

## Etude de la cicatrisation des plaies et des activités anti-inflammatoire et antioxydante d'une fraction issue de l'extrait hydroéthanolique de *Terminalia ivorensis* (Combretaceae) sur les rats Wistar

KONAN Gbe Kouakou N'dri Ange\*, KRA Adou Koffi Mathieu, OUATTARA Sitapha, KPLE Tatiana Kangah Mireille, BOLOU Gbouhoury Eric Kevin, MONNEY Yapou Urbain, LIDJI Casilde Jessica Sintes Ruth, KOUAME Cyndi Cathland, N'GUESSAN Jean David and DJAMAN Allico Joseph.

Laboratoire de biologie et santé Université Felix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire.

Date de réception : 30 Octobre 2022; Date de révision : 23 Novembre 2022; Date d'acceptation : 28 Décembre 2022

### Résumé :

Le potentiel pharmacologique des extraits d'écorces de *Terminalia ivorensis* utilisées en médecine traditionnelle en Côte d'Ivoire n'a pas encore été scientifiquement exploré. L'objectif de cette étude était donc d'évaluer l'effet sur la cicatrisation *in vivo* et les activités anti-inflammatoires et antioxydantes d'une fraction issue de l'extrait hydroéthanolique de *Terminalia ivorensis*. La méthodologie a consisté à évaluer l'activité antioxydante via le test au DPPH et l'effet anti-inflammatoire à partir de la mesure du volume de l'œdème de la patte des rats induit par la carraghénine. Par ailleurs une excision circulaire de 2 cm de diamètre a été faite dans la région dorsale de chaque rat pour évaluer l'activité cicatrisante de la fraction F<sub>5</sub> contre une pommade de référence (L-Mesitran). Les résultats révèlent que les CI<sub>50</sub> obtenues via le test du DPPH sont de 9,67 ± 1,12 µg/mL pour la vitamine C et de 10,15 ± 0,71 µg/mL pour la F<sub>5</sub>. Le pouvoir inhibiteur de la fraction F<sub>5</sub> sur la patte des rats, révèle qu'il n'y a pas de différence significative entre la molécule de référence et la fraction F<sub>5</sub> aux doses étudiées de la première heure à la cinquième heure. L'action locale de la fraction F<sub>5</sub> sur les plaies des rats a induit une cicatrisation de 88,33%, 89,50% et 96,67% avec les extraits aux concentrations 3 mg/mL, 6 mg/mL et 12 mg/mL respectivement. Aux doses de doses de 0,6 et 1,2 %, une cicatrisation complète (100%) a été observée au bout de 16 jours d'expérimentation.

**Mots clés :** antioxydant, antiinflammatoire, cicatrisation, fraction, *Terminalia ivorensis*.

## Study of wound healing and anti-inflammatory and antioxidant activities of a fraction from the hydroethanol extract of *Terminalia ivorensis* (Combretaceae) on Wistar rats

### Abstract:

The pharmacological potential of *Terminalia ivorensis* bark extracts used in traditional medicine in Côte d'Ivoire has not yet been scientifically explored. The objective of this study was therefore to evaluate the effect on *in vivo* wound healing and the anti-inflammatory and antioxidant activities of a fraction from the hydroethanol extract of *Terminalia ivorensis*. The methodology consisted in evaluating the antioxidant activity via the DPPH test and the anti-inflammatory effect from the measurement of the volume of the paw edema of rats induced by carrageenan. In addition, a circular excision of 2 cm in diameter was made in the dorsal region of each rat to evaluate the healing activity of the F<sub>5</sub> fraction against a reference ointment (L-Mesitran). The results reveal that the IC<sub>50</sub> obtained via the DPPH assay are 9.67 ± 1.12 µg/mL for vitamin C and 10.15 ± 0.71 µg/mL for F<sub>5</sub>. The inhibitory power of the F<sub>5</sub> fraction on the paw of rats, reveals that there is no significant difference between the reference molecule and the F<sub>5</sub> fraction at the doses studied from the first hour to the fifth hour. The local action of F<sub>5</sub> fraction on the rat wounds induced 88.33%, 89.50 % and 96.67% healing with the extracts at 3 mg/mL, 6 mg/mL and 12 mg/mL concentrations respectively. At the doses of 0,6 % and 1,2 %, complete healing (100%) was observed after 16 days of experimentation.

**Key words:** anti-oxydant; anti-inflammatory; healing; fraction; *Terminalia Ivorensis*.

### Introduction

La peau, est un organe complexe ayant plusieurs fonctions essentielles dont la principale est la protection de l'organisme contre les agressions extérieures. La perturbation de son intégrité, entraîne une plaie. Une plaie est définie comme étant une interruption dans la continuité d'un tissu du corps, une rupture de la barrière cutanée (Li et al., 2005; Shpichka et al., 2019). Elle peut être causée par des agents extérieurs mécaniques: brûlures, radiations, coupures, déchirures, frottements, pincements et pressions (Fortin, 2005). Elle peut être guérie par un cicatrisant. Un

cicatrisant est un agent qui favorise et accélère la cicatrisation. Il améliore l'état et l'apparence de la cicatrice (SFMU, 2005). La cicatrisation des plaies est une cascade d'événements très complexes qui peut être grossièrement divisée en trois phases qui se chevauchent : inflammation, formation de tissu de granulation et remodelage de la matrice extracellulaire (Vipin et Sarvesh, 2011). Les activités biologiques de la peau sont dues à son interaction avec diverses protéines de liaison. Dans le processus de réparation tissulaire, les cellules inflammatoires favorisent la migration et

(\*) Correspondance : Konan G.K.N.A. ; e-mail : [angepsn@gmail.com](mailto:angepsn@gmail.com); tél. : (+225) 0758640112.

