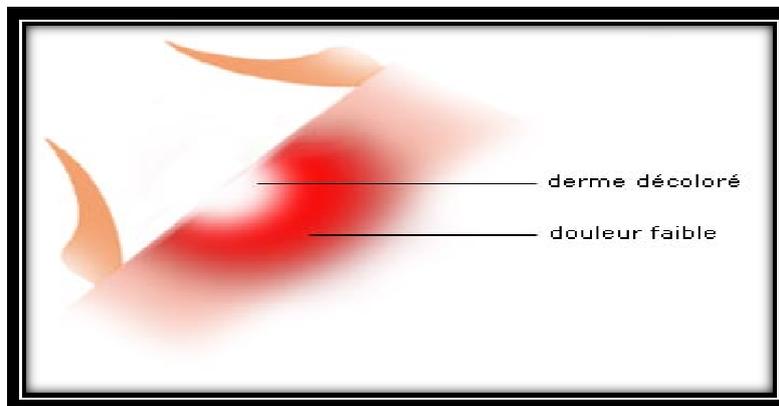


Figure 6: Brûlure du second degré profond et décoloration du derme(Dr Captier & Dr Griffe)

III-4-1-3. Les brûlures du troisième degré :

Sur le plan tissulaire, la totalité de l'épiderme qui est atteinte ainsi que la couche basale (Dr Captier & Dr Griffe, 2003; Msorand & Koeppel, 1996).

Sur le plan clinique, la lésion est insensible et ne saigne pas à la scarification, elle apparaît comme une zone blanche et cartonnée (Echinard, 1995).

III-5. La cicatrisation épidermique :

C'est à dire la ré-épithélialisation qui se fait de manière simple et régulière par prolifération des kératinocytes basaux (Echinard, 1995).

III-5-1. La rétraction cicatricielle :

Un processus naturel de mise en tension des fibres de collagènes et des cellules qui participe classiquement à la fermeture physiologique des plaies (François, 2005).

La cicatrisation passe par trois phases: (Echinard, 1995)

- La détertion : séparation entre le mort et le vif.
- Bourgeonnement : apparition progressive d'un tissu de granulation rouge, hémorragique bien vascularisé, ce dernier est dû à la présence et au développement des fibroblastes du tissu dermique ou hypodermique.
- Epidémisation : suit en principe est impossible spontanément dans les brûlures du troisième degré puisqu'il n'existe plus de couche basale plus d'annexes pilo-sébacées, elle se fera donc par la périphérie dans les brûlures très localisées et de petite dimension d'autant qu'elle est toujours accompagnée par une phase de rétraction du tissu de granulation qui a tendance à rétrécir la superficie de la plaie, alors que dans le cas d'une brûlure étendue l'épidémisation ne pourra être faite que par une greffe (Goulenok, 2000).

Matériel et méthodes

I-Matériel :

I-1. Matériel biologique :

A-Matériel végétal :

Les feuilles ont été récoltées au mois de Mars 2012, dont de récolte effectué à Soumaa sur les bordures de l'oued Sidi el Habchi de Tihamadine.

Elles ont été séchées à l'abri de la lumière à une température ambiante.

Nous avons réalisé le broyage de la plante séchées au niveau du laboratoire de biotique SAIDAL.

B-Matériel animal :

1- Lapin : 12

2- Souris Albinos : 18 DE RACE NMRI

- Condition d'élevage (voir annexe I)

I-2. Matériel non biologique

(Voir annexes II)

II- Méthode d'étude :

II-1-Etudes histologique :

Afin de localiser les sites sécréteurs, des coupes transversales ont été réalisées au niveau des feuilles et des tiges dans le laboratoire de biologie végétale.

Pour cela, nous avons adopté la technique de la double coloration :

- Plonger les coupes préalablement préparées dans l'eau de javel pendant 10 à 15mn, dans le but de vider les cellules.
- Après, rinçage sous le robinet pendant 05 à 10mn, après tremper les coupes dans de l'eau pendant 5 à 10 mn puis dans l'acide acétique à 0.1% pendant 1mn, pour préparer les parois à recevoir les colorants.
- Ensuite, rincer les coupes, puis laisser les dans l'eau pendant 05 à 10mn, après tremper les dans le vert de méthyle (le premier colorant) durant 10 à 20 mn.
- Après, rincer et laisser dans l'eau (5 à 10 mn), les coupes sont traitées par le rouge Congo (le deuxième colorant) pendant 10mn.
- Rincer à l'eau courante, ensuite la coupe obtenue est déposée sur une lame et couverte par une lamelle pour l'observation au microscope photonique.

