

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université A. MIRA – Bejaia**

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*

*Département de Biologie Physico-chimique*

*Spécialité Biochimie Appliquée*



Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

Réf.....

**MASTER**

*Thème*

**Étude *in vivo* des effets anti –inflammatoires et  
cicatrisants de *Rhamnus alaternus***

Présenté par :

**BESSAI Ikram & BOUICH Aida**

Soutenu le : 21 juin 2023

**Devant le jury composé de :**

Mme Remila-Khereddine S.	MCB	Président
Mme Ait Atmane S.	MAB	Encadrante
Mr Tacherfiout M.	MCA	Co-encadrant
Mr Ouchemoukh S.	Professeur	Examineur

**Année universitaire : 2022/2023**

## Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

À toi mon cher papa **Brahim**, depuis mon enfance, vous avez été mon modèle, mon héros et mon guide. Votre exemple de détermination et de succès m'a inspiré à toujours viser l'excellence. Vous m'avez encouragé à poursuivre mes rêves, à repousser mes limites et à croire en mes capacités, votre soutien inconditionnel a été une source de force et de motivation tout au long de ce parcours académique, Je suis honorée d'avoir un père aussi exceptionnel que vous. Votre présence dans ma vie et votre soutien est ma source de réconfort et de force.

À toi ma chère maman **Lynda**, la lune de mes nuits et le soleil de mes jours, toi qui as fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Vous avez toujours été là pour moi, prête à m'écouter, à me soutenir et à me conseiller, votre amour maternel m'a donné la force et la confiance nécessaires pour surmonter les obstacles et poursuivre mes rêves, Vous avez été ma meilleure amie, ma confidente et ma conseillère.

Je vous remercie du plus profond de mon cœur pour tout ce que vous avez fait et continuez de faire pour moi. Cette réussite est le reflet de votre amour et de votre influence positive dans ma vie.

À mon cher **fiancé**, je vous remercie pour votre aide précieux, votre soutien et vos encouragements.

À ma chère amie **Aida**, qui a affronté avec moi les moments difficiles pour mener à bien ce travail, je vous remercie pour ton amitié et pour tous les moments inoubliables partagés ensemble, je te dédie ce travail et je te souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

À ma très chère **grand-mère**, votre amour inconditionnel et votre soutien indéfectible ont été un réconfort constant dans ma vie. à mes tantes et oncles bien-aimés **Ratiba, Wafia, Fouzia, Kamel, Samir et Reda**. Vous avez été des guides précieux, confidents et sources d'inspiration. Votre gentillesse, votre sagesse et votre générosité ont illuminé mon chemin et ont contribué à mon développement personnel.

À mes chères cousines **Dalia, Amel, Lyna, Malak et Lamis**.

**IKRAM**

## *Dédicaces*

Je dédie ce mémoire :

À mon très cher père *Abd el Kader*, qui a toujours été là pour moi tout au long de mes années d'études, aucune dédicace n'exprime l'amour et le respect que j'ai toujours pour lui, que Dieu le garde et le protège.

À ma très chère mère *Zohra*, je dédie ces mots à ma mère extraordinaire, qui m'a soutenu tout au long de mes années d'études. Son sacrifice et son soutien m'ont donné confiance, courage et sécurité. Aucune dédicace ne peut exprimer la profondeur de ma gratitude envers elle, pour son amour indéfectible, son soutien inconditionnel et ses encouragements. Que Dieu les préserve et leur accorde la santé et longévité.

À mon frère *Yacine* et ma sœur *Litycia*, mes compagnons de vie, je vous adresse cette dédicace avec une profonde affection.

À *Tinhinane*, mon amie bien-aimée, avec qui j'ai partagé chaque instant de mon enfance et de mon adolescence, je lui suis infiniment reconnaissante et je lui dédie ce travail avec affection.

À mes chers oncles et tantes, dont leur présence bienveillante a toujours été réconfortée, je leur exprime ma reconnaissance.

À mes chères cousines *Feriel*, *Manel* et *Chaïma*, je vous dédie ces mots empreints de complicité et d'amour fraternel.

À ma chère copine, sœur et collègue de mon parcours *Ikrām*, avec qui j'ai partagé tous les moments de peine et de joie, je tiens à te remercier du fond du cœur d'avoir toujours été là. Ta présence dans ma vie a rendu ce parcours encore plus significatif et mémorable, je lui adresse toute ma gratitude et mon affection.

*AIDA*

## *Remerciements*

Nous souhaitons tout d'abord exprimer notre profonde gratitude envers Dieu pour nous avoir accordé le courage et la volonté nécessaire tout au long de nos études, ainsi que pour nous avoir aidés à mener à bien cette modeste recherche

Nous tenons également à exprimer notre profond respect, notre sincère gratitude et nos vifs remerciements à plusieurs personnes :

Tout d'abord, nous remercions chaleureusement notre promotrice, *Mme Aït Atmane S.* pour son encadrement, sa disponibilité, ses précieux conseils et orientations, ainsi que pour l'intérêt et la confiance qu'elle nous a accordés. Nous exprimons également notre gratitude envers notre Co-encadreur, *Mr.*

*Tacherfiouth M.*

Nous sommes honorés que *Mme Remila-khiredine S.* a accepté de présider le jury et nous lui sommes reconnaissants d'avoir consacré son temps à cette tâche.

Nous exprimons notre reconnaissance envers *Mr OUCHEMOUKH S.* pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail et pour ses précieuses contributions.

Nous tenons également à remercier et à exprimer notre gratitude envers l'ingénieur de laboratoire pour sa gentillesse et sa sympathie tout au long de notre recherche.

Nous sommes reconnaissants envers tous ceux qui ont gagné de près ou de loin à cette recherche, et nous sommes conscients que notre réussite est le fruit d'une collaboration précieuse.

*AIDA ET IKRAM*

## Liste des abréviations

**EMERA** : Extrait méthanolique d'écorce de *Rhamnus alaternus*.

**RA** : *Rhamnus alaternus*.

**R. alaternus** : *Rhamnus alaternus*.

**AINS** : Antis inflammatoires non stéroïdiens.

**AIS** : Anti-inflammatoires stéroïdiens.

**HPLC** : High performance liquid chromatography (Chromatographie en phase liquide à haute performance).

**GC –MS** : Gas chromatography –mass spectrometry (Chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse).

**RE** : Rendement d'extraction.

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure ferrique.

**Eq** : Equivalent.

**HCl** : Acide chlorhydrique.

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique.

**AlCl<sub>3</sub>** : Trichlorure d'aluminium.

**V<sub>0</sub>** : Volume initiale.

**T** : Temps.

**C<sub>0</sub>** : Contour initial de la patte.

**C<sub>t</sub>** : Contour de la pâte à temps.

**S<sub>t</sub>** : Surface de plaie de souris traité.

**S<sub>0</sub>** : Surface initiale de la plaie.

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Les signes de l'inflammation .....	02
<b>Figure02</b> : Mode d'action des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens .....	04
<b>Figure 03</b> : Les étapes de la Cicatrisation cutanée.....	06
<b>Figure 04</b> : Les types de cicatrisation pathologique. ....	08
<b>Figure05</b> : Photographie de <i>Rhamnus alaternus</i> en mois de février.....	08
<b>Figure06</b> : Répartition de l'espèce <i>Rhamnus alaternus</i> en Algérie .....	09
<b>Figure 07</b> : Photographie des étapes de préparation de la poudre de l'écorce <i>Rhamnus alaternus</i> .....	12
<b>Figure08</b> : Photographie des étapes d'extraction par macération.....	13
<b>Figure 09</b> : Protocole d'étude expérimentale de l'inflammation .....	17
<b>Figure 10</b> : Protocole d'étude expérimental de la cicatrisation .....	18
<b>Figure 11</b> : Effet de l'extrait méthanolique des écorces de <i>Rhamnus alaternus</i> et le diclofénac sur le contour de la patte de la souris .....	24
<b>Figure 12</b> : Pourcentage d'inhibition de l'inflammation par l'EMERA.....	24
<b>Figure 13</b> : Photographies de l'aspect des plaies durant la période de traitement .....	26
<b>Figure 14</b> : Evolution des surfaces des plaies au fil du temps .....	27
<b>Figure 15</b> : Evolution des pourcentages de rétraction des plaies en fonction des jours.....	29

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Quelques plantes à activités anti-inflammatoires .....	05
<b>Tableau II</b> : Noms vernaculaires de <i>R. alaternus</i> .....	09
<b>Tableau III</b> : Classification taxonomique de <i>Rhamnus alaternus</i> .....	10
<b>Tableau IV</b> : Composition phytochimique des écorces et les différents extraits utilisés ..	10
<b>Tableau V</b> : Taux de l'humidité et rendements d'extraction en pourcentage .....	19
<b>Tableau VI</b> : Résultats des tests phytochimiques d'écorce de <i>Rhamnus alaternus</i> .....	20
<b>Tableau VII</b> : Teneurs en composés phénoliques de l'EMERA .....	21

## Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
<b>Introduction</b> .....	01

### Chapitre I : Synthèse bibliographique

<b>I. L'inflammation</b> .....	02
I.1. Définition .....	02
I.2. Les types et les phases du processus inflammatoire .....	02
I.3. Les anti-inflammatoires .....	03
I.3.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens(corticoïdes) .....	03
I.3.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	04
I.3.3. Les anti-inflammatoires naturels .....	04
<b>II. La cicatrisation des plaies</b> .....	05
II.1. Définitions .....	05
II.2. Les phases de cicatrisation .....	05
II.3. Les types de cicatrisation pathologique.....	06
II.3.1. La cicatrice mature .....	06
II.3.2. La cicatrice immature.....	07
II.3.3. La cicatrice hypertrophique.....	07
II.3.4. La cicatrice chéloïdes .....	07
<b>III. <i>Rhamnus Alaternus L</i></b> .....	08
III.1. Description botanique et noms vernaculaire .....	08
III.2. Distribution et classifications.....	09
III.3. Compositions phytochimique des écorces de <i>Rhamnus alaternus</i> .....	10
III.4. Usage Traditionnel et Activités biologiques des écorces .....	11

### Chapitre II : Matériel et Méthodes

<b>I. Préparation de la matrice végétale</b> .....	12
I.1. Récolte .....	12
I.2. Préparation de la poudre .....	12



<b>II. Préparation de l'extrait</b> .....	12
<b>III. Tri-phytochimique</b> .....	13
II.1. Détection des polyphénols .....	13
II.2. Détection des tanins .....	13
II.3. Détection des terpénoides.....	13
II.4. Détection des alcaloïdes .....	14
II.5. Détection des saponines .....	14
II.6. Détection des stérols et triterpènes.....	14
II.7. Détection des mucilages.....	14
II.8. Détection des dérivés anthracéniques libres.....	14
<b>IV. Dosage des composés phénoliques</b> .....	14
IV.1. Polyphénols totaux.....	14
IV.2. Flavonoïdes.....	15
IV.3. Tanins condensés .....	15
<b>V. Étude des activités biologiques</b> .....	16
V.1. Animaux utilisés .....	16
V.2. Etude de l'activité anti-inflammatoire .....	16
V.3. Etude de l'activité cicatrisante .....	17
<b>VI. Analyses statistiques</b> .....	18

### **Chapitre III : Résultats et discussion**

<b>I. Taux d'humidité et rendement d'extraction</b> .....	19
<b>II. Tri-phytochimique</b> .....	19
<b>III. Teneur en composés phénoliques</b> .....	21
III.1. Teneur en polyphénols totaux .....	21
III.2. Teneur en flavonoïdes.....	22
III.3. Teneur en tanins .....	22
<b>IV. Activités biologiques <i>in vivo</i></b> .....	23
IV.1. Activité anti-inflammatoire .....	23
IV.2. Activité cicatrisante .....	25.