la prolifération des cellules endothéliales conduisant à la néovascularisation du tissu conjonctif qui synthétisent les matrices extracellulaires, y compris le collagène, entraînant une ré-épithélialisation des tissus blessés (Agarwal et al., 2009). Malgré le progrès en matière de soins des plaies, celles-ci restent classées parmi les problèmes de santé publique dont l'incidence va augmenter avec l'évolution de certaines maladies comme le diabète et l'obésité (Gould et Fulton, 2016). D'autre part, elles sont sources de gênes sociales et un fardeau financier autant pour les pays industrialisés qu'en voies de développement (Begay, 2012). Dans les pays en voies de développement les infrastructures sanitaires sont insuffisantes et la grande majorité de la population essentiellement rurale et démunie. Ces populations n'ayant pas souvent accès aux soins de santé primaires, aux médicaments modernes et aux moyens logistiques leur permettant de braver la distance. Elles se trouvent donc contraintes de recourir à la médecine traditionnelle (Michayewicz, 2013). A ce sujet, d'après l'OMS, près de 80% de la population a recours à la médecine traditionnelle. Celle-ci utilise les plantes à l'état brut comme matière première, ce qui permet de venir à bout de nombreux problèmes de santé qu'elle peut rencontrer y compris les plaies.

Les préparations à base de plantes et leurs produits sont considérés comme source essentielle et majeure de la médecine moderne, à l'échelle mondiale (Garg et Sardana, 2016). Il a

été prouvé que de nombreuses plantes possèdent des propriétés curatives importantes (Mittal et Dixit 2013). En Côte d'Ivoire, les médicaments à base de plantes sont utilisés pour traiter plusieurs affections de la peau, y compris les plaies (Teklehaymanot et al., 2006). Parmi les plantes énumérées par la pharmacopée ivoirienne figure *Terminalia ivorensis*. Cette plante est une plante indigène de la famille des Combretaceae à diverses vertus bénéfiques sur la peau. En effet, les feuilles pulvérisées de la plante sont utilisées comme cataplasme pour traiter les brûlures et les contusions (Kougnimon et al., 2015). Selon Konan et al. (2022), le décocté issu des écorces de *T. ivorensis* cicatrise les plaies et autres blessures. En plus de ces données ethno-médecine, les études menées sur les écorces de la tige de *T. ivorensis* ont révélé que la plante possède des propriétés antimicrobiennes (Das et al., 2015), anti-arthrite (Zhang et al., 2019). Des études préliminaires portant sur l'extrait hydroéthanolique de *T. ivorensis* réalisées par Konan et al. (2022) ont montré des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et cicatrisantes prometteuses. L'une des perspectives de cette étude a été de rechercher de nouvelles substances capables de guérir des blessures traumatiques et facteurs associés à partir de cet extrait. La présente étude s'inscrit dans ce cadre. Elle a consisté à évaluer les activités antioxydantes, anti-inflammatoires et cicatrisantes d'une fraction issue de l'extrait hydroéthanolique des écorces du tronc de *Terminalia ivorensis*.

## Matériel et Méthodes

### 1. Produits chimiques, médicaments et réactifs

Les produits chimiques, médicaments et réactifs utilisés dans cette étude incluent: l'éthanol, l'hexane, l'acétate d'éthyle, le méthanol, acéthane, solution saline ; caraghénine, L-Mésitrant (Cicatrisant de référence), Ether, le Diclofénac (anti-inflammatoire de référence) et le beurre de karité.

### 2. Matériel animal

Le matériel animal était constitué des rats albinos Wistar adultes des deux sexes (6 à 12 semaines d'âge), pesant 120–250 g. Ils proviennent de l'animalerie de l'École Normale Supérieure (ENS). Avant d'être utilisés, les animaux ont été laissés pour acclimatation pendant 7 jours. Les rats étaient nourris avec un aliment standard. Ils avaient libre accès à l'eau et à l'aliment et étaient placés dans les conditions de température ambiante avec une alternance diurne et nocturne normale.

Toutes les procédures et techniques utilisées dans cette expérience ont été réalisées conformément aux lignes directrices de l'institut national de la santé pour les soins et utilisation des animaux de laboratoire (NAC, 2011).

### 3. Matériel végétal

Les écorces de *Terminalia ivorensis* ont été récoltées au Sud de la Côte d'Ivoire dans la région de la Mé. Elles ont été ensuite lavées, découpées en de petits morceaux et séchées à l'abri du soleil pendant 21 jours puis pulvérisées en poudre fine. Cette poudre a été utilisée pour réaliser l'extrait.

L'extrait hydroéthanolique a été réalisé à partir de la méthode d'extraction décrite par Zirih et al. (2003). Pour ce faire, 100 grammes de poudre végétale ont été dissoutes dans deux litres de solvant éthanolique 70 %. Le mélange a été ensuite homogénéisé vigoureusement dans un mixeur de type Binatone. L'homogénéat obtenu a

été essoré dans un carré de tissu percale puis filtré successivement sur du coton hydrophile et ensuite sur du papier wattman 3 mm. Le filtrat a été évaporé à 45 °C à l'aide d'une étuve ventilée de type Venticell® pendant 24h. A partir de cet extrait, une partition a été réalisée en utilisant un système hexane-eau (1:1). Une fois séchée, la phase aqueuse obtenue a subi une seconde partition dans un système acétate d'éthyle-eau (1:1). La phase aqueuse issue de cette seconde partition a été fractionnée sur une colonne de silice en utilisant différents systèmes d'éluant. La première fraction (F<sub>1</sub>) a été recueillie en utilisant de l'acétate d'éthyle (100%) comme éluant suivi d'un mélange de solvant (acétate d'éthyle, méthanol) de polarité croissante à partir desquels les fractions F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> et F<sub>4</sub> ont été obtenues. La dernière fraction F<sub>5</sub> a été obtenue en utilisant un système ternaire acétate d'éthyle-acétone-méthanol (90:5:5) laquelle a servi, après séchage, à réaliser les activités biologiques évoquées dans cette étude. Le rendement de cette fraction a permis de fixer les différentes doses administrées pendant les tests.