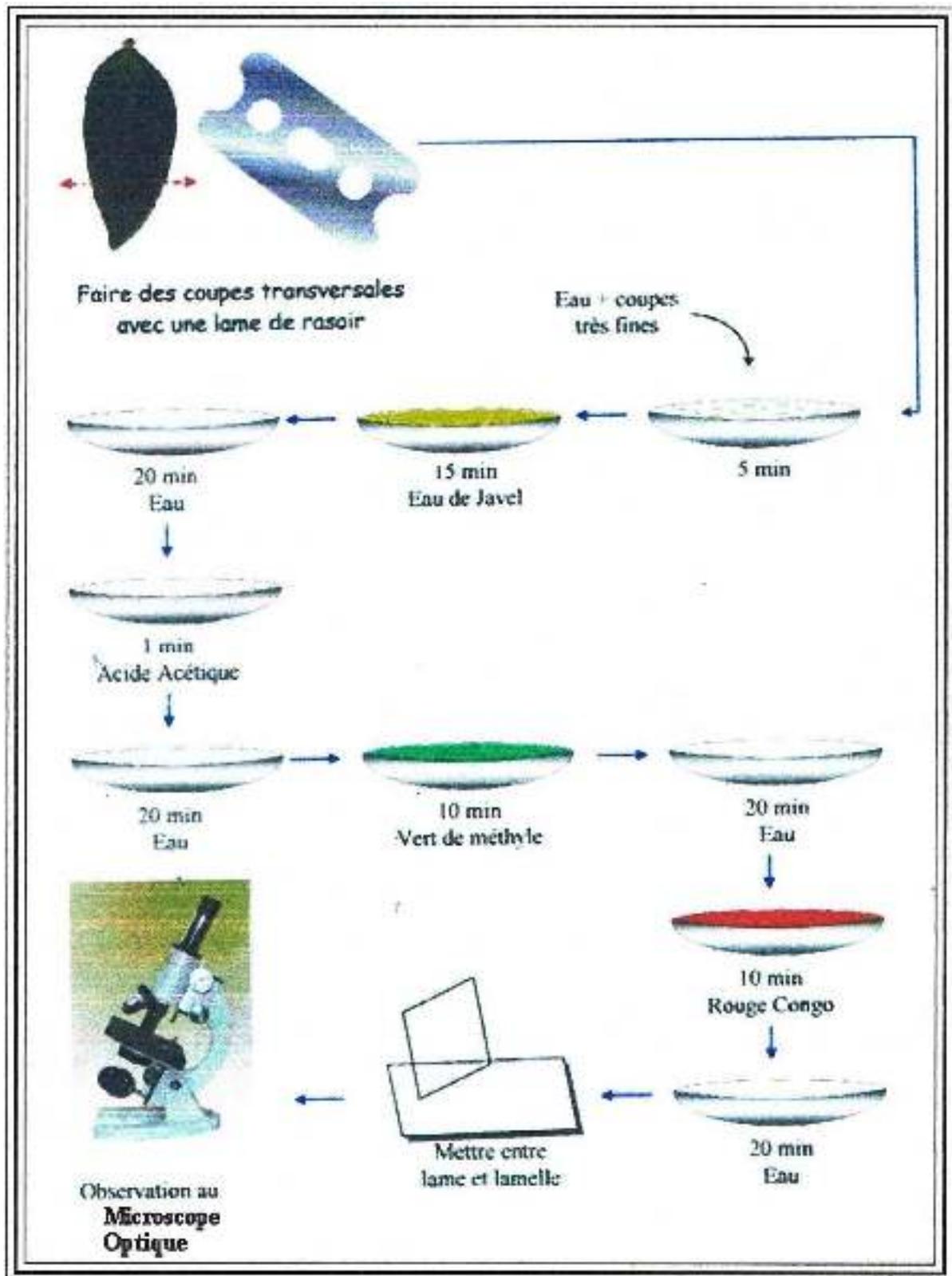


Figure 8 : coupe histologique par la technique de la double coloration

II-2. Tests phytochimiques :

Le but de ces tests est de connaître la composition en métabolites secondaires des feuilles de *R. ulmifolius*, ils sont effectués soit sur la poudre du broyat, soit sur un infusé, en suivant le protocole proposé par le laboratoire de substances naturelles du **CRD SAIDAL**, et réaliser au sein du laboratoire PFE.

II-2-1 Préparation de l'infuse :

- Mettre 20g de poudre dans 100ml d'eau bouillante laissé infuser 15min
- Filtration, le filtrat est ajusté à 100ml d'eau distillée.

II-2-2. Recherche de quelques métabolites secondaires :

II-2-2-1. Recherche des anthocyanes :

Leur identification s'effectue de deux manières :

- 1- On ajoute quelques gouttes d'**HCl** à **5 ml** d'infusé, la réaction donne une coloration rouge en présence d'anthocyanes.
- 2- On ajoute quelques gouttes d'Ammoniaque à **5 ml** d'infusé, la réaction donne une coloration bleu en présence d'anthocyanes.

II-2-2-2. Recherche des leuco anthocyanes :

A **2 g** de poudre, on ajoute **20ml** d'un mélange de Propanol / Acide Chlorhydrique (V / V). L'ensemble est porté à ébullition au bain Marie pendant quelques minutes, en présence des leuco anthocyanes, la réaction donne une coloration rouge.

II-2-2-3. Recherche des tanins :

A **5 ml** d'infusé, on ajoute quelques gouttes d'une solution **Fe Cl₃** à **5%**, la réaction donne une coloration bleu noire en présence des tanins.

A/Tanins catéchétiques :

A **15ml** d'infusé on additionne **7ml** de réactif de **Stiasny**, la réaction donne une coloration rouge orangée en présence des tanins catéchétiques.

B/Tanins galliques :

On ajoute à 5 ml d'infusé, 2 g d'Acétate de Sodium et quelques gouttes de FeCl_3 , en présence des tanins galliques, la réaction donne une coloration bleue noir.

II-2-2-4. Recherche des flavonoïdes :

La réaction cyanhydrique ou l'essai de Chinoda :

La présence du Zinc comme réducteur et de l'Acide Chlorhydrique, la réaction avec les flavonoles, flavonones et flavones donne une coloration rouge orange.

5 ml d'infusé sont ajoutées à 5 ml d' HCl , un copeau de Zn et 1 ml d'Alcool Iso-amylique.

II-2-2-5. Recherche des quinones :

A / Quinones libres :

2 g de poudre végétale sont humectés avec 2 ml d'Acide Chlorhydrique 1 N, sont mis en contact avec 20 ml de Chloroforme pendant 3 heures, puis filtrer, le test est réalisé sur le filtrat avec 5 ml d'Ammoniaque (1/2). La réaction donne une coloration rouge en présence des quinones libres.