**Conclusion et perspective** ..... 32

**Références bibliographiques** ..... 34

**Annexes**

# *Introduction*

## Introduction

Le processus de cicatrisation est étroitement lié à l'inflammation. En effet, l'inflammation est une réponse immunitaire naturelle du corps en cas de blessure ou de lésion tissulaire ou Lorsque les tissus sont endommagés (**Charbonneau et al., 2019**). Depuis plusieurs dizaines d'années, la prise en charge de nombreuses pathologies inflammatoires est basée sur l'usage des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et des anti-inflammatoires stéroïdiens (les glucocorticoïdes) qui peuvent avoir des effets secondaires ou interagir avec d'autres médicaments, ce qui peut causer des problèmes de santé (**Faure, 2009**) pour cela des anti-inflammatoires d'origine végétale tels que des extraits de plantes médicinales semblent la solution la plus appropriée.

Près de 80% du monde dépend des médicaments traditionnels pour les soins primaires, dont une grande partie implique des extraits de plantes (**Kherbachi et al., 2022**). En effet, les composés naturels possèdent des activités pharmacologiques, et sont utilisés comme agents curatifs pour certains symptômes et maladies. Les traitements à base des plantes médicinales sont souvent plus accessibles et moins chers que les médicaments synthétiques, ce qui les rend plus désirables pour les patients (**Heinrich et al., 2012**). Au cours des dernières années, plusieurs études ont mis en évidence l'efficacité potentielle des espèces de *Rhamnus* dans de nombreux domaines, une espèce naturellement disponible (**Nekkaa et al., 2021**). *Rhamnus alaternus* est une plante méditerranéenne du nord de l'Algérie appelée aussi « imliles » dans la région de la Kabylie, ses différentes parties sont utilisées traditionnellement dans le traitement de plusieurs pathologies telle que l'anémie, les hémostatiques et les laxatifs ...etc (**Nekkaa et al., 2021**). Certaines études expérimentales ont démontré que les extraits d'écorce de *Rhamnus alaternus* sont riches en composés bioactifs tels que les polyphénols et possèdent de différentes activités biologiques et (**Boussahel et al., 2015**).

Notre étude est menée dans l'optique de valoriser l'écorce de *Rhamnus alaternus* à travers l'évaluation de ses effets anti-inflammatoires et cicatrisants chez les souris de laboratoire « NMRI ». Cette étude est répartie en trois chapitres, dont le premier présente un aperçu général sur les activités biologiques étudiées à savoir l'inflammation et la cicatrisation, ainsi que la matrice végétale qui le *Rhamnus alaternus* particulièrement ses écorces. Le deuxième chapitre est consacré à l'approche méthodologique suivie, et le dernier chapitre est consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus. Ce travail s'achève par une conclusion générale et quelques perspectives.

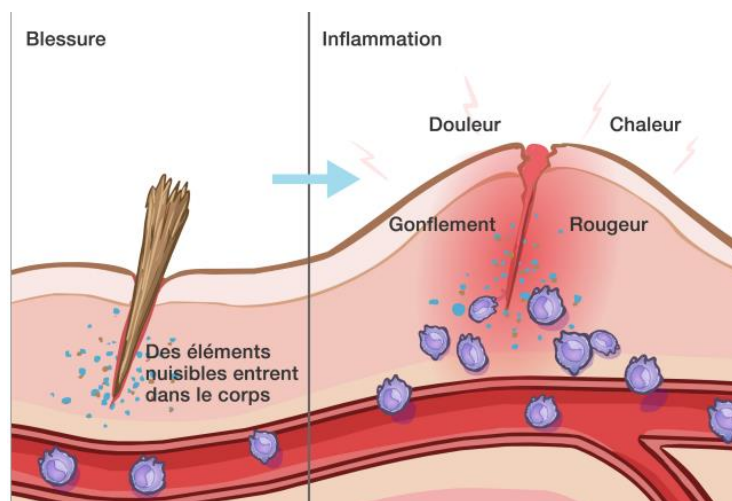
# *Chapitre I*

## **Synthèse bibliographique**

## I. L'inflammation

### I.1. Définition

L'inflammation est une réponse immunitaire de l'organisme à différentes agressions qui peuvent être d'origine biologique ; chimique ; physique ou infectieuse. Le processus inflammatoire est marqué par cinq signes principaux (Figure 01) : rougeur (attribuée à l'hyperémie) ; gonflement (dû à l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins et fuite de protéines dans l'espace interstitiel) ; chaleur (liée à une augmentation du flux sanguin provoquée par l'activité métabolique des médiateurs de l'inflammation cellulaire) ; douleur (attribuée à des modifications du système vasculaire et des terminaisons nerveuses), et dysfonctionnement des organes concernés (**Reticulata et al., 2006**).



**Figure 01** : Les signes de l'inflammation (**L' Inflammation et Le Système Immunitaire, 2013**).

### I.2. Les types et les phases du processus inflammatoire

Il existe deux types d'inflammation : inflammation aiguë qui dure quelques jours ; c'est une réponse immunitaire complexe qui implique plusieurs phases et inflammation chronique qui dure plus longtemps et peut causer une décomposition physiologique, un dysfonctionnement des organes et même la mort (**Calhelha et al., 2023**). Le processus inflammatoire comprend la phase vasculaire, la phase cellulaire et la phase de réparation.

- **La phase vasculaire** : Elle se produit immédiatement après une blessure ou une infection. Les vaisseaux sanguins se dilatent, deviennent plus perméables, ce qui permet aux cellules

immunitaires, aux protéines et aux liquides de quitter les vaisseaux sanguins et de pénétrer dans les tissus affectés. Cette phase se caractérise par une augmentation du flux sanguin, de la perméabilité vasculaire et de l'adhésion des leucocytes aux parois des vaisseaux sanguins (Medzhitov, 2008).

- **La phase cellulaire** : Elle est marquée par l'arrivée des polynucléaires neutrophiles dans la zone inflammatoire. Ces cellules traversent les parois des vaisseaux sanguins et migrent vers le site de l'inflammation, où elles phagocytent les micro-organismes et les débris. Les neutrophiles libèrent des enzymes et les médiateurs chimiques de l'inflammation amplifient la réaction inflammatoire. Cette phase contribue à la défense de l'organisme contre les agents infectieux (Danowski., 1991).

- **La phase de réparation** : Elle joue un rôle crucial dans la restauration de l'équilibre tissulaire. Elle combine la résolution active de l'inflammation, la réparation des tissus endommagés et le rétablissement de l'équilibre immunitaire. Cette phase coordonnée assure la guérison complète des tissus touchés, prévient les complications et favorise une santé à long terme (Serhan et al ., 2005).

Afin de prévenir la progression de la phase aigüe de l'inflammation vers une phase chronique, on fait référence à la thérapeutique anti-inflammatoire qui vise à réguler la réponse excessive et non spécifique des tissus (Muster.,2005).

### I.3. Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui servent à combattre l'inflammation, Ce sont des traitements symptomatiques, qui n'éliminent pas la cause de l'inflammation, mais seulement ses conséquences. Il existe deux classes d'anti-inflammatoires : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti-inflammatoires stéroïdiens (les corticoïdes)(Dirou et al., 2015). Ces deux classes agissent de différentes manières (Figure 02). De plus, il existe des anti-inflammatoires d'origine végétale.

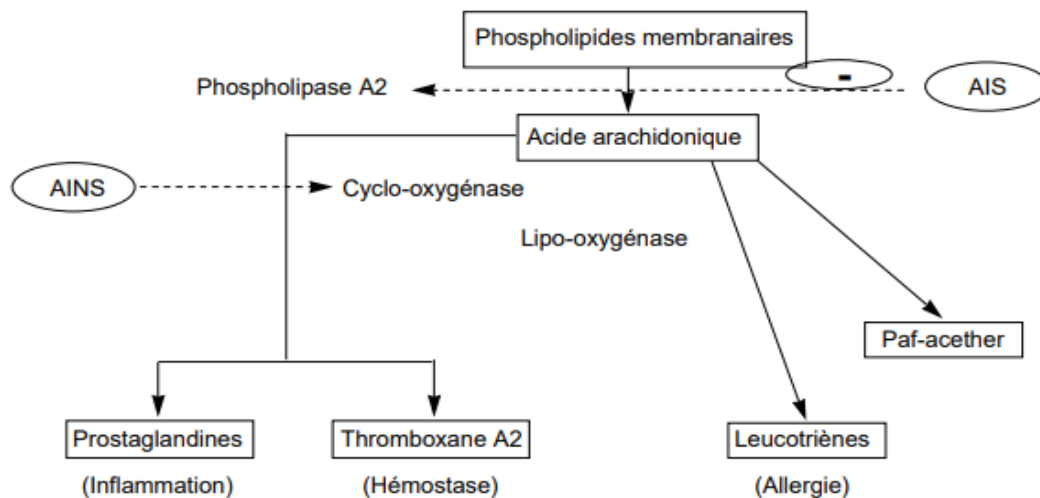
#### I.3.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (corticoïdes)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) font partie d'une grande famille de médicaments dérivés du cortisol, principalement les glucocorticoïdes surrénaliens. Les glucocorticoïdes de synthèse permettent d'avoir une meilleure activité anti-inflammatoire. Ils sont utilisés depuis plusieurs d'années dans la prise en charge de nombreuses maladies

inflammatoires (Faure, 2009) (Annexes 1).

### I.3.2. Les anti-inflammatoire non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont des médicaments les plus anciens et les plus efficaces de la médecine moderne. Ils sont connus comme des traitements symptomatiques de la fièvre, des douleurs et l'inflammation en inhibant la synthèse des prostaglandines (Bannwarth, 2005; Vonkeman et al., 2010) (Annexes 2).



**Figure02** : Mode d'action des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens (Souaga et al., 1998).

### I.3.3. Les anti-inflammatoires naturels

La phytothérapie est une pratique très ancienne signifiant l'utilisation des plantes pour prévenir ou traiter des maladies. Les fleurs, les feuilles, les racines ou des plantes entières peuvent être utilisés comme traitement de différentes pathologies inflammatoires (Létard et al., 2015) ; le tableau ci-dessous comprend quelques plantes à propriétés anti-inflammatoires.