#### 4. *Activité antioxydante*

La détermination de l'activité antioxydante par le test de DPPH a été effectuée en utilisant la méthode décrite par Molyneux (2004). Pour ce faire, une solution méthanolique de DPPH a été préparée en dissolvant 4 mg de DPPH dans 100 mL de méthanol. Parallèlement, une gamme concentration allant de 200 µg/mL à 1,56 µg/mL a été effectuée à partir de la fraction F<sub>5</sub>. 150 µL de chacune des concentrations de l'extrait préalablement préparée est ajoutée à 2850 µL de la solution méthanolique de DPPH. Les absorbances des différentes solutions ont été mesurées à 517 nm après 30 minutes de repos à l'obscurité à température ambiante à partir d'un blanc réalisé avec une solution méthanolique 70 %. L'activité antioxydante liée à l'effet de piégeage du radical DPPH<sup>•</sup> est exprimée en pourcentage d'inhibition (PI) à l'aide de la formule suivante :

$$PI = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100$$

A<sub>0</sub> : absorbance DPPH,

A<sub>1</sub> : absorbance échantillon

La concentration inhibitrice 50 % (CI<sub>50</sub>) est la concentration des antioxydants nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH.

La détermination du pouvoir antioxydant de la fraction F<sub>5</sub> a été évaluée par le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des différents extraits. La

vitamine C a été utilisée comme molécule antioxydante de référence. Les différents pourcentages d'inhibition de chaque concentration ont permis de tracer les courbes d'inhibition.

Les tests ont été réalisés trois fois pour chaque extrait.

#### 5. *Activité anti-inflammatoire*

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée in vivo, par la méthode de l'œdème de la patte de rat induit par la carraghénine (Winter et al., 1962). Des rats ayant un poids compris entre 120 g et 150 g ont été mis en jeun 24 heures avant l'expérience. Ils ont eu libre accès à l'eau jusqu'au début de l'expérience. Ces rats ont été répartis en 5 lots de 5 rats. Les différents traitements spécifiques à chaque lot ont été administrés par gavage tel que définie par le déroulé suivant :

- Lot 1 : Eau physiologique en raison de 10 mL/kg/pc (contrôle)
- Lot 2 : Solution de la fraction F<sub>5</sub> de T. ivorensis à la dose de 10 mg/kg/pc
- Lot 3 : Solution de la fraction F<sub>5</sub> de T. ivorensis à la dose de 20 mg/kg/pc
- Lot 4 : Solution de la fraction F<sub>5</sub> de T. ivorensis à la dose de 40 mg/kg/pc
- Lot 5 : Solution Diclofenac à la dose de 10 mg/kg/pc.

Une heure après le gavage, l'induction de l'inflammation a été favorisée par injection de 0,1 mL de la solution de carraghénine à 1% (p/v). Elle a été injectée par voie sous-cutanée au niveau de l'aponévrose plantaire de la patte arrière droite de chaque rat. Il a ensuite été procédé à la détermination du diamètre (V<sub>0</sub>). Le diamètre (V<sub>0</sub>) de la patte arrière gauche de chaque rat, a été déterminé à l'aide d'un pléthysmomètre (Orchid) calibré et attribué à leur groupe respectif avant l'administration de la substance. Le diamètre de l'œdème de la patte arrière droite a été déterminé à 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6h (Elion et al., 2014).

L'ampleur de l'œdème a été appréciée par la détermination de la moyenne du pourcentage d'augmentation (%AUG) du volume de la patte de rat suivant la formule :

$$\%UAG = \frac{(V_t - V_0)}{V_0} \times 100$$

V<sub>t</sub> : Volume de la patte au temps t,

V<sub>0</sub> : Volume initial de la patte

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par le calcul du pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème selon la formule :

$$\%INH = \frac{(\%AUG_{\text{témoin}} - \%AUG_{\text{traité}})}{\%AUG_{\text{témoin}}} \times 100$$

## 6. Evaluation de l'activité cicatrisante

L'évaluation de l'activité cicatrisante *in vivo* de la F5 a été réalisée sur des rats. Son but a été d'évaluer l'accélération du potentiel de la néoformation des tissus dermiques. La comparaison a été faite avec un groupe d'animaux recevant une crème de référence L-Mésitran, un groupe témoin traité avec du beurre de karité uniquement et un groupe traité avec de l'eau physiologique.

Les animaux utilisés pour ce test étaient âgés de 12 semaines et pesaient entre 180 et 230 g. Les animaux ont été répartis au hasard en neuf groupes de trois rats avant induction des différentes plaies. Les animaux sont placés individuellement dans des cases afin d'éviter d'autres blessures ou autres réactions agressives pouvant interférer dans l'étude. L'activité cicatrisante a été évaluée dans un modèle d'excision expérimentale chez le rat tel que décrit par Sagliyan et al. 2010.

### • Préparation de la pommade

La pommade a été préparée à partir de la fraction F5, de l'eau distillée et du beurre de karité. La préparation a été faite manuellement : les quantités d'extrait correspondant aux concentrations 0,3%, 0,6% et 1,2% ont été triturées jusqu'à homogénéité totale dans un

mortier en porcelaine. Les quantités de beurre de karité nécessaires ont été ajoutées progressivement pendant la préparation de chaque échantillon.

Des solutions d'extrait ont été préparées dans les mêmes proportions que les pommades.