B/ Quinones combinés :

On ajoute à 2 g de poudre végétale, 15 ml d'acide sulfurique 2 N, puis portée à reflux pendant 2 heures, ensuite la solution extractive est filtrée, puis épuisée par 20 ml de Chloroforme. La solution Chloroformique est évaporée à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis reprise par l'Ammoniaque (1/2). La réaction donne une coloration rouge en présence des quinones combinées.

II-2-2-6. Recherche des alcaloïdes :

Leur présence est détectée par l'expérience suivante :

A 5 g de poudre végétale on ajoute 20 ml d'Ammoniaque (1/2) laisser macérer pendant 24 heures dans 50ml d'un mélange éther / Chloroforme (3 V/ V), le filtrat est épuisé par

l'Acide Chlorhydrique. En présence du réactif de Dragen-Droffon obtient un précipité rouge.

II-2-2-7. Recherche des sennosides :

Dans une fiole, introduire **2,5 g** de poudre végétale, puis ajouter **50 ml** d'eau distillée et **2 ml** d'acide Chlorhydrique concentré, chauffer, au bain marie pendant **15min**. Laisser refroidir, puis agiter en présence de **40 ml** d'éther, puis filtrer, ensuite à l'aide d'une ampoule à décanter, séparer la couche étherée ensuite sécher avec le sulfate de sodium anhydre. Evaporer à siccité. Au résidu refroidi on ajoute **5 ml** d'Ammoniaque **1/2**. En présence de sennosides, la coloration devient jaune orange, et avec le chauffage, se développe une coloration violette orange.

II-2-2-8. Recherche des saponosides :

Leur présence est détectée de la manière suivante :

A 2 ml d'infusé, on ajoute quelques gouttes d'acétate de plomb, la formation d'un précipité blanc indique la présence des saponosides.

II-2-2-9. Recherche des coumarines :

On fait bouillir **2g** de poudre végétale dans **20 ml** d'alcool éthylique durant **15 min** dans un bain-Marie, après refroidissement. On filtre, on prend **3 à 5 ml** du filtrat, et on ajoute **10** gouttes de la solution alcoolique de **KOH à 10 %**. La présence des coumarines engendre l'apparition d'un trouble.

II-2-2-10. Recherche des glucosides :

A une masse de poudre végétale, on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique, la formation d'une coloration rouge brique puis violette indique la présence des glucosides.

II-2-2-11. Recherche de l'amidon :

Une masse de poudre végétale et quelques gouttes de l'Iode (**I₂**), la formation d'une coloration bleu violette indique la présence de l'amidon.

II-3/ Extraction et Analyse des tanins de *R. ulmifolius* :

II-3-1. Extractions des tanins :

Le protocole de l'extraction suivi est celui du laboratoire de substances naturelles de **CRD SAIDAL** :

A **60 g** de poudre végétale, on ajoute **100 ml** de Benzène et **100 ml** de chloroforme. On laisse macérer **24 heures**, puis on filtre pour éliminer les lipides, l'opération suivante se réalise avec le résidu.

Au résidu on ajoute **100 ml** d'éther di éthylique puis on filtre pour éliminer les phénols et les catéchines, au résidu on ajoute **100 ml** d'acétate d'éthyle puis on filtre, pour éliminer les pro et leuco anthocynes. Au résidu, on ajoute **200 ml** d'alcool méthylique puis on laisse macérer pendant **45 min**, on filtre. Le filtrat contient les tanins et l'alcool méthylique.

Pour récupérer les tanins, on évapore l'alcool méthylique sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif à basse température entre **40 C°** à **50 C°** (fig.9)