**Tableau I:** Quelques plantes à activités anti-inflammatoires.

Plante	Famille	Partie	Références
<i>Curcuma longa</i>	<i>Zingiberaceae</i>	Rhizomes	(Akram et al., 2010)
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	<i>Fabaceae</i>	Feuilles	(Leite et al., 2022; Siracusa et al., 2011)
<i>Fraxinus excelsior</i>	<i>Oleaceae</i>	Feuilles	(Koltun-Jasion et al., 2023)
<i>Ribes nigrum L</i>	<i>Grossulariacées</i>	Feuilles	(Magnavacca et al., 2021)
<i>Filipendula ulmaria</i> (L.)	<i>Rosaceae</i>	Racines et parties aériennes	(Halkes et al., 1997; Katanić et al., 2016)
<i>Salix spp</i>	<i>Salicaceae</i>	Ecorce	(Antoniadou et al., 2021)
<i>Pterocarpus</i> <i>erinaceus Poir</i>	<i>Fabaceae</i>	Feuilles, écorce, racine	(Ouédraogo et al., 2012)

## II. La cicatrisation des plaies

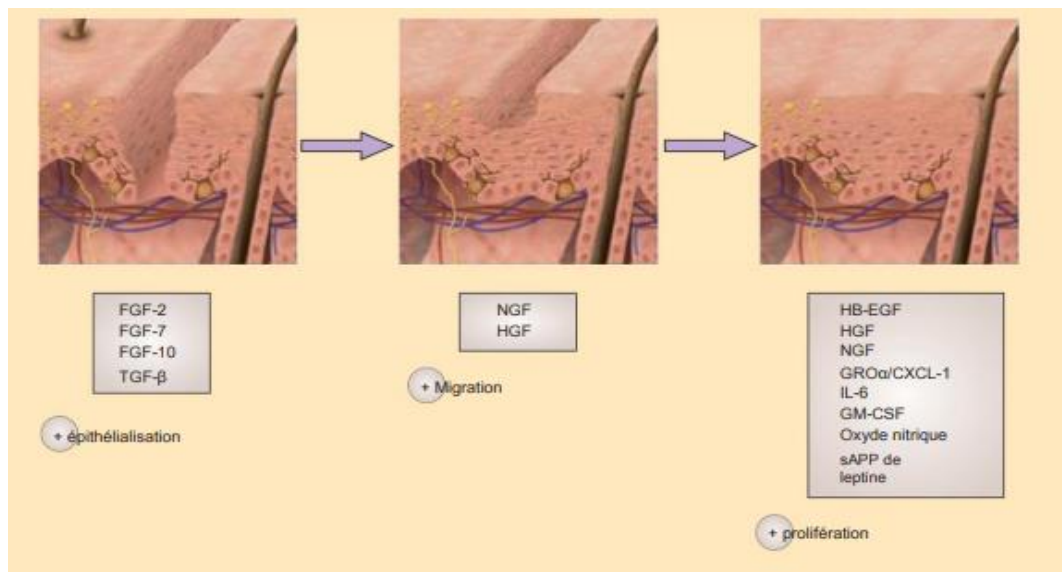
### II.1. Définition

La cicatrisation est un processus complexe visant à restaurer l'intégrité de la peau suite à une blessure, une plaie, une brûlure ou une intervention chirurgicale (Amici et al., 2016a). C'est une réaction qui se déroule en plusieurs étapes successives impliquant de multiples facteurs tels que des cellules épidermiques dermiques (kératinocytes, macrophages, lymphocytes), des molécules de la matrice extracellulaire (glycoprotéoglycannes, fibronectine), et des médiateurs solubles (facteurs de croissance, interleukines...) (Amici & Chaussade, 2016b; Gall, 2010; Venereol, 2005).

## II.2. Les phases de cicatrisation

Le processus de cicatrisation s'effectue en trois phases (**Moulin et al. , 2001**) à savoir la phase inflammatoire et vasculaire , phase de réparation tissulaire , phase de remodelage et de maturation (Figure 02).

- **La phase inflammatoire et vasculaire** : qui dure de 0 à 3 jours, commence par une réaction vasculaire suivie de l'extravasation des éléments sanguins, entraînant un œdème et une adhésion plaquettaire. Cela conduit à la formation d'une croûte temporaire qui protège la plaie. L'activation plaquettaire déclenche également une réaction inflammatoire avec l'arrivée de polynucléaires, de macrophages et de lymphocytes T. Ces cellules stimulent les fibroblastes, favorisant ainsi la réparation tissulaire (**Amici et al.,2016b ; Senet et al., 2000**).
- **La phase de réparation tissulaire** : également appelée bourgeonnement, se produit de 3 à 12 jours. Pendant cette phase, les fibroblastes migrent et créent une matrice extracellulaire. Les macrophages stimulent la formation d'un tissu de granulation en produisant des cytokines et en favorisant la néo-angiogenèse. Ensuite, les cellules épidermiques prolifèrent, les kératinocytes se lient et migrent, et la jonction dermo-épidermique est reconstruite (**Amici et al.,2016b ; Senet et al., 2000**).
- **La phase de remodelage et de maturation** :se situe entre 12 jours et 10 semaines. Pendant cette période, il y a un remodelage de la matrice extracellulaire. Ce processus peut se prolonger jusqu'à 2 ans après la fermeture de la plaie. Le tissu de granulation diminue et se transforme en un tissu riche en collagène, mais désorganisé et pauvre en élastine, ce qui le rend moins résistant et moins élastique. De plus, il y a une diminution des vaisseaux sanguins. Si ce processus se prolonge, les fibroblastes se transforment en myofibroblastes contractiles, ce qui entraîne la rétraction de la plaie et la formation d'une cicatrice avec du relief. Ce mécanisme prend plusieurs mois, parfois jusqu'à 6 mois (**Amici et al.,2016b ; Senet et al., 2000**).



**Figure 03 :** Les étapes de la Cicatrisation cutanée (Abreviaturas et al., 2006).

### II.3. Les types de cicatrisation pathologique

#### II.3.1. La cicatrice mature

Après environ deux à trois semaines, une plaie guérit généralement et une cicatrice commence à se former (figure 04-A). À long terme, une cicatrice mature, comme une cicatrice linéaire après une incision chirurgicale, devient plate et sa couleur s'adapte à celle de la peau environnante. Ce processus peut prendre de six mois à plusieurs années. Les cicatrices de brûlures, comme celles résultant d'une greffe de peau ou de brûlures au deuxième degré profond, se transforment en cicatrices plates et non congestionnées. Cependant, si une greffe cutanée a été préalablement agrandie, des irrégularités de surface peuvent apparaître, donnant l'apparence d'une peau de crocodile, ce qui peut affecter négativement l'aspect esthétique, en particulier sur les zones visibles. Une cicatrice est considérée comme mature lorsqu'elle ne présente plus de signes de congestion (Téot, 2018).

#### II.3.2. La cicatrice immature

Une cicatrice immature se caractérise par une couleur rouge, des démangeaisons et parfois une légère douleur (figure 04-B). Elle peut être légèrement surélevée pendant la phase de remodelage, mais cela est temporaire. La plupart de ces cicatrices finissent par mûrir au fil du temps, devenant plates et adoptant une pigmentation similaire à celle de la peau environnante, bien qu'elles puissent être légèrement plus claires ou plus foncées. La mécano-

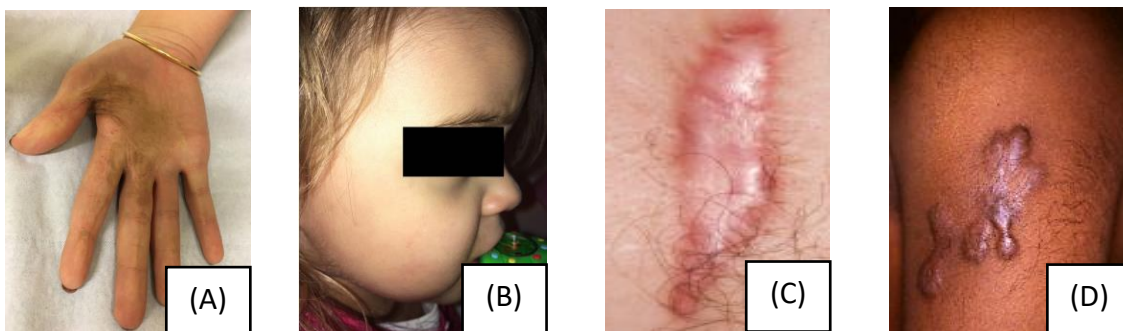
stimulation joue un rôle important dans la cicatrisation anormale, donc il est recommandé de prévenir la tension sur les bords de la plaie après une intervention chirurgicale. Cela peut provoquer une production temporaire supplémentaire de collagène dans la cicatrice. Généralement, la rougeur locale disparaît dans un délai de six mois à deux ans (Téot, 2018).

### II.3.3. La cicatrice hypertrophique

Les cicatrices hypertrophiques se caractérisent par une prolifération excessive, mais elles ne dépassent pas les limites de la plaie initiale (figure 04-C). La cicatrice se forme généralement rapidement, avec les premiers signes apparaissant à la fin du premier mois, tels que rougeur, surélévation et démangeaisons, quelques semaines après la fermeture de la plaie. Elle continue de se développer pendant les six à huit mois suivants, après quoi elle cesse généralement de progresser et devient stable en termes de volume et de couleur. Le processus complet de maturation peut prendre jusqu'à deux ans (Téot, 2018).

### II.3.4. La cicatrice chéloïde

Les chéloïdes se distinguent par une prolifération pseudo-tumorale qui s'étend au-delà des limites de la plaie initiale (figure 04-A). Contrairement aux autres cicatrices, les chéloïdes peuvent continuer à croître progressivement sans signe de stabilisation. Ils peuvent apparaître immédiatement après la fermeture complète de la plaie ou se développer plusieurs mois voire plus d'un an après (Téot, 2018).



**Figure 04** : Les types de cicatrisation pathologique. (A) Cicatrice mature (Téot, 2018), (B) cicatrice immature (Téot, 2018), (C) cicatrice hypertrophique (Roques, 2017), (D) cicatrice chéloïdes (Clinical, 2015).

### III. *Rhamnus alaternus* L

#### III.1. Description botanique et noms vernaculaire

*Rhamnus alaternus*, fait partie de la famille des *Rhamnacées* (Kherbachi et al., 2022), il existe plusieurs espèces du rhamnus dont deux (*Rhamnus frangula* L. et *Rhamnus cathartica* L.) (Berka et al., 2008). C'est un arbuste généralement de petite taille 5 à 6 m de haut. Cette espèce est répandue dans les régions rocheuses et calcaires du bassin méditerranéen. Elle a des feuilles luisantes, alternes, lisses, pétiolées et ovales ou lancéolées (Benchiha et al., 2015). La fleur du nerprun est jaune ou verdâtre est suivie d'un fruit sphérique de 3–6 mm, ses baies sont d'abord de couleur verte ; puis rouges, et deviennent noires à maturité (Berka et al., 2015).



**Figure05** : photographie de *Rhamnus alaternus* en mois de février.

*Rhamnus alaternus* porte plusieurs appellations tout dépend de la région, le tableau ci-dessus représentent les noms de *R. alaternus* en différentes langues.

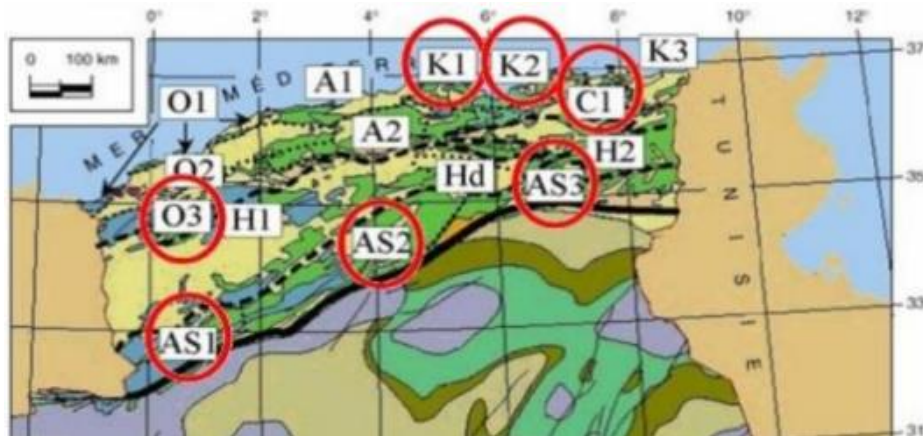
**Tableau II:** les noms vernaculaires de *Rhamnus alaternus*

Langue	Nom vernaculaire	Références
Arabe	Amlilece, mlila, Soitfair, oud el khir ou safir	(Nekkaa et al., 2021)
Kabyle	Meliles	(Miara et al., 2013)
Anglais	Buckthorn	(Nekkaa et al., 2021)
Français	Nerprun	(Miara et al., 2013)
Allemand	Kreülzdorn	(Nekkaa et al., 2021)
Espagnol	Aladierna, CoscoUnia, Sanguino d'Andalucia	(Nekkaa et al., 2021)
Italien	Alaterno, Legno Puzzo	(Nekkaa et al., 2021)

### III.2. Distribution et classification

Le nerprun est réparti dans toute la région méditerranéenne, y compris le nord de l'Algérie, la Tunisie et le Maroc. La plante pousse abondamment dans les climats méditerranéens avec des étés chauds et secs et des hivers doux à froids (Nekkaa et al., 2021).