### • Induction de la plaie

Les animaux ont été anesthésiés à l'aide de l'éther. Après rasage et désinfection de la zone dorsale de tous les rats une marque circulaire de 2 cm de diamètre est réalisée à l'aide d'un marqueur indélébile. Une excision circulaire de 2 cm de diamètre était faite dans la région dorso-omoplate de chaque rat anesthésié. Chaque plaie a été nettoyée et les animaux ont été repartis individuellement dans des cages 24h avant le début du traitement (J0). Le traitement a été effectué tous les jours et les mesures du diamètre des plaies ont été faites tous les quatre jours pendant 21 jours à l'aide d'un pied à coulisse numérique. Tous les animaux ont été suivis régulièrement jusqu'à la cicatrisation complète des plaies et ont eu accès à la nourriture et à l'eau à volonté. Le pourcentage de rétrécissement ou de contraction des plaies a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Contraction de la plaie (\%)} = \frac{(\text{Surface de la plaie J1} - \text{Surface de la plaie Jn})}{\text{Surface de la plaie J1}} \times 100$$

### • Traitement des animaux

- LOT 1: témoin négatif : Eau physiologique : nettoyage de la plaie à l'eau physiologique
- LOT 2 : Beurre de Karité (BK): environ une noix de beurre de karité à la surface de la plaie.
- LOT 3 : témoin positif : L-Mésitran, application topique, environ une noix.
- LOT 4 : Pommade (P1 ; 0,3%) application topique d'une noix
- LOT 5 : Pommade (P2 ; 0,6%) application topique d'une noix
- LOT 6 : Pommade (P3 ; 1,2%) application topique d'une noix
- LOT 7 : Extrait (E1 ; 3 mg/mL) application topique de trois gouttes
- LOT 8 : Extrait (E2 ; 6 mg/mL) application topique de trois gouttes

- LOT 9 : Extrait (E3 ; 12 mg/mL) application topique de trois gouttes.

Toutes les procédures et techniques utilisés dans cette expérience ont été réalisées conformément aux lignes directrices de l'Institut national de la santé pour les soins et utilisation des animaux de laboratoire (NAC, 2011).

## 7. Analyse statistique

Les données ont été analysées à l'aide de Graph Pad prism 8 pour Windows. Les résultats expérimentaux ont été exprimés en moyenne  $\pm$  erreur standard de la moyenne et les tests de signification statistique ont été effectués en utilisant une analyse de la variance (ANOVA) à sens unique suivie du test post hoc de Tukey. Les valeurs  $p < 0,05$  ont été considérées comme statistiquement significatives. Les résultats des données analysées ont ensuite été présentés sous forme de tableaux et de figures.

## Résultats

### 1. Activité antioxydante

A partir des différentes courbes, la CI50 de chaque extrait a été déterminé graphiquement

(Figure 1). Ainsi, La valeur de la CI50 de la fraction F5 est de  $10,15 \pm 0,71 \mu\text{g/mL}$  contre  $9,67 \pm 0,28 \mu\text{g/mL}$  pour la vitamine C.

## 2. Activité anti-inflammatoire

La figure 2 montre l'effet du contrôle (eau distillée), la fraction F5 et la molécule de

référence (Diclofénac) sur l'évolution de l'œdème de la patte des rats.

Une augmentation du volume de la patte des rats

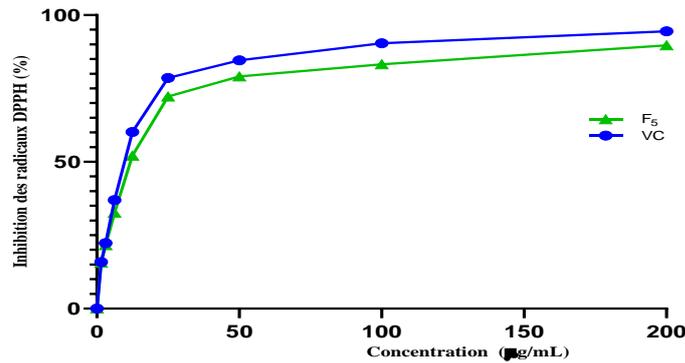


Figure 1 : Courbes de réduction du DPPH en fonction de la concentration  
F5 : fraction 5 ; VC : Vitamine C.

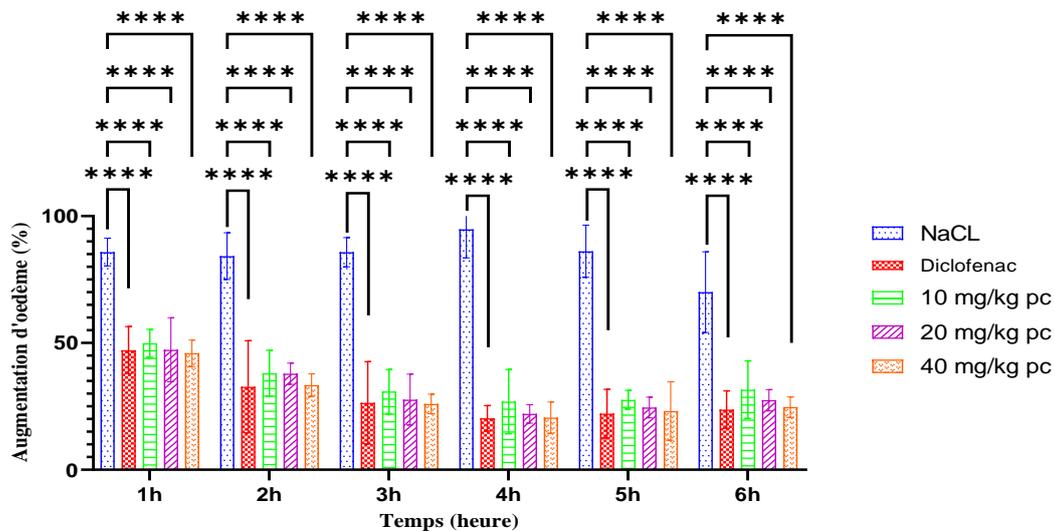


Figure 2 : Evolution de l'œdème de la patte du rat induite par la carragénine en fonction du temps.

a été contactée pour tous les animaux après une heure d'expérimentation. L'augmentation du volume de la patte était plus importante chez les animaux traités avec de l'eau distillée. Cette augmentation était de 85,8% à la première heure. Un pic d'augmentation de 94,76% a été enregistré à la 4ième heure avant de chuter à 70,03% à la sixième heure.