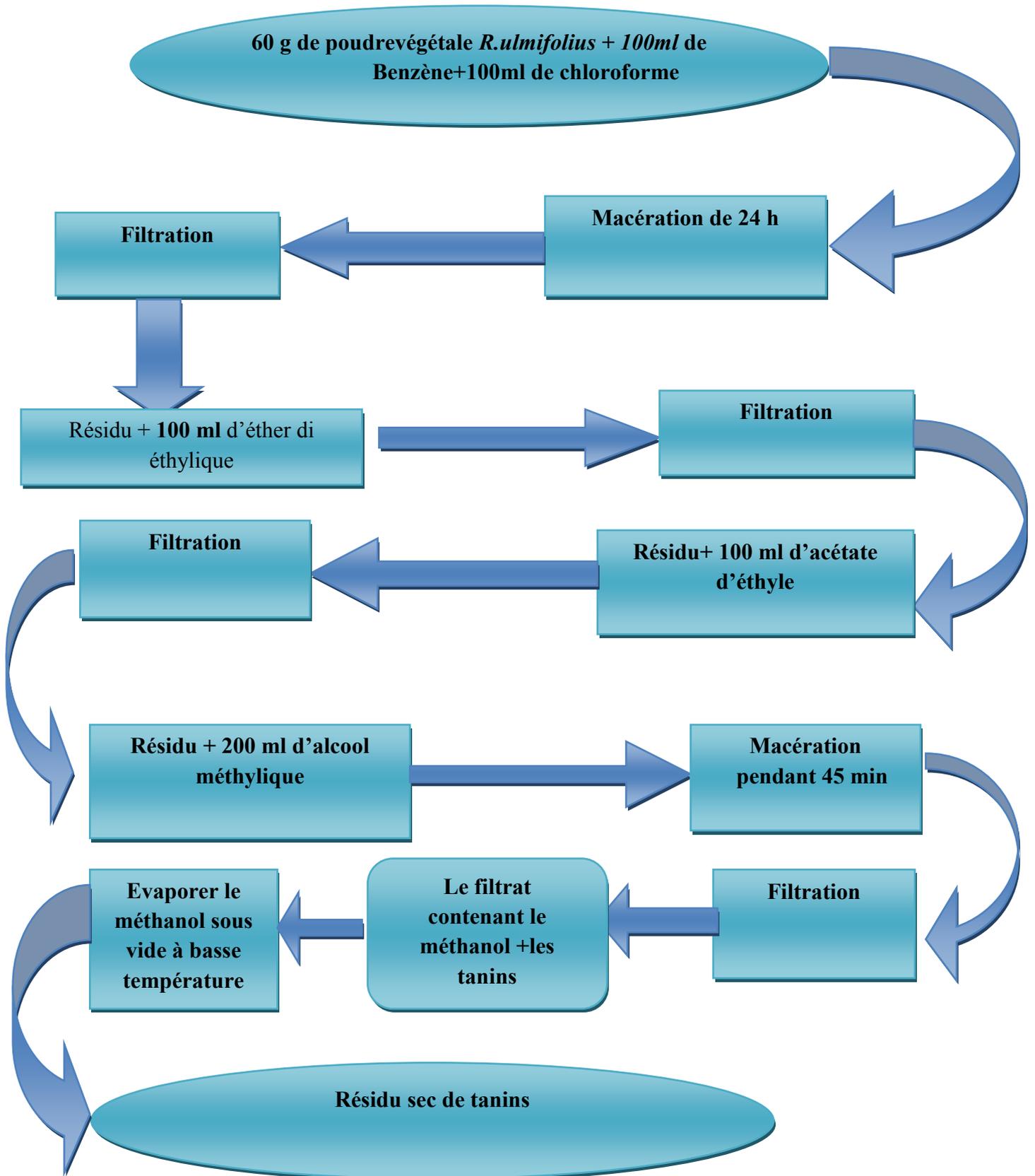


Figure n° 9 : Protocole expérimental de l'extraction des tanins

II-3-2. Etude quantitative de tanins :

Le rendement (RD) en tanins est calculé en pourcentage. Il correspond au rapport entre ΔP et la masse de la poudre multipliée par 100

$$RD = \frac{\Delta P}{M} \cdot 100$$

$$\Delta P = p_1 - p_0$$

M : masse de la prise d'essai

P₀ : poids du ballon vide

P₁ : poids du ballon avec l'extrait

ΔP : poids de l'extrait

II-3-3. Analyses des tanins par HPLC :

Dans le but de connaître le ou les différents types de tanins présents dans la plante *R. ulmifolius*, nous avons procédé à l'analyse de l'extrait obtenu dans la partie précédente.

- Dans les conditions opératoires suivantes : phase mobile de eau, éthanol, acide acétique (50/74/2.5).
- Le débit de la phase mobile : 0.8 ml /min, et température de 30° C.
- Préparation de l'échantillon d'HPLC :
- Diluer : 0.1g de concrète dans 10 ml de méthanol
- Injecter : 20 μ l
- Temps d'analyse : 1h.

II-4. Test biologique :

II-4-1. Etude des activités cicatrisante et anti inflammatoire :

➤ Le principe :

Consiste en l'application du produit à tester sur des brûlures préalablement provoquées. Les applications se feront de façon quotidienne jusqu'à l'épithélialisation complète de la brûlure.

Nous avons réalisé une comparaison entre l'effet du traitement phytothérapeutique « la poudre de *Rubusulmifolius* » et le traitement chimique « pommade **sulfazine** » sur brûlure.

II.4.1.1. Protocole expérimental :

La veille du test :

- Constituer les lots.
- Mettre les animaux à jeun.

Le jour du test (j_0) :

- Epiler à la main les lapins au niveau de la cuisse jusqu'à apparition nette de la peau



Figure 10 : lapin épiler au niveau de les flancs

- Désinfecter la région épilée avec l'alcool chirurgical à 70%.

➤ **Procéder à l'ablation de la peau :**

- Mettre les lapins sur la table de dissection.
- Provoquée des brûlures thermiques des zones épilées à l'aide de l'eau bouillante.



Figure 11 : zone brûlé par l'eau bouillante

- Nettoyer les surfaces inflammé avec du gaz imbibée d'eau physiologique à 0.9%.
- Reconstituez les lots à raison de 5 lapins par lot et les numéroté : lot traité avec la poudre de la ronce (PD), et le deuxième lot traité avec la pommade sulfazine (PM)
Les applications se font de façon quotidienne avec désinfection de la partie brûlée avant l'application du traitement

II-4-2. Test de l'activité anti inflammatoire des tanins :

➤ **Principe :**

L'injection de la Carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte gauche des souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire.

Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration des doses égales du produit anti-inflammatoire à tester, l'extrait de tanin et du produit de référence, Diclofénac.

II-4-2-1. Protocole expérimental :

Constituer 3 lots de 6 souris chacun :

- Un lot témoin
- Un lot référence Diclofénac
- Un lot essai de tanin de *R. ulmifolius*

➤ Préparation de la solution mère des tanins :

Après l'extraction, les tanins sont additionnés avec quelques gouttes du Tween 20, afin de récupérer tous les tanins adhérents à la paroi du ballon, ensuite le volume est ajusté avec 50ml d'eau distillé. La solution mère des tanins a une concentration de 0.02g/ml (voir annexe IV)

Au temps T_0 :

Administrer oralement aux trois lots les suspensions suivantes avec une sering:

- lot témoin : chaque souris reçoit 0,5ml d'eau distillée
- lot essai : chaque souris reçoit 0,5ml de la solution mère des tanins
- lot essai 2 : chaque souris reçoit 0,5ml du produit de référence, Diclofénac.