**Figure06 :** Répartition de l'espèce *Rhamnus alaternus* en Algérie (Quézel et Santa,1963).  
 K1 :la grande Kabylie ; K2 :la petite Kabylie ; C1 : tell Constantinois ; AS1 : l'atlas Saharien Oranais ; AS2 : l'atlas Saharien Algérois ; AS3 : l'atlas Saharien Constantinois ; O3 : l'atlas tellien Oranais.

**Tableau III:** Classification taxonomique de *Rhamnus alaternus* (Nekkaa et al., 2021).

<b>Règne</b>	Plante
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Rhamnales
<b>Famille</b>	Rhamnaceae
<b>Genre</b>	Rhamnus
<b>Espèce</b>	<i>Rhamnus alaternus</i>

### III.3. Composition phytochimiques des écorces de *Rhamnus alaternus*

De point de vue phytochimique, l'écorce de *R. alaternus* se caractérise par sa richesse en , anthraquinones, tanins, stéroïde, flavonoïdes et les polyphénols (Tableau IV).

**Tableau IV :** composition phytochimique des écorces et les différents extraits utilisés.

Les composés phytochimiques	Extrait	Références
Anthraquinones	Extrait méthanolique	(Kosalec et al., 2013; Nigussie et al., 2021).
Tanins	Extrait éthanoïque	(Biologie et al., 2020; Kherbachi et al., 2022).
Stéroïde		(Nigussie et al., 2021)
Flavones et Flavonols	extrait éthanoïque	(Kherbachi et al., 2022)
Polyphénols	extrait éthanoïque	(Kherbachi et al., 2022)
Flavonoïdes	Extrait éthanolique Extrait acétatique ; chloroformique, hexanique, méthanolique, et extrait aqueux	(Benchiha & Bouterfas, 2015; Kherbachi et al., 2022; Kosalec et al., 2013).

#### III.4. Usage traditionnel et activités biologiques des écorces

En Algérie, les écorces de *Rhamnus alaternus* sont utilisées pour traiter la jaunisse et en Italie pour traiter les hémostatiques, les plaies, utilisé aussi pour les laxatifs (Nigussie et al., 2021). Ces écorces sont utilisées en infusion pour soigner l'anémie dans la région algérienne de Kabylie (Kherbachi et al., 2022). Elles sont utilisées aussi à l'époque ibéro-romaine pour teindre la laine en brun (Saitabi et al., 2012).

Les écorces de *R.alaternus* possèdent des effets antioxydants, antibactériens, antifongiques, et anti hémolytiques (Benchiha et al., 2015; Boussahel et al., 2015; Kherbachi et al., 2022). Ces écorces exercent aussi une activité cytotoxique sur une lignée de cellules cancéreuses leucémiques (U937) et des cellules mononucléaires du sang (Benchiha et al., 2015; Boussahel et al., 2015; Kherbachi et al., 2022).



## *Chapitre II*

# **Matériel et méthodes**

## II. Préparation de la matrice végétale

### II.1. Récolte

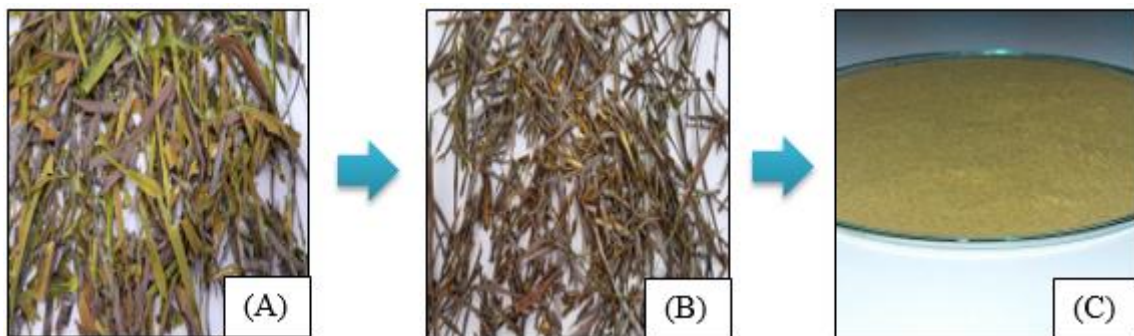
Cette étude a été réalisée sur l'écorce de *Rhamnus alaternus*, récolté au niveau du Parc National de Gouraya ; dans la wilaya de Bejaia durant le mois de février 2023.

### II.2. Préparation de la poudre

Les écorces fraîches de *Rhamnus alaternus* (figure 07-A) ont été nettoyées et séchées à l'air libre. Les écorces séchées (figure 07-B) sont ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue a été tamisée avec un tamis de diamètre 250 ouverture 0.063mm afin d'avoir une poudre homogène (Figure 07-C).

L'indice d'humidité est déterminé durant la phase de séchage selon la formule suivante :

$$\text{Indice d'humidité \%} = (\text{Masse des écorces sèches}) / (\text{Masse des écorces fraîches}) * 100$$



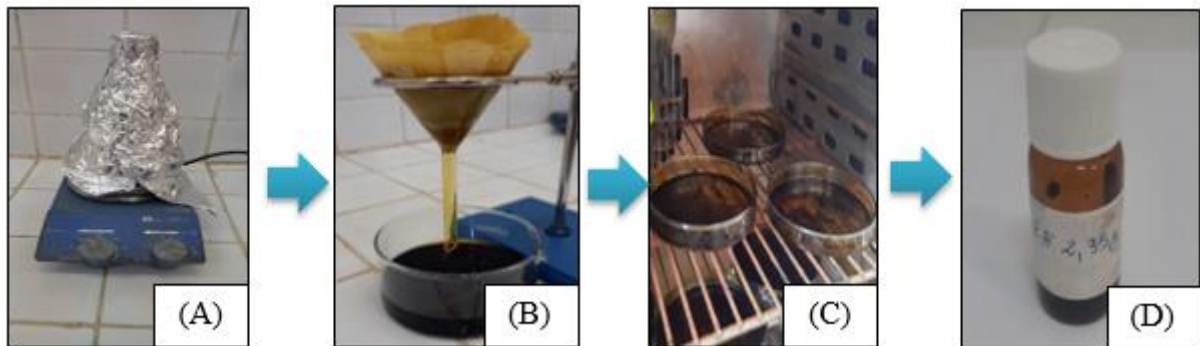
**Figure 07 :** Photographie des étapes de préparation de la poudre de l'écorce *Rhamnus alaternus* ; (A) Écorce fraîche, (B) écorce sèche, (C) poudre.

## II. Préparation de l'extrait

L'extraction des métabolites secondaires de *Rhamnus alaternus* a été effectuée par macération hydro-alcoolique (figure 08). Pour cela 50g de poudre de l'écorce a été macérés dans 500 ml de méthanol (80%). Le mélange a été maintenu sur un agitateur pendant 24 heures à une température ambiante (Figure 08-A). Le macérât des écorces est par la suite a été filtré à travers du papier Whatman (Figure 08-B). Le filtrat obtenu a été enfin évaporé à une température de 40°C (Figure 08-C), et conservé dans un flacon opaque à 4°C (Figure 08-D).

Le rendement d'extraction (RE) est calculé en utilisant le poids de l'extrait sec :

$$\text{RE \%} = (\text{Masse d'extrait sec}) / (\text{Masse de la matière végétale}) * 100$$



**Figure 08** : Photographie des étapes d'extraction par macération. (A) Agitation, (B) Filtration, (C) Evaporation, (D) Extrait sec.

### III. Tri-phytochimique

Dans le but de caractériser les différents groupes chimiques contenus dans EMERA, des tests phytochimiques ont été réalisés. Ce sont des réactions physico-chimiques qui identifient la présence de produits chimiques ; elles sont réalisées à partir de précipitations ou de couleurs caractéristiques pour mettre en évidence des groupements chimiques pouvant être présents dans la plante (Daoudi et al., 2016).

#### III.1. Détection des polyphénols

La réaction au chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) a permis de caractériser les polyphénols. Une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% a été ajoutée à 2 ml de l'extrait. L'apparition d'une coloration verte plus ou moins foncée ou bleu-noirâtre indique la présence de polyphénols (Uessan et al., 2009).

#### III.2. Détection des tanins

La réaction au chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) a permis de mettre en évidence les tanins. 500ul de  $\text{FeCl}_3$  à 1% a été ajouté à 1ml de l'extrait. L'apparition d'une couleur vire au bleu noir indique la présence de tanins galliques et brun verdâtre la présence de tanins catéchiques (Dohou et al., 2003).

#### III.3. Détection des terpénoïdes

La réaction à l'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) a permis de caractériser les terpénoïdes. 2 ml de

chloroforme. 3ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré a été ajouté soigneusement a 0,5g de l'extrait pour former une couche. L'apparition d'une coloration brune rougeâtre a l'interface indique la présence de terpénoïdes (Ayoola et al., 2008).

#### **III.4. Détection des alcaloïdes**

Afin de détecter les alcaloïdes, 3ml de l'extrait a été mélangé avec 5ml d'acide chlorhydrique (HCl) à 1%, après incubation dans un bain marie chaud quelques gouttes de réactif de Dragendorff ont été rajoutées, l'apparition d'un précipité brun orangé indique la présence des alcaloïdes (Length, 2014).

#### **III.5. Détection des saponines**

L'extrait a été repris dans 5ml de l'eau distillé, et après une agitation, une mousse de 1cm d'hauteur stable a été formée. La persistance de cette mousse après 1heure indique la présence des saponines (Ékro et al., 2007).

#### **III.6. Détection des stérols et triterpènes**

Un mélange de 5ml de solution chloroformique ,5ml d'anhydre acétique et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré ont été ajouté à 5ml de l'extrait avec une agitation. Après un temps de repos l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert révèle la présence des stérols et des triterpènes (Length, 2014).

#### **III.7. Détection des mucilages**

La recherche des mucilages est effectuée par l'ajout de 5 ml d'alcool absolu à 1ml de l'extrait. Après agitation, l'obtention d'un précipité floconneux indique une réaction positive (El-haoud, 2018).

#### **III.8. Détection des dérivés anthracéniques libres**

Dans cette réaction, 1 ml de NH<sub>4</sub>OH dilué a été ajouté à 1ml d'extrait chloroformique. Après agitation, une coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres (El-haoud, 2018).

### **IV. Dosage des composés phénoliques**

#### **IV.1. Polyphénols totaux**

Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de folin-ciocolteu de couleur jaune qui est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide

phosphomolybdique (H3PMo12O40). Il réactif sera réduit lors de l'oxydation des phénols, en donnant un mélange d'oxydes de tungstène et de molybdène de couleur bleu. La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux **(Boizot et al ., 2006)**.

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode décrite par **(Singleton et al., 1999)** avec quelque modification. Un volume de 625 µL du réactif de folin-ciocalteu dilué, a été ajouté à 125 µL d'extrait méthanolique et le tout est bien mélangé. Après 1min d'incubation, un volume de 500 µL d'une solution de monohydrate carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (6%) a été ajouté. La préparation a été homogénéisée et laissée incuber pendant 90min à l'obscurité, puis l'absorbance a été lue à 720 nm. Une courbe d'étalonnage ( $y=0.0937x - 0.0137$ ) a été préparée à partir de différentes concentrations d'acide gallique, en passant par les mêmes étapes du test. Les résultats sont exprimés en mg EAG/g d'extrait.