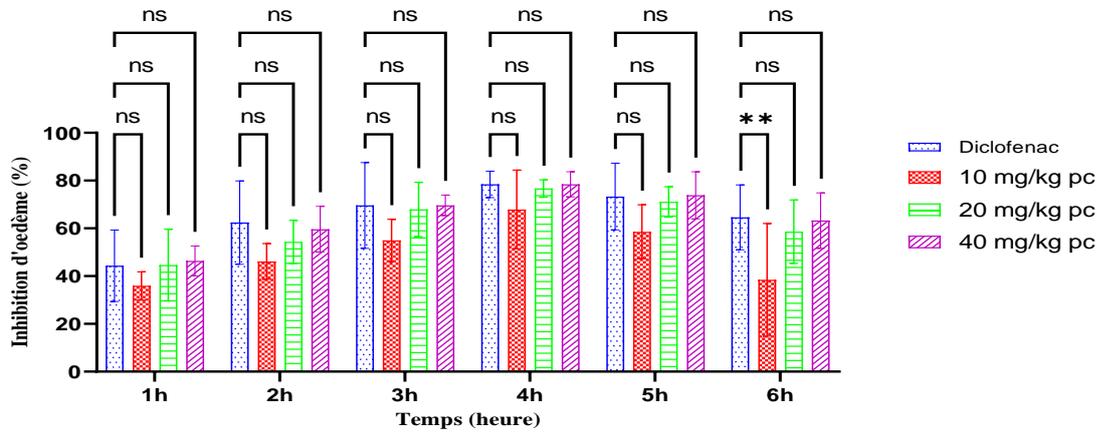
Le traitement des rats aux doses de 10, 20 et 40 mg/kg de poids corporel induit une diminution très significative ( $p < 0,001$ ) de l'inflammation par rapport aux rats du groupe contrôle. En effet, le pic d'augmentation le plus élevé a été obtenu à ces trois doses au bout d'une heure d'expérimentation. Ce pic est de 49,87 %, 47,33 %, 45,92 % aux doses de 10, 20 et 40 mg/kg de poids corporel respectivement. Une réduction

progressive de l'inflammation est observée jusqu'à la quatrième heure. L'augmentation passe au bout de 4h de 49,87 % à 26,85 %, 47,33 % à 22,01 %, 45,92 % à 20,53 % aux doses respectives 10, 20 et 40 mg/kg de poids corporel. Une légère augmentation est observée par la suite jusqu'à la fin de l'expérience.

Une différence significative ( $p < 0,001$ ) a également été observée entre les animaux traités à la molécule de référence et les animaux du groupe contrôle. Le pic d'augmentation atteint au bout d'une heure est de 47,15 % pour le Diclofénac. Une réduction seuil de 20,28 % a été atteinte au bout de 4h avant un inversement de la tendance jusqu'à la sixième heure avec une valeur de 23,71.

Le pouvoir inhibiteur de la fraction F<sub>5</sub> sur la patte des rats, (figure 3) révèlent qu'il n'y a pas de différence statistique entre la molécule de référence et la fraction F<sub>5</sub> aux doses étudiées de la première heure à la cinquième heure. Cette observation est valable pour les doses de 20 et 40

mg/kg de poids corporel à la sixième heure. Cependant, une différence significative (\*\* P<0,01) est observée entre le Diclofénac et la dose de 10 mg/kg de poids corporel à la sixième heure.



**Figure 3 :** Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte du rat par l'extrait la F<sub>5</sub> en fonction du temps

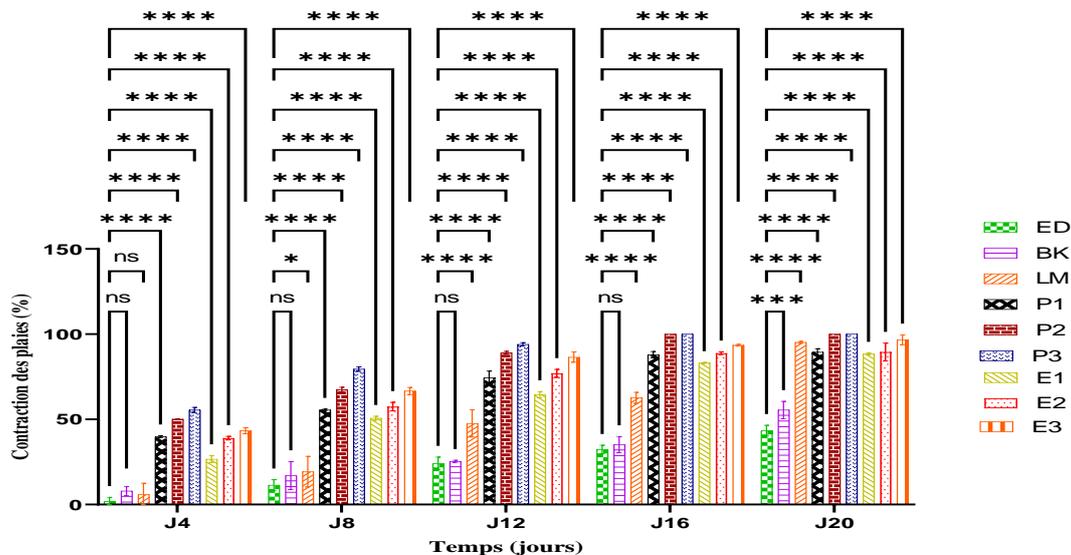
Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne ± écart-type ; \* P<0,1, \*\* P<0,01 et \*\*\*\* P<0,0001 représentent les différences significatives entre le diclofénac et les extraits aux différentes concentrations ; (ns) représentent l'absence de différences significatives entre le diclofénac et les extraits aux différentes concentrations.

### 3. Évaluation de l'activité de cicatrisation des plaies

Les résultats obtenus (figure 4) montrent qu'à la fin de l'expérience, on observe une contraction

moyenne de la plaie de 46,80 % chez les animaux traités avec de l'eau distillée.