Figure 12 : Administration des solutions à tester

Après 30 mn de la réception des solutions à tester:

- On injecte 0,025ml la solution de Carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche à tous les animaux mis en expérience.

Après 4 H :

- Nous sacrifions les animaux par rupture de la nuque, ensuite on coupe les pattes postérieures à hauteur de l'articulation afin de les peser à l'aide d'une balance analytique.
- Nous calculons les moyennes arithmétiques du poids des pattes gauches séparément des pattes droites pour chaque lot.
- Par la suite, nous calculons le pourcentage d'augmentation du poids des pattes (% d'œdème) par la formule suivante :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{moyenne du poids des pattes gauches} - \text{moyenne du poids des pattes droites}}{\text{Moyenne du poids des pattes droites}} \times 100$$

- Nous calculons le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport au témoin :

$$\text{Pourcentage de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ d'œdème témoin}} \times 100$$

II.5. Test clinique :

Les brûlures sont malheureusement des accidents courants de la vie quotidienne qui se produisent le plus souvent à la maison, cependant aucune brûlure même légère ne doit être traitée à la légère car un degré si il est mal traité peut évoluer vers un autre degré plus profond.

La diffusion de la chaleur aux tissus sous-cutanés se fait par conduction et dure plusieurs minutes (échauffement comme refroidissement). Il en résulte une lésion tridimensionnelle (surface et profondeur) correspondant à une masse de tissus lésés. Une zone de nécrose, où existe une coagulation protéique, centre de la lésion. Elle est bordée d'une zone de souffrance tissulaire dont l'évolution dépend de l'efficacité thérapeutique, elle-même entourée d'une zone d'inflammation (François, 2005)

Nous avons réalisé un test sur une personne brûlée par traitement de la poudre de *R. ulmifolius*, afin de mettre en évidence les effets cicatrisant et anti inflammatoire de la poudre de la ronce sur les brûlures profonde.

Références bibliographiques

- AIT YOUCEF. M** : Plantes médicinales de Kabylie. Edition Ibis press, Paris 2006.
- ANE. S** : La phytothérapie se soigner par les plantes. Edition Nogaret thrhart, Paris, 2006. 191p.
- ANONYME** : Encyclopédie des plantes médicinales. Edition de vecchi, Paris,2003
- ANONYME**: Journal of Ethno pharmacology. Volume 79, numéro 2, 2002.
- ANONYME**: Antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* strains and antioxidant properties of blackberry leaves (*Rubus ulmifolius*) and isolated compounds, 2006.
- ANONYME** : Larousse médical. Larousse, Paris 2006.1219p
- ASTRID. W.** Le traitement des brûlures. Faculté de Médecine Strasbourg ; Professeur en chirurgie maxillo-faciale et chirurgie plastique reconstructrice. 2005
- BABA. A. J** : Encyclopédie des plantes utiles. Rouïba, Alger.368p
- BARGUES. L., GARSIN. H.** : Comprendre et évaluer les brûlures. 2003
- BAUX. S** : Thèse de Médenine, Université de Strasbourg,1995
- BELOUED. A** .Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaire, Alger 2005,284p
- BELLAKHDAR. J** : La pharmacopée marocaine traditionnelle. Paris 1997; Ibis press.172p
- BENMOUSSA. I, REMILI. N** : Etude ethnobotanique, chimique et la mise en évidence de l'effet cicatrisant de *PHLOMIS BOVEI*. Mémoire de PFE de l'Université de Blida, 2008 .50p
- BEZANGER-BEAUQUESENE L., PINKAS. M.** Plantes médicinales des régions tempérées. Maloine S.A. Editeur, Paris 1980, 438p
- BENEZRA. C., GUEIRU. B. et SELL. Y** : Plantes et réactions cutanées, Edition John Libbey, Paris 2002

BERNARD. B. Plantes médicinales du monde croyance et réalité. Edition ESTEM, 2001. 199p

BERNARD. F, GUEUGNIAUD. P, BOUCHARD. C : Etude des paramètres hémodynamiques chez le brûlé grave pendant les premiers 72 heures, 1992

BIAYE MAMADOU : Action pharmacologiques des tanins ; Thèse de doctorat Université CHEIKH ANTA DIOP de DAKAR ,2005

BONALDI. L, FRANK D. P : Patophysiology the burn wound-Management of the burned patient .1987

BOUKEF M.K : Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne .Agence de coopération culturelle et technique, Paris 1986 ; 350p

BONNASSIEUX M.P : Multi guide nature Tous les fruits comestibles du monde. Bordas, Paris 1988, 208p

BOSSARD. J : Arbres et arbustes d'ornements région tempérées et méditerranéennes ; Edition TEC ET DOC. Lavoisier 1984

BOURE. E : Practice : Maladies tropicales. Masson, Paris 1987

BRUNETON. J : pharmacognosie et phytochimie des plantes des plantes médicinales ; Edition TEC et DOC, Paris 2009,1242p

CARSIN. H, Stéphanazzi. J et al, LE BEVER. H :Evolution and significance of circulating procalcitonine levels compared with endotoxine levels early after thermal injury ;burns 1997

CAPTIER, Dr GRIFFE: Les brûlures en phase aigue, Centre des brûlées, Hôpital Lapeyronie, Montpellier 2003

CARSIN. H, Stéphanazzi. J, LE BEVER. H: Réaction inflammatoire et infection chez le brûlé grave, Paris1989.