#### **IV.2. Flavonoïdes**

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la méthode colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub> qui forme des complexes acides stables avec le groupe cétonique C4 et avec le groupe d'hydroxyle de carbone C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. Aussi que, le chlorure d'aluminium forme des complexes acides labiles avec les groupes orthodihydroxyl dans le cycle A ou B de flavonoïdes **(Chang et al., 2002)**.

La méthode décrite par **(Quettier et al ., 2000)** a été utilisée avec de légères modifications. Un volume de 500ul de chlorure d'aluminium à 2 % a été ajouté à 500ul d'extrait méthanolique d'écorce de RA, après 15 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 443nm. Une courbe d'étalonnage ( $y=0.0429x-0.0063$ ) est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions en utilisant la quercétine comme standard. Les résultats sont exprimés en mg EQ/g d'extrait.

#### **IV.3. Tanins condensés**

La méthode à la vanilline avec l'HCl dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des proanthocyanidines et la formation de la couleur rouge, cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline dont l'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux de flavanols présents dans le milieu **(Liang, 2006)**.

Les tanins condensés de l'EMRA ont été déterminés selon le protocole de **(Price et al., 1978)** avec quelque modification. 250ul d'extrait a été additionné à 625ul d vanilline 4%, après homogénéisation 625 uL de HCl à 8 % ont été ajoutés au mélange. Le mélange réactionnel a été incubé pendant 15 minutes dans un bain marie à une température de 50°C et l'absorbance a été enregistrée à 500 nm. Une courbe d'étalonnage ( $y= 0.0065x + 0.0757$ ) est préparée en utilisant la catéchine comme standard. Les résultats sont exprimés en mg EC/ g d'extrait.

## V. Etude des activités biologiques *in vivo*

### V.1. Animaux utilisés

Les souris mâles d'une souche NMRI de poids variant entre 25g et 29 g ont été utilisées. L'expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire d'expérimentation *in vivo* au niveau de l'animalerie de Laboratoire de Biotechnologie Végétales et Ethnobotanique de de l'université de Bejaia. Les souris ont été procurés auprès de l'Institut Pasteur d'Alger et ont été mises dans des conditions d'élevage standard (éclairage et d'obscurité de 12/12h, température ambiante) pendant une semaine afin de s'adapter au milieu expérimental. Elles ont été logées dans des cages qui sont nettoyées chaque 2 jours avec un contrôle régulier de la nourriture et de l'eau.

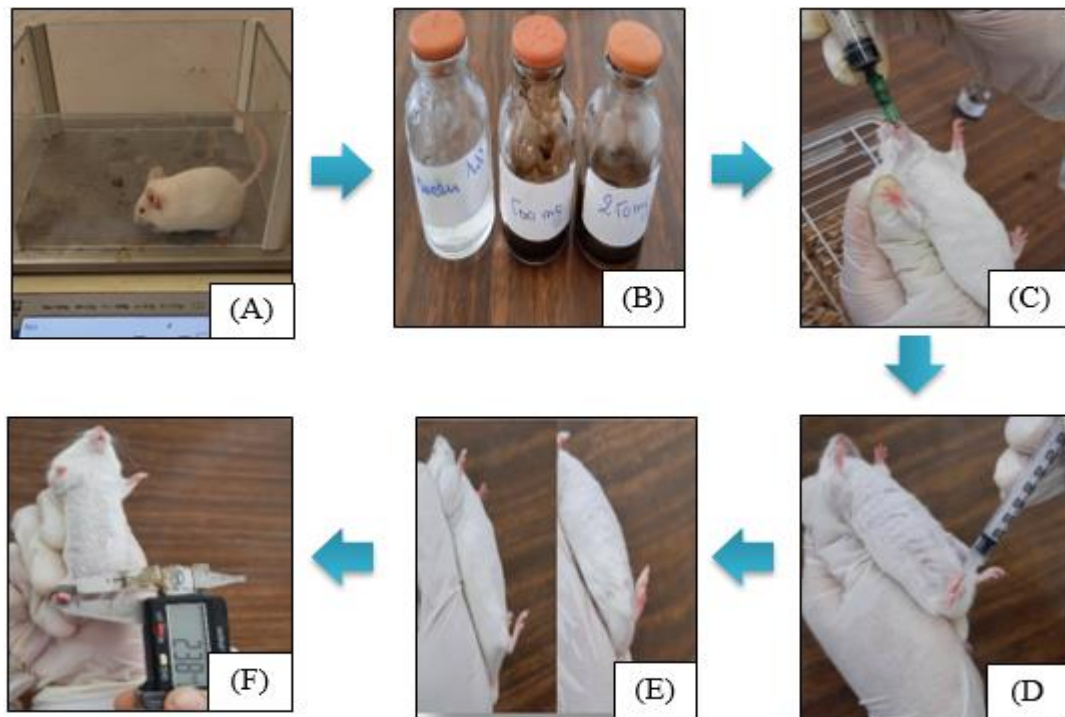
### V.2. Etude de l'activité anti inflammatoire

L'inflammation a été induite chez la souris selon la méthode de **Winter et al (1962)** (figure 09). Les souris ont été divisées en 4 lots de 5 souris chacun, et ont été mises à jeun pendant 16 heures avant l'expérience. Le volume initial ( $V_0$ ) de la patte arrière droite de chaque souris a été mesuré. Ensuite, les souris ont été gavées avec du tween (lot témoin), EMRA (250 ; 500mg/kg), et le médicament diclofénac du sodium à 50mg (lot référence). Une heure après le gavage, 30  $\mu$ L de solution de carragénine à 1 % ont été injectés sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite de chaque souris. L'évolution de l'œdème de la patte arrière droite a été déterminée à t 0min, t 1h, t 2 h, t 3h, t4 h et t 5h (**Reticulata et al., 2006**). L'activité anti inflammatoire a été exprimée en pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris.

$$\text{Réduction de l'œdème (\%)} = \frac{(C_t - C_0)_{\text{témoin}} - (C_t - C_0)_{\text{traité}}}{(C_t - C_0)_{\text{témoin}}} * 100$$

$C_t$  : augmentation du contour de la patte à temps x

$C_0$  : contour initial de la patte.



**Figure 09 :** Protocole d'étude expérimentale de l'inflammation. (A) pesée des souris, (B) extraits (250 et 500mg/kg) + diclofenac sodium (50mg/kg), (C) gavage, (D) induction de l'inflammation par la carragénine, (E) contour de la patte avant et après l'inflammation, (F) prise de contour de la patte à l'aide d'un pied à coulisse.

### V.3. Etude de l'activité cicatrisante

L'activité cicatrisante a été étudiée chez des souris dont le poids corporel est compris entre 25 g et 29 g (figure 10). Elles ont été réparties en 4 lots de 5 souris chacun. Les souris ont été anesthésiées par inhalation avec l'éther diéthylique puis la surface dorsale de chaque souris a été rasée, ensuite une plaie circulaire de 6 mm a été réalisée à l'aide d'un punch biopsie. Les plaies induites ont été désinfectées avec l'alcool à 70%.

Après la création des plaies, les souris ont été traitées par une application cutanée de différents traitements ; le lot témoin (négatif) a été traité le tween à 1% ; lot de référence a été traité par cicatryl bio ; et les lots 3 et 4 ont été traités avec l'EMERA à des doses de 250 et 500 mg /kg respectivement.

Afin d'évaluer l'activité cicatrisante de l'extrait, les différentes étapes de la cicatrisation ont été observées dans chaque lot depuis la création des plaies jusqu'à ce qu'elle se cicatrise complètement.



### a. Observation macroscopique

En observant les signes de l'inflammation (rougeur, gonflement, œdème) et la fermeture de la surface des plaies qui se caractérise par l'apparition des tissus fins et transparents de couleur claire (Effet et al., 2020).

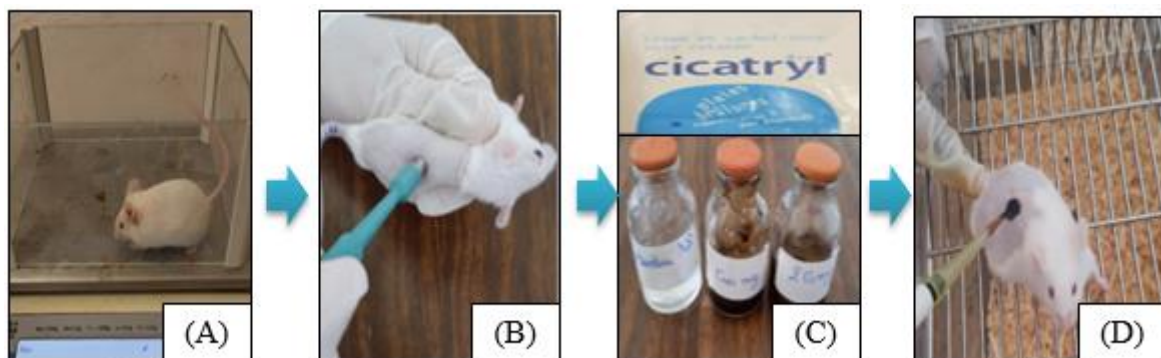
### b. Détermination de la surface de la plaie

Des mesures des surfaces ont été effectuées, en prenant des photos des surfaces des plaies chaque 3 jours. Le pourcentage de contraction de la plaies a été calculé comme suit (Stephanie et al., 2021).

$$\text{Contraction de la plaie (\%)} = \frac{(St - S0)_{\text{témoin}} - (St - S0)_{\text{traité}}}{(St - S0)_{\text{témoin}}} * 100$$

St : surface de plaie de souris traité.

S0 : surface initiale de la plaie.



**Figure 10** : Protocole d'étude expérimentale de la cicatrisation. (A) pesée des souris, (B) induction de la plaie (C) les traitements utilisés (D) application cutanée.

## VI. Analyse statistique

Les expériences ont été réalisées en triplicata pour les tests *in vitro* et les résultats ont été exprimés comme moyenne  $\pm$  SD. Les résultats de l'étude *in vivo* ont été exprimé en moyenne  $\pm$  SEM. L'analyse statistique a été effectuée en utilisant le logiciel GraphPad Prism 6. Les résultats ont été comparés entre les différents groupes par le test t de Student, analyse de la variance (ANOVA), suivi par le test post-hoc de Tukey. Le degré de signification statistique des données a été pris à la probabilité de \* $p < 0,05$  (différence significative), \*\* $p < 0,01$  (différence hautement significative), \*\*\* $p < 0,001$  (différence très hautement significative).



## *Chapitre III*

# **Résultats et discussion**

## I. Taux d'humidité et rendement d'extraction

Après avoir pesé 5g d'échantillon plusieurs jours jusqu'à l'élimination totale de l'eau et obtention d'un poids stable qui est de 2,44 g. Le taux d'humidité dans les écorces de *RA* est donc de 48,8 %. Une macération a été réalisée sur la poudre des écorces de *Rhamnus alaternus* avec du méthanol, après extraction et évaporation du solvant d'extraction, on a obtenu un extrait sec ayant un poids de 8,15 g qui correspond à un rendement de 16,3% (Tableau V).