Chez les animaux traités avec le beurre de karité, la contraction de la plaie était de 60,28 % au



**Figure 4 :** Evolution en fonction du temps du taux de cicatrisation généré par les substances testées.

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne ± écart-type ; \* P<0,1, \*\* P<0,01 et \*\*\*\* P<0,0001 représentent les différences significatives entre le diclofénac et les extraits aux différentes concentrations ; (ns) représentent l'absence de différences significatives entre le diclofénac et les extraits aux différentes concentrations ; ED : Eau Distillée ; BK : Beurre de Karité ; LM : L-MESITRAN ; P : Pommade ; E : Extrait.

terme des 21 jours d'expérience. Chez les animaux traités avec la pommade de référence (L-Mésitran), une contraction moyenne de 50 % a été observée entre le 12<sup>ème</sup> et le 16<sup>ème</sup> jour de l'expérience et au terme de l'expérience une contraction de la plaie évaluée à 87,22 % a été observée. L'action locale de la fraction F5 sur les plaies des rats a induit une cicatrisation de

88,33%, 89,50% et 96,67 % avec les extraits aux concentrations 3 mg/mL, 6 mg/mL et 12 mg/mL respectivement. Aux doses de 0,6 et 1,2 % de la pommade, une cicatrisation complète (100 %) a été observée au bout de 16 jours d'expérimentation. La pommade à 0,3 % induit une contraction de 89,49% au bout de 21 jours d'observation.

## Discussion

La méthode de piégeage des radicaux DPPH est une procédure standard appliquée pour l'évaluation de l'activité anti-radicalaire. Cette méthode est un outil simple, rapide et sensible pour étudier l'activité anti-oxydante d'un composé particulier ou d'extraits de plantes (Koleva et al., 2002). La fraction F5 a montré une activité dose dépendante de piégeage des radicaux DPPH. La plus forte activité antiradicalaire est obtenue avec la molécule de référence (vitamine C) dont la  $CI_{50}$  est  $9,67 \pm 0,28$   $\mu\text{g/mL}$ . Cette valeur est assez proche de la norme de référence de l'acide ascorbique qui est de  $8,97$   $\mu\text{g/mL}$  (Hira et al., 2013) comparativement aux travaux de Somanjana et al. (2013) dans lesquels une valeur de  $CI_{50}$   $3,71 \pm 0,38$   $\mu\text{g/mL}$  a été trouvée. Cette différence s'expliquerait par la différence de volume des réactifs utilisés, du pH de la solution, du temps de réaction et de la qualité de la solution de DPPH (molyneux, 2004). Effectués dans les mêmes conditions l'effet antiradicalaire induit par la fraction F5 est très probant en ce sens que la valeur  $CI_{50} = 10,15 \pm 0,71$   $\mu\text{g/mL}$  obtenue est environ 10 fois inférieure au seuil (100  $\mu\text{g/mL}$ ) pour lequel une substance n'a plus d'activité antiradicalaire notable selon Bidie et al. (2011). Ce qui suggère la présence de composés antiradicalaires dans la fraction. La valeur de la  $CI_{50}$  obtenue avec cette fraction est meilleure que les effets antioxydants obtenus par Konan et al. (2022) avec l'extrait éthanolique 70% ( $CI_{50} = 16,23 \pm 0,18$   $\mu\text{g/mL}$ ). Le processus de purification, de partition par solvant non miscible et de chromatographie sur colonne semble idéal pour la concentration de composés antioxydants. Dans certains cas, les extraits avec une forte activité anti-radicalaire sont riches en flavonoïdes ou en composés phénoliques (Samah et al., 2015; Dieng et al., 2017). L'action de ces antioxydants serait due à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons dérivés principalement de l'hydroxyle du cycle A des flavonoïdes (Le et al., 2007). Cet effet est également corroboré par la teneur en composés

phénoliques de l'extrait. Cette corrélation a été rapportée par plusieurs auteurs. Les composés phénoliques sont retrouvés dans les extraits issus de solvant polaire (Falleh et al., 2008 ; Samah et al., 2015; Dieng et al., 2017). Thomas (2011) a montré que les fractions obtenues avec des solvants polaires lors d'un processus de purification ont des activités antioxydantes supérieures aux fractions obtenues avec des solvants de polarité intermédiaires ou apolaires. En ce concerne l'effet antiinflammatoire de la fraction F5, aucune différence n'est observée entre la molécule de référence et les différentes doses de la fraction F5 durant les cinq premières heures. A partir de la sixième heure, une différence s'installe entre l'effet de la fraction et la molécule de référence à la dose de 10mg/kg de poids corporelle. Cette baisse d'activité pourrait être due à l'hydrolyse du principe actif présent dans la fraction.

La dose de 20 mg/kg de poids corporelle est la plus petite dose de la fraction produisant un effet statiquement similaire à celui de la molécule de référence. Une similarité de résultat a été observée entre l'inhibition générée par la molécule de référence et l'extrait hydroéthanolique de *T. ivorensis* à la dose de 300 mg/kg de poids corporel (Konan et al., 2022).

Comparé à l'extrait total, la fraction à une activité antiinflammatoire moins importante à la dose maximale de 40 mg/kg de poids corporel. L'extrait total à la dose 600 mg/kg de pc a induit une réduction de l'inflammation statiquement supérieure à celle de la molécule de référence (Konan et al., 2022). Cette baisse pourrait s'expliquer par la perte de certains composés impliqués dans la réaction lors du processus de fractionnement ou d'une répartition des composés actifs dans les différences fractions (Sy Ndiaye et al., 2016). En comparant ces résultats avec ceux de précédente étude (Sy Ndiaye et al., 2016), il est constaté que la fraction F5 est plus active que les fractions F1, F2 et F3 issues de *Moringa oleifera*.