CHAMOULEAU. A : Les usages externes de la phytothérapie. Maloine S.A éditeur, Paris 1979.270p

Danielle. R : Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. Paris, 2007.

Depoers. P, F.Ledoux, P.Meurin : De la lumière à la guérison, la phytothérapie entre science et tradition. Préface de M. jean Marie Rouart de l'Académie française, 2008. 509p

DEMLING.R, LALONDE.C: Restoration and maintenance of hemodynamic stability.trauma management IV. NEW YORK, 1989

EQUIPE DES ENSEIGNANTS : Phytothérapie, la santé par les plantes du Dumenat, phytothérapie faculté de médecine. Paris XII Bio, 2007

ECHINARD-CH, LATARJET.J: les brûlures. 2^{ème} tirage, Edition Masson, 1995

FONG, HARRY. H: Integration of herbal medicine into modern medical practices, Integrated cancer therapy 2002. 278p

FRANCOIS. M: Brûlures étendues récentes : diagnostic et traitement initial; Corpus Médical-Faculté de médecine de Grenoble. 2005

GHEDIRA. K : Les flavonoïdes, structure propriétés biologiques, rôle prophylactiques et emplois en thérapeutique, Revue phytothérapie, Edition Springer, Paris 2005

GOLDSTEIN : Enseignement supérieur Médecins ; Lille 2003

GOULENOK. C, CADI. P : Examen d'un brûlé, estimation de sa gravité, score pronostique. Médecine et armée 2000

HALIMI. A : Les plantes médicinales en Algérie. Edition BERTI, Alger 2004, 304p

IBN EL BAYTAR. F : Traité des simples. Paris : Institut de monde arabe 1982. 478p

JAMES. A : Le pouvoir des plantes édition MARABOUT. Paris 1997, 697p

KANNETH. A : Thérapeutique dermatologique; traduction et adaptation française Carlos Adam 1996. 521p

KEBBAS. S : Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs d'une plante à caractères thérapeutiques, *Spergularia rubra* L, et effet antimicrobien. Mémoire de magistère de l'Université de Blida. 2009

KRAMER GC: Pathophysiology of burn shock and burn edema. In total burn care. New York, 2002

Laurent. M La peau neuronale, les nerfs à fleur de peau. Collection vivre et comprendre. Edition ELLIPSES 2000, 77p

LAZOURI. H, AID. K : Extraction, identification du principe actif d'*Aristolochia Longa* L. et étude de sa toxicité et son activité antibactérienne. Mémoire PFE de l'Université de Blida. 2008

LEVER.W.F: Histopathologie de la peau, traduction de la 4^{ème} édition anglaise Histopathologie of skin, Masson & Cie, Paris; 729p

LOIC G : Les plantes et les médicaments d'origine végétale de nos médicaments, Paris. 2001. 253p

LUCIENNE. A : Les plantes médicinales d'Algérie. 2^{ème} édition, 2010 ; 238p

LUND. T: Edemagenération following thermal injury: an update. Burn care Rehabil;1999

MACIOCIA. G : Les principes fondamentaux de la médecine chinoise, 2^{ème} Edition , MASSON, Paris.2008

MADANI. F, MADJENE.A : Contribution a la mise en évidence de l'effet anti inflammatoire et analgésique de l'huile essentielle des feuilles et du péricarpe du fruit du citronnier *Citrus limon*. Mémoire de fin d'étude de l'Université de Blida.2010

MESSAOUDI. S : Les plantes médicinales. Edition Dar EL FIKER TUNIS. 2008,200p

MOHAMEDI. Z: Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Université Abou Bakr Belkaid, 2006

MORITZ.AR, HENRIQUE FC: Studies of thermal injury: the relative importance of time and surface temperature in the causation of cutaneous burns; Pathol 1947

MSORAND.J.J&KOEPEL .M.C &SAYAG.J : Guide illustré de diagnostic en dermatologie et vénéréologie. 1996.184p

PAUL. I : LAROUSSE, des plantes médicinales, Identification, Préparation, Soins 2007 .235p

Paul-V : Dictionnaire des plantes médicinales et veineuses de France, Fournier 2010

PERONNY. S : La perception gustative et la consommation des tanins chez le MAKI (LEMEUR CATTA) Thèse de doctorat en Eco éthologie Muséum National de l'Histoire Naturelle, Paris ,2005.

PODLECH. D : Gros plan des plantes de santé. Edition Nathan, Paris 1988, 254p

PRUDHOMME. C, DINVERNOIS J.F : Connaitre et Comprendre 1000 maladies de A à Z 2^{ème} édition VIGOT, Paris 2005.484p.

RACHIDA. M& AZZEDINE. K : Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d'Amsittène Université Mohammed V, Faculté des Sciences, Département de Biologie.2006

RASSENER.G en collaboration avec **STEINERT.U** et **SCHLAGENENHAUFF .B :** Dermatologie, manuel et atlas, 7^{ème} Edition, MALOINE, Paris 2006,502p

REMILIN, BENMOUSSA.I : Etude ethnobotanique, chimique et la mise en évidence de l'effet cicatrisante de *Phlomisbovei*. Mémoire de PFE de l'Université de Blida.2008

RENE. B : Dictionnaire thérapeutique de plantes.2009

ROBERT .A: Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinal science et thérapeutique, 2^{ème} édition Max Wichtl.2003

ROBERT. F : L'intelligence des plantes. Edition ARISTA, Ottawa, Canada, 1990. 288p