**Tableau V** : Taux d'humidité et rendement d'extraction en pourcentage.

Paramètres	Taux
Taux d'humidité	48,8 %
Rendements d'extraction	16,3 %

Les résultats des rendements d'extractions méthanoliques de l'espèce *Rhamnus alaternus* de plusieurs études s'avèrent parfois supérieurs ou inférieurs aux nôtres. C'est le cas de l'étude réalisée par (Boussahel et al.,2015), où il a été démontré que l'extrait méthanolique provenant de l'écorce de *R. alaternus* présentait un rendement de 6,8%. L'étude travaux menée par (kherbachi et al .,2022) sur l'écorce de la même espèce originaire d'Amizour a révélé un rendement de 18,2% pour l'extrait éthanolique. Ces résultats sont légèrement supérieurs par rapport aux nôtres.

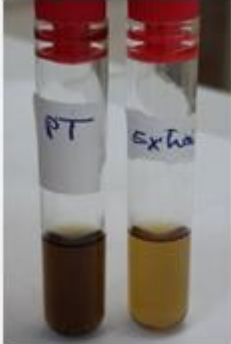


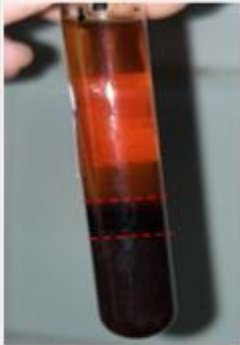



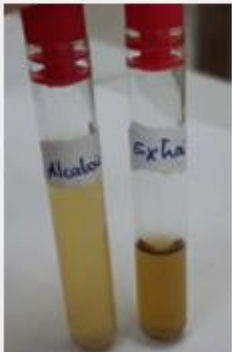
D'après(Hayouni et al., 2007) on constate que plusieurs paramètres peuvent potentiellement influencer le taux d'extraction des composés, tels que la période de récolte de la plante, le processus de séchage, le volume et le type de solvant utilisé. Diamètre des particules de l'échantillon, la durée de macération

## II. Tri-phytochimique

Les tests phytochimiques sont utilisés pour caractériser qualitativement les différentes familles de métabolites secondaires présentes dans l'extrait méthanolique des écorces de *Rhamnus alaternus* (Daira et al., 2016).

Les résultats de ce criblage phytochimiques sont reportés dans le Tableau VI. Ils révèlent la présence ou l'absence d'un groupe de métabolites secondaires.

**Tableau VI** : Résultats des tests phytochimiques de l'écorce de *Rhamnus alaternus*

Classe chimique	Polyphénol totaux	Les dérivés anthracéniques libres	Tanins	Terpenoides
Révélation	 +++	 +++	 +++	 +++
Classe chimique	stérols et triterpenoides	Saponines	Mucilages	Alcaloïdes
Révélation	 ++	 -	 -	 -

+++ fortement positif ; ++ Positif ; - Négative.

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus nous avons constaté que l'extrait méthanolique de l'écorce de *Rhamnus alaternus* est fortement riche en tanins ; flavonoïdes, polyphénols, les terpénoïdes et les dérivés anthracéniques libres. Les stérols et les triterpenoides sont également présents, mais très modérément.

Les résultats de l'étude phytochimique préliminaire sur l'écorce de *Rhamnus alaternus* sont en accord avec les de travaux de (Ouhiba et al., 2000) révélant la présence de certaines familles chimiques à savoir les polyphénols totaux, les dérivés anthracéniques libres, les tanins, les terpenoides, les stérols et les triterpenoides. Cependant, nous avons constaté l'absence d'autres familles chimiques tels que saponines, mucilages et alcaloïdes. Cela peut s'expliquer

par divers paramètres tels que les différences géographiques, physicochimiques et biologiques. Ces facteurs incluent le lieu de récolte, y compris l'environnement de la plante, la luminosité, les précipitations, la topographie, la saison, le type de sol, la période de récolte, le patrimoine génétique, la méthode d'extraction utilisée, la partie spécifique de la plante étudiée, ainsi que les phytochimiques analysés ( **El-haoud, 2018**).

### III. Teneur en composés phénoliques

**Tableau VII** : Teneur en composés phénoliques de l'EMERA.

Composés phénoliques	Quantités
Polyphénols totaux	50,69±3,23mg EAG/g d'extrait
Flavonoïdes	107,52±9,58 mg EQ/g d'extrait
Tanins	120,16±4,66 mg EC/g d'extrait

#### III.1. Teneur en polyphénols totaux

Les composés phénoliques ont été quantifiés par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. La teneur en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique d'écorce de *Rhamnus alaternus* a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Elle a été calculée en utilisant l'équation de la régression linéaire ( $y = 0,0937X - 0,0137$ ).

Les résultats ont montré un contenu en polyphénols totaux de  $50,69 \pm 3,23$  mg EAG/g d'extrait (Tableau VII). En comparaison, une autre étude portant sur un extrait méthanol/acétone des écorces de *R. alaternus* a rapporté une teneur de  $0,64 \pm 0,03$  mg GAE/g d'extrait sec (**Tarik et al ., 2020**).

Cette différence pourrait être attribuée à la composition chimique des différents solvants utilisés et à leur capacité d'extraction spécifique pour les polyphénols (**Xia et al., 2010**). De même, les résultats de l'extrait éthanolique des feuilles de *Rhamnus alaternus* obtenus par (**Khettal et al., 2014**) sont significativement plus élevés que ceux de notre étude. Cette variation pourrait être due aux variations des profils phytochimiques des différentes parties de la plante (écorce vs feuilles) (**Ouahiba et al., 2020**).

### III.2. Teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). La teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique d'écorces de *RA* a été déterminée à partir d'une courbe étalonnage en utilisant la quercétine comme standard. La teneur en flavonoïdes a été calculée en utilisant l'équation de la régression linéaire ( $y=0,0429x-0,0063$ ).

La teneur en flavonoïde de l'EMERA est de  $107,52 \pm 9,58$  mg EQ/g d'EMERA (Tableau VII). Cette quantité est inférieure à celle obtenue par (**Benchiha et al., 2015**) qui est de 192,74 mg EQ/g d'extrait acétique de l'écorce de *RA*. D'autre part, (**Kherbachi et al., 2022**) ont trouvé que la teneur en flavonoïdes totaux les extraits éthanoliques était plus élevée dans l'extrait de feuilles ( $64,6 \pm 2,6$  mg QE/g d'extrait sec) par rapport à l'extrait d'écorce ( $39,87 \pm 0,58$  mg QE/g d'extrait sec).

Notre résultat reste donc inférieur à ceux rapportés pour les extraits éthanoliques dans les deux études citées ci-dessous (**Benchiha et al., 2015; Kherbachi et al., 2022**) Cela peut indiquer une variabilité des teneurs en flavonoïdes dans les écorces de *Rhamnus alaternus*, liée probablement aux différences dans les méthodes d'extraction et les conditions expérimentales.

### III.3. Teneur en tanins

Le dosage des tanins a été réalisée par la méthode de vanilline avec l'HCL. La teneur de l'extrait méthanolique d'écorces de *RA* en tanins a été déterminée à partir d'une courbe étalonnage en utilisant la catéchine comme standard, Les teneurs en tanins de l'extrait a été calculée en utilisant l'équation de la régression linéaire ( $y= 0,0065x + 0,0757$ ).

Nos résultats montrent une teneur en tanins qui est de  $120,16 \pm 4,66$  mg EC/g (Tableau VII), comparativement, au résultats de (**Kherbachi et al., 2022**) qui a obtenu une quantité plus faible dans l'extrait éthanolique de la même espèce ( $36,24 \pm 5,44$  mg EC/g d'extrait sec). D'autre part (**Tarik et al., 2020**) ont rapporté un taux de  $3,60 \pm 0,2$  mg EC/g MS pour l'extrait méthanol/acétone.

Il est intéressant de noter que nos résultats concernant la teneur en tanins dans les écorces de *Rhamnus alaternus* sont supérieurs à ceux rapportés dans l'extrait méthanol/acétone de l'écorce et des feuilles de *RA* (**Tarik et al., 2020**). Cela peut suggérer une répartition différente des tanins dans les parties de la plante.

D'après les résultats, on conclut que l'EMERA présente une concentration très élevée en tanins condensés, suivie des flavonoïdes, et enfin les polyphénols totaux.

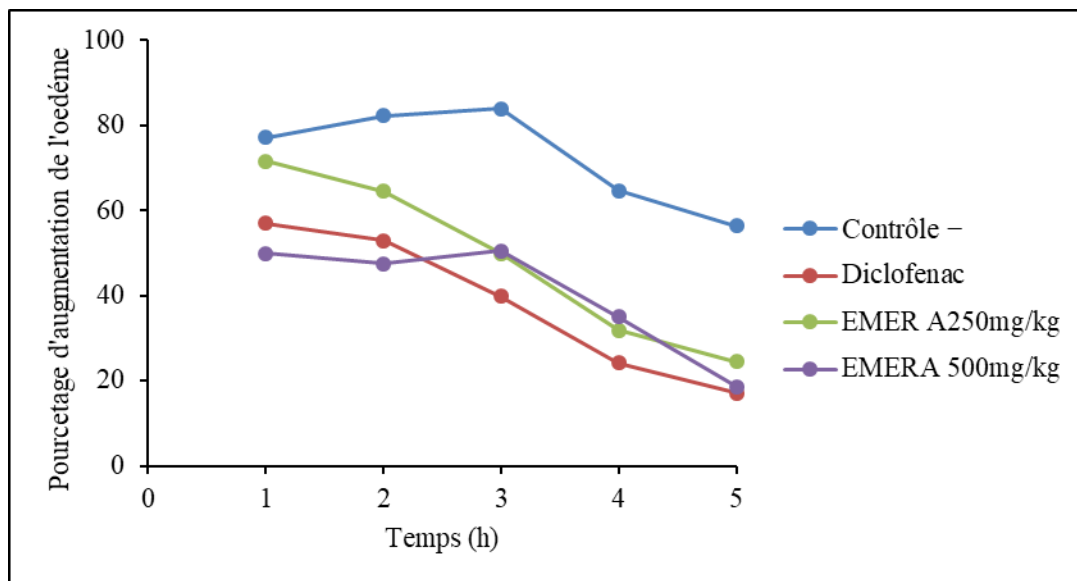
La variabilité observée en terme de teneurs en composés phénoliques peut être attribuée à plusieurs facteurs, tels que la nature de la matière végétale (feuilles matures ou jeunes, écorce, tiges...), les conditions géographiques et climatiques, ainsi que des facteurs intrinsèques tels que la génétique de la plante, le stade de maturité et la durée de stockage (Bouziid et al., 2010; Kouamé et al., 2021), ainsi que la méthode d'extraction utilisée (Serge et al., 2018). Il est important de prendre en compte ces différentes variables, car elles peuvent influencer la fiabilité et la comparabilité des résultats entre les études (Tarik et al., 2020).