Les résultats obtenus ont montré que la fraction F5 issue de cette plante favorise effectivement la contraction des plaies et la cinétique de cicatrisation est fonction de la dose d'extrait. Pendant le test, il a été remarqué que l'extrait réduit non seulement la durée du saignement et de l'inflammation mais il accélère également l'épithélialisation, ce qui favorise la fermeture des plaies. Cette activité cicatrisante pourrait être due à la présence de composés phénoliques généralement isolés à partir de solvant alcoolique ou hydroalcoolique. Il a été mentionné dans les travaux menés par Okoli et ses collaborateurs en (2007) ainsi que dans les travaux de Nabil et al., (2014) que les tanins possèdent une activité hémostatique en précipitant les protéines pour arrêter le saignement. Le raccourcissement de la phase inflammatoire permet d'aboutir plus rapidement à la phase d'épithélialisation et ainsi permettre l'accélération de la guérison des plaies. D'après les travaux de Sudsai et al., (2013), les flavonoïdes augmentent la migration des fibroblastes au niveau des plaies. L'épithélialisation et la contraction des plaies traitées avec l'extrait est plus rapide par rapport à celle des témoins. Cette épithélialisation précoce pourrait être due à la présence des tanins et des flavonoïdes, comme l'a démontré l'étude effectuée par Ofori-Kwakye et al., (2011) sur la plante médicinale *Spathodea campanulata*. Lodhi et al. (2010) ont montré que la fraction flavonoïde de feuilles de *Tephrosia purpurea*, plante tropicale de la famille des Fabaceae, améliore le processus de cicatrisation des brûlures. Cet effet serait corrélé à l'augmentation à la fois de la contraction de la plaie, de la résistance à la

traction, de la production de fibres de collagène, de fibroblastes et l'augmentation de la réponse angiogénique.

De même ces différents groupes chimiques ont été caractérisés dans l'extrait hydroéthanolique 70 % de *T. ivorensis* (Konan et al., 2022). En effet, fort de la présence de ces groupes chimiques dans l'extrait brut, l'on pourrait s'attendre à un effet cicatrisant assez fort et rapide de ce dernier par rapport à la fraction F<sub>5</sub>, mais tel n'est pas le cas. Cependant seul son effet cicatrisant est supérieur à celui de la pommade (beurre de karité +extrait total) quel que soit la concentration utilisée (Konan et al., 2022). L'effet inverse a été observé avec la fraction F<sub>5</sub>. En effet, la pommade aux concentrations 6 et 1,2 % a induit une cicatrisation complète au bout de seize jours de traitement contre une cicatrisation de 96,67 % avec la fraction F<sub>5</sub> à la dose maximale de 12mg/mL d'eau distillée. Le beurre de karité aurait donc un effet synergique avec la fraction F<sub>5</sub>. En effet, le beurre de karité est riche en acides gras (Ahouannou et al., 2013) ; ces acides gras contenus dans le film huileux du beurre ont un effet antimicrobien sans être toxiques pour les cellules et ne perturbent pas la cicatrisation. Ces substances huileuses améliorent l'élasticité de la peau, soutiennent la régénération de l'épiderme, favorisant ainsi la cicatrisation en présence de la fraction F<sub>5</sub>. Par conséquent, la régression de l'activité cicatrisante constatée au niveau de la fraction lorsqu'elle est appliquée sans beurre de karité, serait due à une faible adhérence de l'extrait à la plaie au cours du traitement des animaux.

### Conclusion

La fraction F5 issue de l'extrait hydroéthanolique de *Terminalia ivorensis* possède une activité antioxydante, antiinflammatoire et cicatrisante. La CI50 de cette fraction est de 10,15 ± 0,71 µg/mL. Son activité antiinflammatoire ne présente pas de différence significative à celle du Diclofénac à la dose de 20 mg/kg de pc. De plus, elle a induit une cicatrisation totale de la plaie au bout de 16 jours d'application.

### Références

Agarwal P.K., Singh A., Gaurav K., Goel S., Khanna H.D., Goel R.K., 2009. Evaluation of woundhealing activity of extracts of plantain banana (*Musa sapientum* var. *paradisiaca*) in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*; 47:32– 40.

Ces résultats indiquent que le processus d'obtention de cette fraction est idéal pour la recherche de composé chimique d'intérêt thérapeutique pour cicatriser les plaies. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires sur l'ensemble des fractions obtenues afin de confirmer ou réfuter le procédé de purification expérimenté.

Ahouannou C., Tchobo F.P., Toukourou C., Fernando Kougbadi F. et Soumanou M.M., 2013. Influence des opérations thermiques impliquées dans les procédés traditionnels d'extraction du beurre de karité au Bénin, *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 7(5): 2151-2164.