ROBERT. M, LE TOUZE.A : Manuel de chirurgie pédiatrique de brulure, 1998

ROUX. D: Les nouvelles plantes qui soignent, Edition ALPEN, Paris 2005

SENET. P, MEAUME.S : physiopathologie de la cicatrisation cutanée. Edition Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris 2000

VALNET J. : Phytothérapie, traitement des maladies par les plantes.6^{ème} édition MALOINE, France, Paris 1992, 711p

ZAWAKI.B.E: reversal of capillary stasis and prevention of necrosis in burns.1974

Annexe I :

-Souris Albinos

-poids : 20 g

-Nombre : 18

- Alimentation : Granulés « O.N.A.B »

-Boissons : Eau de robinet ad libitum

-Condition d'hébergement :

- Température :20 à 24° c
- Humidité : 50%

- Produit :

- Produit à tester (extraie de tanins de*Rubusulmifolius*)
- Produit de référenceDiclofénac

Annexe II :

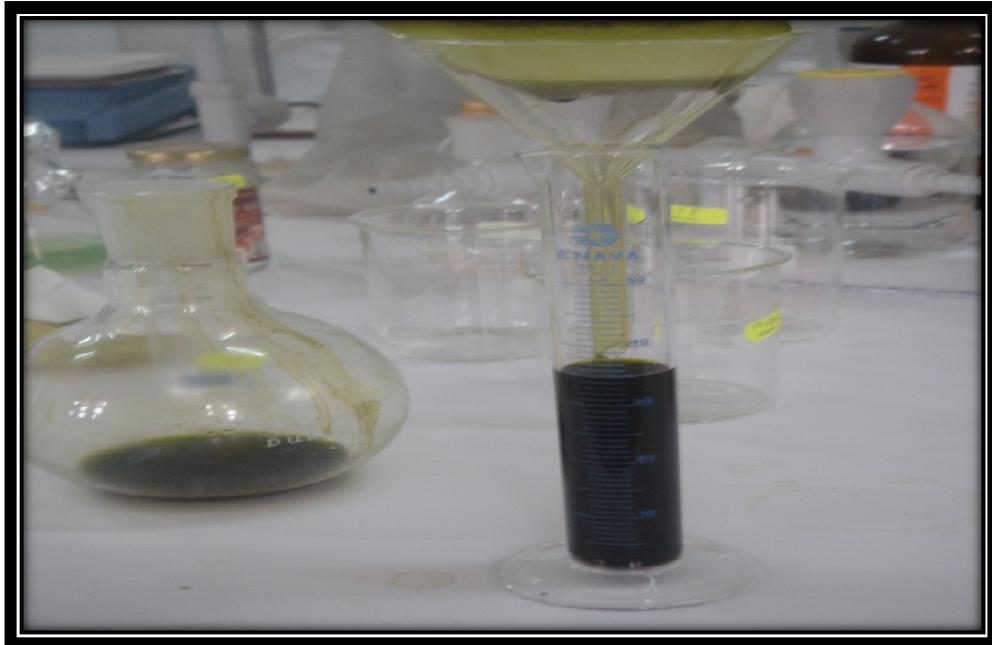


Figure I : l'extraction des tanins par solvants et la filtration

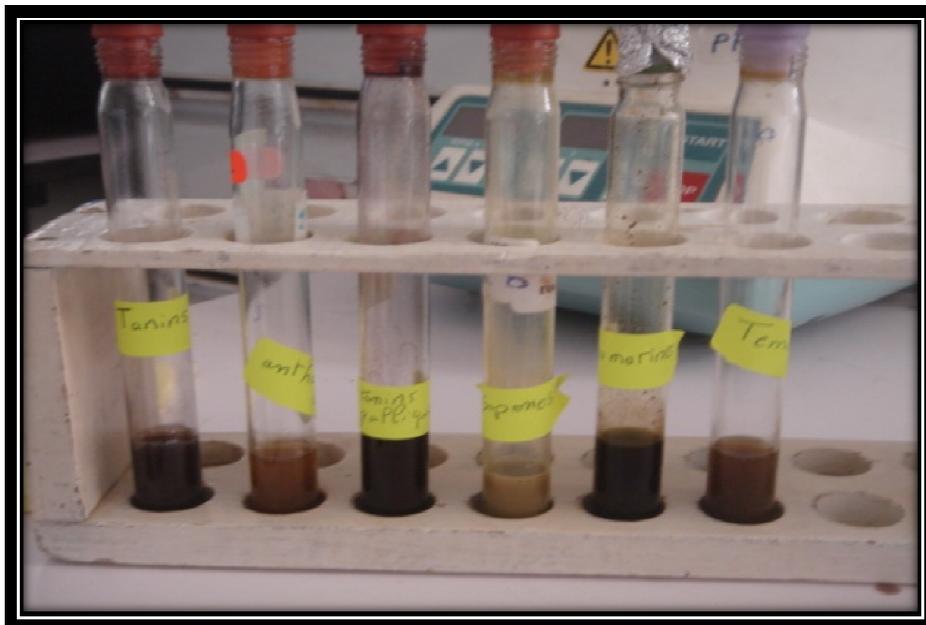


Figure II : figure exprimant les résultats positifs

Annexe III :

Matériel et réactif :

➤ Matériel :