## IV. Activités biologiques *in vivo*

### IV.1. Activité anti-inflammatoire

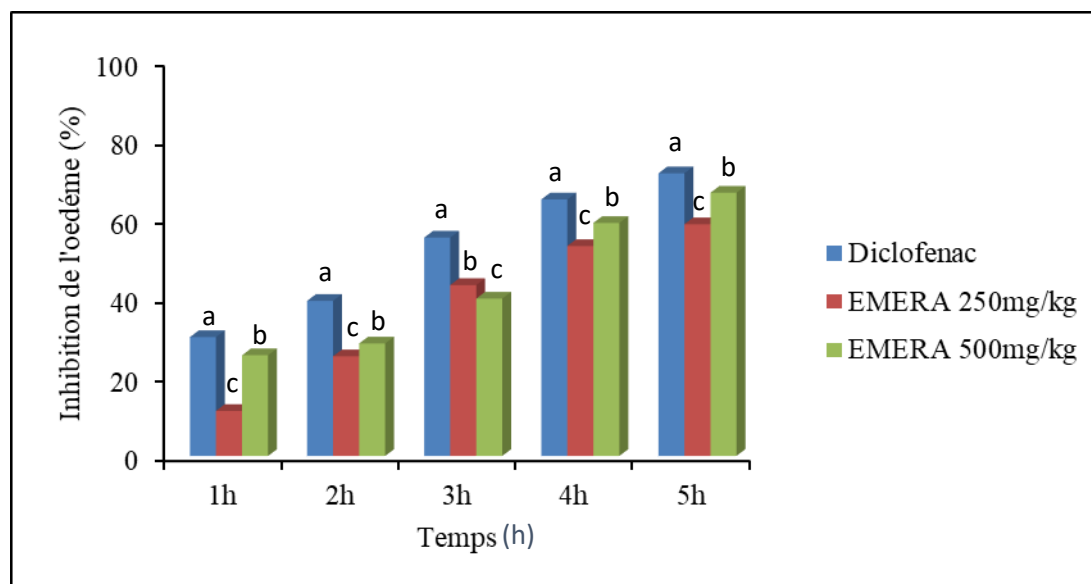
L'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des écorces du *Rhamnus alaternus* a été évaluée par le test de l'œdème plantaire induit par la carragénine. Une réduction significative du volume des pattes par rapport aux témoins est considérée comme un effet anti-inflammatoire (El et al., 2012). La mesure des contours des pattes des souris, a permis de calculer le pourcentage d'augmentation de l'œdème en fonction du temps (Figure 11) et le pourcentage d'inhibition de l'inflammation par les différents traitements (Figure 12).

Ces pourcentages ont montré une augmentation très importante du volume de la patte chez le groupe contrôle avec un maximum de  $83,82 \pm 3,19$  % à la troisième heure (Figure 11). Les augmentations sont de  $52,97 \pm 4,15$  et de  $64,43 \pm 3,04$  à la deuxième heure chez les groupes expérimentaux traités respectivement par le diclofénac et l'EMERA à la dose de 250mg/kg, respectivement. Cependant le groupe traité par EMERA à la dose de 500mg/kg a atteint un maximum de  $50,45 \pm 2,58$  % à la troisième heure. Ces résultats indiquent qu'il y a une atténuation de l'œdème chez tous les groupes expérimentaux à l'exception de celui qui est traité par le tween 1% (contrôle négatif).



**Figure 11:** Effet de l'extrait méthanolique des écorces de *Rhamnus alaternus* et du diclofénac sur le contour de la patte de la souris.

L'administration préventive de diclofénac a réduit l'œdème de façon progressive. Cette diminution devient plus significative après les 3 heures qui suivent l'injection de la carragénine, atteignant un pourcentage d'inhibition de 71,64% à 5h (figure 12). Cependant, l'EMERA (250 et 500 mg/kg) ont réduit l'œdème avec des pourcentages de 58,74 % et 66,73% respectivement à la 5eme heure.



**Figure 12:** Pourcentage d'inhibition de l'inflammation par l'EMERA. Les souris sont traitées par 250, 500 mg/Kg d'extraits et 50 mg/kg diclofénac. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM (n = 5). Les différences entre les moyennes ont été testées statistiquement par le test ANOVA one way, suivi du test post hoc de Tukey. Les valeurs ne partageant pas une lettre commune sont statistiquement différentes (P < 0,05).

Les résultats montrent que l'extrait méthanolique du *Rhamnus alaternus* possède un effet anti-inflammatoire. Une activité qui est due probablement à sa composition phytochimique particulièrement en composés phénoliques à savoir les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins. Ces résultats sont en accord avec les résultats rapportés par (Chen et al.,2020) qui ont montré que les composés phénoliques possèdent des effets anti-inflammatoires.

Le processus inflammatoire aiguë impliqué dans l'œdème de la patte de la souris induit par le carragénine fait intervenir plusieurs médiateurs libérés séquentiellement. L'induction de l'œdème par la carragénine chez la souris est un phénomène biphasique. La libération d'histamine et de sérotonine est associée à la phase primaire (0 - 3h), tandis que la phase secondaire est caractérisée par la libération de prostaglandines, de protéases et de lysosomes (Thakur et al., 2019).

D'après (vishunu et al.,2009) l'EMERA a une activités anti inflammatoire meilleure que celui de *Ficus bengalsisa* qui a été évaluée sur l'extrait méthanolique de l'écorce de deux doses 200 et 400mg/kg suivant un processus de macération en utilisant le déclonifac comme un agent anti inflammatoire référant. Et plus efficace que celui de l'extrait éthanolique d'écorce de *Theobroma cacao* a des doses de 125 et 250mg/kg (sabituu et al.,2018).

Dans cette étude, les résultats du traitement oral des souris par l'EMERA à des doses de 250 et 500 mg/kg ont démontré une forte capacité à réduire l'œdème de la patte de souris provoqué par le carragénine. Bien que le mécanisme anti-inflammatoire ne soit pas démontré dans cette étude, il semble que l'extrait inhibe le stade tardif de l'inflammation.

## IV.2. Activité cicatrisante

















Le potentiel cicatrisant de l'extrait méthanolique des écorces de *Rhamnus alaternus* a été évalué chez la souris par l'induction d'une plaie cutanée par excision circulaire. Le processus de cicatrisation a été suivi par une observation chromatique (macroscopique) et par la détermination du pourcentage de contraction de la plaie.

### a. Évaluation qualitative de la cicatrisation

L'évaluation qualitative de la cicatrisation induite a été réalisée en prenant une photo de la surface de chaque plaie aux jours 0, 3, 6, 9 et 12. C'est une évaluation de la cicatrisation en se basant sur la couleur de la plaie, l'inflammation et la ré-épithélialisation. La (figure 13) illustre l'apparence des plaies dans les quatre groupes de souris. Les images ont été interprétées



en terme d'observation chromatique : rouge vif = sang recouvrant la plaie ; rouge foncé = coagulation du sang dans l'épiderme ; rouge = tissu de granulation ; rose = phase d'épithélialisation.

Groupes	J3	J6	J9	J12
<b>Contrôle -</b>				
<b>Cicatryl</b>				
<b>250 mg/kg</b>				
<b>500 mg/kg</b>				

**Figure 13** : Photographies de l'aspect des plaies durant la période de traitement.

En examinant les plaies à l'échelle macroscopique (figure 13), nous avons constaté des variations de couleur des plaies au fil du temps pour chaque groupe. Les résultats indiquent ce qu'au :

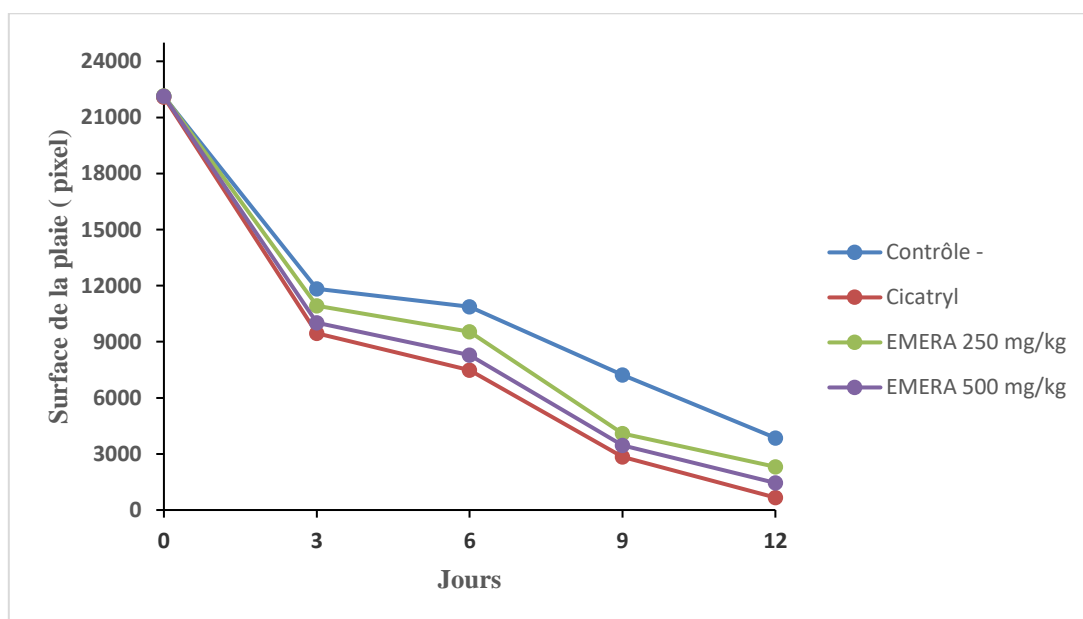
- **J3** : les plaies présentaient une couleur rouge vif dans tous les lots.
- **J6** : la couleur des plaies avait évolué vers un rouge foncé pour tous les groupes.

- **J9** : la couleur des plaies était toujours rouge, mais d'une intensité légèrement atténuée, se manifestait dans tous les lots.
- **J12** : les plaies ont adopté une couleur rose dans tous les groupes.

### b. Evolution des surfaces des plaies

Les résultats d'évolution des surfaces des plaies (figure 14) fournissent des informations sur l'efficacité des différents traitements évalués. Tout d'abord, en examinant le groupe témoin, nous pouvons constater une diminution progressive de la surface des plaies au fil du temps. Cette observation suggère que le processus de guérison naturelle a eu lieu et que les plaies se cicatrisent progressivement indiquant une amélioration significative de la guérison.

En ce qui concerne le groupe traité par l'agent cicatrisant « Cicatryl », la surface des plaies diminue de manière significative à chaque point de temps évalué. Au jour 12, la surface des plaies est réduite, atteignant seulement 665,4 pixels. Ces résultats ont prouvé que Cicatryl a un impact positif sur la cicatrisation des plaies, favorisant une réduction plus rapide de leur surface.



**Figure 14** : Evolution des surfaces des plaies au fil du temps.

Les groupes traités avec l'EMERA à des doses de 250 mg/kg et de 500 mg/kg ont également montré des améliorations significatives dans la guérison des plaies. Dans les deux groupes, la surface des plaies diminue de manière progressive tout au long de l'expérience. Au jour 12, la surface des plaies est réduite à 2312 pixels pour le groupe à 250 mg/kg et à 1

450 pixels pour le groupe à 500 mg/kg. Ces résultats indiquent que le traitement avec l'EMERA, à différentes doses, contribue à l'accélération de la cicatrisation des plaies.

En conclusion, les résultats de cette étude ont prouvé l'efficacité des traitements évalués dans la réduction de la surface des plaies. Le groupe recevant le traitement Cicatryl ainsi que les groupes traités avec l'EMERA à des doses de 250 mg/kg et de 500 mg/kg ont tous montré des améliorations significatives par rapport au groupe témoin. Ces résultats indiquent que ces traitements peuvent stimuler la cicatrisation des plaies et réduire leur surface de manière plus rapide et efficace.

### c. Pourcentage de contraction des plaies

L'évaluation du potentiel cicatrisant de l'EMERA a été suivie par la détermination de la surface de chaque plaie. Les surfaces des plaies ont été mesurées à l'aide de logiciel informatique « ImageJ » et elles sont illustrées dans la figure 14 et le taux de contraction des plaies sont présentés dans la figure 15.

**A J0**, toutes les plaies avaient des surfaces proches ainsi que les mêmes signes de l'inflammation qui englobent la phase inflammatoire de la cicatrisation.