- Begay C., 2012.** Wound Healing Model. *American Indian Health Management Policy*, 1-10.
- Bidie A.P., Banga B.N., Adou F.Y., N'Guessan J.D. & Djaman A.J., 2011.** Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature*, 8(1): 1-11.
- Das, N., Goshwami, D., Hasan, M. S., and Raihan, S. Z., 2015.** Evaluation of acute and subacute toxicity induced by methanol extract of *Terminalia citrina* leaves in Sprague Dawley rats. *Journal of Acute Disease* ; 4: 316–321.
- Dieng Serigne I.M., Alioune D.F., Kady D.B., Abdou S., Madieye S., Moussa S., Amadou M., William D. et Emmanuel B., 2017.** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. *Int. J. Biol. Chem. Sci. International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(2): 768-776.
- Elion Itou R.D.G., Sanogo R., Etou Ossibi A.W., Nsonké Ntandou F.G., Ondelé R., Pénemé B.M., Okiémy Andissa N., Diallo D., Ouamba J.M. et Abena A.A., 2014.** Anti-inflammatory and analgesic effects of aqueous extract of stem bark of *Ceiba pentandra* Gaertn. *Pharmacology & Pharmacy*; 5: 1113-1118.
- Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouroufi N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdelly C., 2008.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331, 372-379.
- Fortin V., 2005.** Etude de régénération de la membrane basilaire au cours de la guérison de plaies cutanées humaines. Université Lavcoll. Histologie : organes, systèmes et appareils. Revue Faculté de Médecine Pierre Marie Curie, PCEM2- DCEM1, France, 67-72. CRICKX B., 2005b).
- Garg P. et Sardana S., 2016.** Pharmacological and therapeutic effects of *ocimum sanctum*. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research.*, 3(8): 637–640.
- Gould L. et Fulton J., 2016.** Wound Healing in Older Adults. 2: 34–36.
- Hira A., Dey S.K., Howlader M.S., Ahmed A., Hossain H., Jahan I.A., 2013.** Anti-inflammatory and antioxidant activities of ethanolic extract of aerial parts of *Vernonia patula* (Dryand.) Merr. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*;3(10): 798-805.
- Koleva I.I., van Beek T.A., Linssen J.P., de Groot A., Evstatieva L.N., 2002.** Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochem Anal*, 1: 8-17.
- Konan G.K.N.A., Kra AKM, Bolou GEK, Lidji CJSR, Kple T.K.M., Monney Y.U., Kouame C.C., N'Guessan J.D. et Djaman A.J., 2022.** Study of The Anti-Inflammatory Activity and Healing Power of The Hydroethanol Extract of *Terminalia Ivorensis* In Wistar Rats. *International Journal of Scientific Advances*, 3:4.
- Kougnimon F., Dougnon V., Anago E., Bankolé H., Soumanou M., et Loko F., 2015.** Propriétés biologiques et pharmacologiques de *Terminalia superba* Engl. et Diels (Combretaceae): Synthèse bibliographique. *Algerian Journal of Natural Products*. 3: 164-176.
- Le K., Chiu F. and Ng K., 2007.** Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, 105: 353-363.
- Li W., Dasgeb B., Phillips T., Li Y., Chen M., Garner W. et al., 2005.** Wound-healing perspectives. *Dermatologic Clinics*. ; 23 (2): 181-192.
- Lodhi S., Pawar R.S., Jain A.P., Jain A. et Singhai A.K., 2010.** Effect of *Tephrosia purpurea* (L) Pers. on partial thickness and full thickness burn wounds in rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*. 7(1): 1 – 17.
- Michayewicz N., 2013.** Aloe vera, plante médicinale traditionnellement et largement utilisée depuis des millénaires, aux nombreuses propriétés thérapeutiques. Plante miracle ? <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01731937>. Université de Lorraine, France. 152 pages.
- Mittal S., et Dixit P.K., 2013.** International journal of comprehensive pharmacy natural remedies for wound healing: a literary review. *International Journal of Comprehensive Pharmacy*, 04(03): 1–6.
- Molyneux P., 2004.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2): 211-219.
- Nabil G., Leila H., Aberkane M. C., Oueld-Mokhtar S. M. et Nassima P., 2014.** Évaluation de l'activité hémostatique *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. *Algerian Journal of Natural Products*, 2,2: 64-74
- NAC (National achadamy council), 2011.** Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. Washinton DC: The national achadampy press; 248p
- Ofori-kwakye K., Awo A.K., eT Marcel T.B., 2011.** Woundhealing potential of methanol extract of *Spathodea campanulata*. Stem bark formulated into a topical preparation. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative*, 8(3): 218 -223.
- Okoli C.O., Akah P.A. et Okoli A.S., 2007.** Potentials of leaves of *Aspilia africana* (Compositae) in wound care: an experimental evaluation. *Revue University of Illinois (Chicago)*, 275: 6- 7.
- Sagliyan A., Ceribasi A. O., Gunay C., Han M. C., Benzer F., Kandemir P., 2010.** Effects of dietary supplementation with whey proteins on surgical wound healing in rats. *Revue Médical*, 161(10): 455-462.
- Samah D., Elina Y., Kyriakos P. et Helen S., 2015.** Activités anti-radicalaires de l'huile essentielle et des extraits bruts de *Thymus numidicus* Poiret., Algérie. *Afrique Science*, 11(2) : 58 – 65.
- SFMU, 2005.** Conférence de Consensus : Prise en charge des plaies aux urgences – texte long. Edition. Société Francophone de Médecine d'Urgence, Clermont-Ferrand, 2-4.
- Shpichka A., Butnaru D., Bezrukov E.A, Sukhanov R.B, Atala A., Burdukovskii V., Zhang Y., Timashev P. 2019.** Skin tissue regeneration for burn injury. *Stem Cell Res Ther*. 10(1):94.

- Somanjana K., Snigdha P., Ananya C., Debal R., Anirban R., Krishnendu A., 2013.** Evaluation of antioxidative activity of ethanolic extract from *Russula delica*: An *in vitro* study. *Journal of Chemistry and Pharmaceutical Research*, **5**: 100-107.
- Sudsai T., Chatchai W., Titpawan N. et Supinya T. (2013).** Evaluation of the woundhealing property. *Journal of Ethnopharmacology*, **150**: 223-231.
- Sy Ndiaye A., Fall A.D., Ndiaye M., Gassama B.K., Dièye A.M., Sy G.Y., Faye B., 2016.** Etude de l'activité antiinflammatoire et de l'effet sur la muqueuse gastrique des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) chez le rat. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. **10**(2): 760-768,
- Teklehaymanot T., Giday M., Medhin G., Mekonnen Y., 2006.** Knowledge and use of medicinal plants by people around Debre Libanos monastery in Ethiopia. *Journal of Ethnopharmacology*, **13**:12-18.
- Thomas M., 2011.** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*). Université D'ORLÉANS, Institut de Chimie Organique et Analytique, France. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00677211>. 289 pages.
- Vipin K.G. et Sarvesh K.P., 2011.** Wound-healing activity of ethanolic and aqueous extracts of *Ficus benghalensis*. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology*, **3**: 4.66-78.
- Winter C.A., Risley F.A. & Nuss O.W., 1962.** Carrageenin induced oedema in hand paw of the rat as assays anti-inflammatory drugs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **111**: 544-547.
- Zhang X.R., Kaunda J.S., Zhu H.T., Wang D., Yang C.R., et Zhang Y.J., 2019.** The genus *Terminalia* (Combretaceae): An ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review. *Natural Prod. Bioprospect*, **9**: 357-392.
- Zirih G. N., Datté J. Y., Kra-Adou K. M. et Grellier P., 2007.** Phytochemical and pharmacological studies of the alcoholic extract (MFA) of *Fagara macrophylla* Oliv. Engl. (Rutaceae) : the chemical structure of the active compound inducing antipaludic activity. *Journal of Chinese Clinical Medicine*, **2**: 205-210.