- ✚ Béchers, éprouvette, entonnoir
- ✚ Broyeur électrique
- ✚ Une balance analytique
- ✚ Bain marie
- ✚ Papier filtre
- ✚ Papier aluminium.
- ✚ Plaque chauffante
- ✚ Paire de ciseaux
- ✚ portoir
- ✚ Rota vapeur, pompe à vide
- ✚ Lame, lamelle
- ✚ Tubes à essai
- ✚ Pipette graduées 5ml, 10ml.
- ✚ Entonnoir
- ✚ Agitateur électrique
- ✚ Ampoule à décanter
- ✚ Balance analytique « MU.LA.017 »
- ✚ Balance pour animaux « MU.LP.012
- ✚ Ciseaux
- ✚ Bistouris
- ✚ Sonde de gavage pour souris.
- ✚ Suspension carragénine à 1%
- ✚ Eau physiologique à 0.9 %

➤ Les réactifs :

- ✚ Vert de méthyle
- ✚ Rouge de Congo
- ✚ Réactif de Stiasny
- ✚ Acétate de Sodium

- 🧪 L 'Ammoniaque
- 🧪 Ether diéthylique
- 🧪 Chloroforme
- 🧪 l'Acide Chlorhydrique
- 🧪 Alcool éthylique
- 🧪 Acétate de plomb
- 🧪 Réactif du Dragen-Droff
- 🧪 Acide chlorhydrique
- 🧪 Eau distillée
- 🧪 Alcool chirurgical à 70%

➤ **Préparation des réactifs :**

A) Réactif de Dragen-droff :

Solution (a) : on fait dissoudre 0.85g de nitrate de bismuth dans 40ml d'eau distillé et on y ajoute 10 ml d'acide acétique.

Solution (b) : on fait dissoudre 20g d'iodure de potassium dans 50 ml d'eau distillé

Mélanger les deux solutions (a) et (b) puis prendre 15 ml du mélange et rajouté 20 ml d'acide acétique, ensuite compléter à 100 ml avec l'eau distillée.

B) Réactif de Stiasny :

Solution formée par un mélange de deux volumes de formol et un volume d'acide chlorhydrique 1N.

C) Ammoniaque ½ :

C'est une solution formée par un volume d'ammoniaque concentré et un volume de l'eau distillée.

Annexe IV :

Préparation de solution mère des tanins extraient de *R. ulmifolius*

100% —————> 60g de la poudre de la ronce

12.48% —————> x g

Le rendement de tanins
 $X = 7.49\text{g}$

Nous avons récupéré les tanins adhérent à la paroi avec quelques gouttes du Tween 20 puis le volume est ajusté avec 50 ml d'eau distillé.

Calcul de concentration de la solution mère :

7.49g —————> 50 ml

X —————> 1ml

$X = 0.204\text{g /ml}$

Nous avons pris 1ml de la solution obtenue afin de la diluer dans 10ml d'eau distillée

0.204 g /ml —————> 10 ml

X —————> 1 ml

$X = 0.02\text{ g /ml}$

La concentration de la solution des tanins à tester est de 0.02g /ml

Les préparations de la solution de référence :

Calcule des doses :

Chez l'homme la dose maximale journalière est de 02 comprimés, 75 mg par comprimé

150 mg \longrightarrow 60kg le poids moyen chez l'homme

X \longrightarrow 20 g le poids des souris

$$X = 0.05\text{mg}$$

0.05mg \longrightarrow 0.5 ml

75 mg \longrightarrow X

$$X = 750 \text{ ml}$$

On a diluée le comprimé dans 750ml d'eau distillé

Le calcul des moyennes des pattes gauches et droites des différents lots :

	Lot témoin		Lot de référence		Lot de tanins essai	
	Patte droite	Patte gauche	Patte droite	Patte gauche	Patte droite	Patte gauche
	0.142	0.183	0.130	0.171	0.121	0.150
	0.153	0.191	0.149	0.162	0.126	0.129
	0.160	0.218	0.129	0.147	0.110	0.180
	0.144	0.177	0.156	0.167	0.117	0.110
	0.160	0.245	0.136	0.161	0.119	0.140
	0.158	0.200	0.101	0.145	0.114	0.141
\bar{X}	0.152	0.202	0.135	0.158	0.117	0.141

Tableau n° IV : les moyennes des pattes gauches et droites des différents lots.



Photo I : rota vapeur a l'échelle du laboratoire des substances naturelle



**Photo II : microscope
photonique**



Photo III :balance de précision



Photo IV : l'ensemble de verrerie utilisé

Glossaire

- **Anti-infectieux** : capacité que possède un agent infectieux pathogène de s'opposer à l'action d'un médicament.
- **Antiseptique** : produit utilisé pour lutter contre les germes de la peau et des muqueuses.
- **Aromathérapie** : est défini comme l'utilisation des huiles essentielles des plantes pour traiter les maladies.
- **Œdème** : rétention pathologique de liquide dans les tissus de l'organisme, en particulier dans les tissus interstitiel.
- **Verrue** : Tumeur bénigne de l'épiderme due à un virus.
- **Astringent** : Substance qui ressert les tissus ou diminue la sécrétion.
- **Kinésithérapie** : Ensemble des traitements qui utilisent la mobilisation active ou passive pour donner ou rendre à un malade, le geste et la fonction de différentes parties du corps.
- **Biodisponibilité** : quantité d'un produit qui agit réellement, après absorption, sur l'organe ou la fonction à traiter.
- **Gemmothérapie** : est une branche de la phytothérapie, elle consiste à utiliser des organes végétaux en pleine croissance tels que les bourgeons, les jeunes pousse ainsi que les jeunes feuilles des plantes et des arbres.
- **Antioxydant** : substance qui réduit ou neutralise les effets de l'oxydation.
- **Thrombolibite** : inflammation d'une veine avec formation d'un caillot dans celle-ci.
- **Carragénine** : Mucopolysaccharide Sulfaté extrait d'une algue marine.