Au **J3**, les résultats ont montré une amélioration progressive de la cicatrisation et de la rétraction des plaies, le groupe contrôle présente un pourcentage de rétraction de  $46,54 \pm 3,77\%$ , tandis que le groupe Cicatryl affiche un pourcentage légèrement plus élevé de  $57,26 \pm 1,14\%$ . Les groupes traités avec les 2 doses (250mg/kg, 500mg/kg) d'extrait méthanolique de l'écorces de *Rhamnus alaternus* montrent également des pourcentages supérieurs à celui du groupe contrôle, mais inférieurs à celui du groupe Cicatryl.  $50,58 \pm 3,01\%$  et  $54,72 \pm 1,18\%$  respectivement.

L'inflammation est installée (phase inflammatoire J0-J3) ,puisque il y'a tout d'abord un saignement qui induit une hémostase avec formation d'un caillot suite à une induction par la nécrose (**Gall., 2010**).

Au **j6**, on observe une augmentation significative des pourcentages de rétraction des plaies dans tous les groupes, avec le groupe Cicatryl supérieur au pourcentage de rétraction le plus élevé qui est de  $66,18 \pm 2,17\%$ . Les groupes traités avec l'extrait méthanolique d'écorce de *Rhamnus alaternus* (250mg/kg ,500mg/kg) ont montré des pourcentages de rétraction de

57,91±2,77% et 62,54±0,36% respectivement. Cela indique une amélioration continue de la cicatrisation par rapport au groupe contrôle 52,67±2,92%.

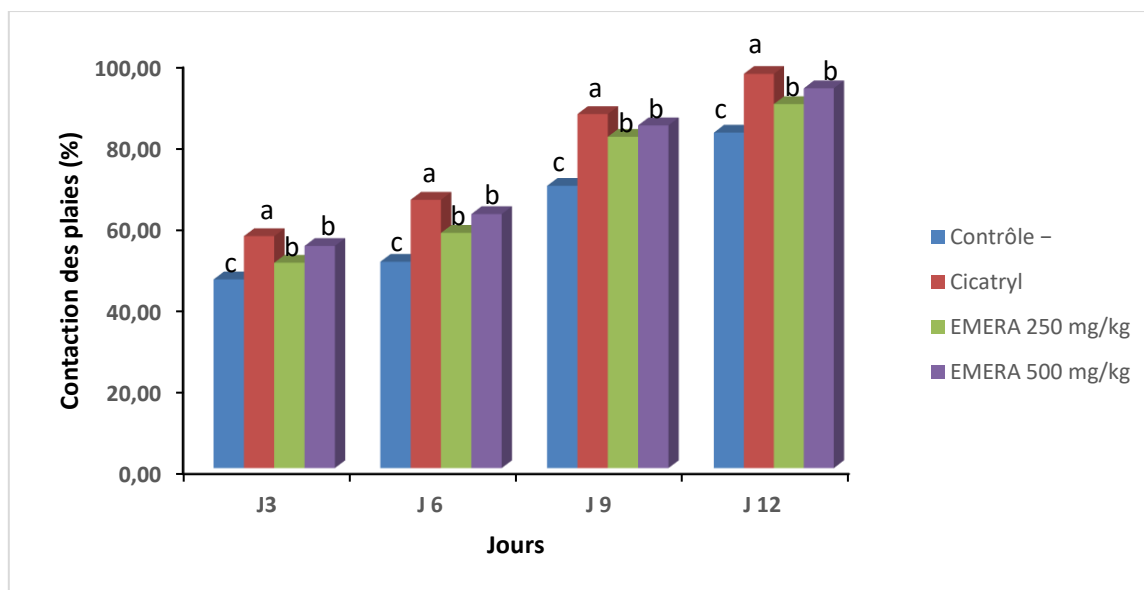
Durant cette étape (phase de contraction J6-J9) les plaies connaissent une réduction de leur surface alors qu'une croûte se forme entièrement et qu'un tissu granuleux se développe progressivement. Ce tissu granuleux est principalement constitué de fibroblastes et de myofibroblastes qui sont responsables de la synthèse du collagène, marquant ainsi le début du processus de réparation (Y. MOULIN, 2001).

**Au jour 9 et au jour 12**, tous les groupes présentent une nette amélioration de la cicatrisation par rapport au groupe contrôle initial 46,54±3,77%. Le groupe Cicatryl présente également un pourcentage de rétraction élevé 87,15 ± 2,86% au jour 9 et 95,91 ± 0,62% au jour 12. Les groupes traités avec l'extrait méthanolique d'écorce de *Rhamnus alaternus* présentent également des pourcentages de rétraction élevés, avec le groupe 500 mg/kg présentant les meilleurs résultats au jour 12 (93,44 ± 2,02%).

Pendant cette étape (phase d'épithélialisation J9-J12) une chute de la croûte et un début de formation du tissu épidermique ont été observés chez les souris du groupe traité avec l'extrait méthanolique de l'écorce de *RA*. En revanche, dans les deux autres groupes, le processus de formation tissulaire commence au 11<sup>ème</sup> jour (MOULIN, 2001).

En conclusion, ces résultats ont approuvé que l'application cutanée d'extrait méthanolique d'écorce de *RA*, à différentes doses, favorisent la cicatrisation et la rétraction des plaies au fil du temps. Bien que le groupe Cicatryl présente des pourcentages de rétraction les plus élevés, les groupes traités avec l'extrait méthanolique d'écorce de *RA* ont également montré une amélioration significative par rapport au groupe contrôle.

D'après les études de (muridhar et al.,2013) L'EMERA possède un potentiel cicatrisant meilleure que celui d'extrait méthanoique de l'écorce de *Butea monosperma* de deux doses 25 et 50mg/kg. Et aussi a montré une efficacité meilleure que celui de l'extrait éthanolique et aqueux d'écorce d'*Acacia auriculiformis* a 5% (sumitra et al.,2013).



**Figure 15** : Evolution des pourcentages de rétraction des plaies en fonction des jours. Les souris sont traitées par 250, 500 mg/Kg d'extraits et Cicatryl bio. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM (n = 5). Les différences entre les moyennes ont été testées statistiquement par le test ANOVA one way, suivi du test post hoc de Tukey. Les valeurs ne partageant pas une lettre commune sont statistiquement différentes ( $P < 0,05$ ).

D'après les résultats obtenus, les traitements à base d'extrait méthanolique d'écorces de *Rhamnus alaternus* (250mg/kg et 500mg/kg) et cicatryl accélèrent la guérison de plaies expérimentales chez les souris traitées par rapport aux souris du lot témoin. L'EMERA a approuvé une efficacité cicatrisante similaire à celle de médicament (cicatryl). L'extrait méthanolique de l'écorce de *Rhamnus alaternus* présente des propriétés hémostatiques en réduisant la durée de la phase inflammatoire et en favorisant la prolifération des granulations et des tissus épithéliaux. Ces effets cicatrisants pourraient être attribués à la présence de tanins, présents en quantité significative, qui sont naturellement présents dans les plantes, particulièrement dans les écorces (Effet et al., 2020).

# *Conclusion et perspective*

À travers cette étude, notre objectif était de contribuer à l'amélioration de la médecine traditionnelle en utilisant l'extrait méthanolique de l'écorce de *Rhamnus alaternus* pour développer une préparation thérapeutique accessible et efficace dans le traitement des plaies. Nous avons choisi cette plante en raison de sa disponibilité dans notre région et de son adaptation avec les conditions climatiques.

Le rendement d'extraction était de 16,3%, cependant l'analyse qualitative des extraits, réalisée à l'aide de tests phytochimiques, a révélé la présence de plusieurs familles de composés naturels, notamment les polyphénols, les tanins, les dérivés anthracéniques libres, les terpénoïdes, les stérols et les triterpénoïdes ainsi que l'absence d'autres familles chimiques tels que les saponines, mucilages et les alcaloïdes.

Du point de vue quantitatif, l'évaluation des teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés par des dosages de composés phénoliques a révélé des quantités significatives de tanins condensés et de polyphénols totaux  $120,16 \pm 4,66$  mg EC/g d'extrait  $50,69 \pm 3,23$  mg EAG/g d'extrait respectivement.

L'extrait méthanolique *R. alaternus* possède un effet anti inflammatoire assez important. En effet, l'activité anti-inflammatoire a été évaluée à l'aide du test d'œdème de la patte arrière droite de la souris induite par la carragénine. Ce test a montré que l'extrait méthanolique de l'écorce aux doses de 250 et 500 mg/Kg entraîne une inhibition significative du développement de l'œdème, avec des pourcentages d'inhibition respectifs de 58,74% et de 66,73%, très proches du control positif à savoir le diclofénac (71,64%).

Les résultats de cette étude menée *in vivo* ont confirmé l'effet cicatrisant de l'écorce de *Rhamnus alaternus* avec un pourcentage de rétraction au 12<sup>ème</sup> jour de  $89,56 \pm 0,93$  % et de  $93,45 \pm 0,83$  % pour les doses de 250 et de 500 mg/kg respectivement.

En conclusion, notre étude contribue à l'avancement de la médecine traditionnelle en proposant l'utilisation de cet extrait comme une option thérapeutique efficace et accessible pour le traitement de l'inflammation et des plaies cutanés.

Ces résultats nécessitent des études complémentaires et plus approfondies. Il sera intéressant de réaliser une caractérisation phytochimique par des techniques plus avancées (HPLC, GC -MS), et des tests biologiques *in vitro* afin d'éclaircir le mode d'action de l'EMERA au niveau moléculaire (culture cellulaire, kits spécifiques ...etc).

# *Références bibliographiques*



## A

- Abreviaturas, T. I., & Marsol, I. B. (2006). PIEL NORMAL Proceso de cicatrización de las heridas. *PIEL. Formación Continuada En Dermatología*, 21(4), 207–212. [https://doi.org/10.1016/S0213-9251\(06\)72470-4](https://doi.org/10.1016/S0213-9251(06)72470-4)
- Ains, L. (2015). Qu'est-ce qu'un anti-inflammatoire ? *Qu'est-Ce Qu'un Anti-Inflammatoire*, 80(75 015), 0–1.
- Akram, M., Ahmed, A., Usmanhani, K., Hannan, A., Mohiuddin, E., & Asif, M. (2010). Curcuma Longa and Curcumin: a Review Article. *Romanian Journal of Biology*, 55(2), 65–70. <http://ns.ibiol.ro/plant/volume 55/art201.pdf>
- Amici, J. M., & Chaussade, V. (2016a). Optimisation de la cicatrisation en chirurgie dermatologique et gestions des aléas. *Annales de Dermatologie et de Venereologie*, 143, S20–S25. [https://doi.org/10.1016/S0151-9638\(18\)30080-2](https://doi.org/10.1016/S0151-9638(18)30080-2)
- Amici, J. M., & Chaussade, V. (2016b). Optimisation de la cicatrisation en chirurgie dermatologique et gestions des aléas How to optimize scarring in dermatologic surgery ? *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 143, S20–S25. [https://doi.org/10.1016/S0151-9638\(18\)30080-2](https://doi.org/10.1016/S0151-9638(18)30080-2)
- Antoniadou, K., Herz, C., Le, N. P. K., Mittermeier-Kleßinger, V. K., Förster, N., Zander, M., Ulrichs, C., Mewis, I., Hofmann, T., Dawid, C., & Lamy, E. (2021). Identification of salicylates in willow bark (*Salix cortex*) for targeting peripheral inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20). <https://doi.org/10.3390/ijms222011138>
- Ayoola, G. A., Coker, H. A. B., Adesegun, S. A., Adepoju-bello, A. A., Obaweya, K., Ezennia, E. C., & Atangbayila, T. O. (2008). *Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria*. 7(September), 1019–1024.

## B

- Bannwarth, B. (2005). Anti-inflammatory therapy. Place of conventional NSAIDs and coxibs. *EMC - Medecine*, 2(5), 524–531. <https://doi.org/10.1016/j.emcmed.2005.08.004>

- Benchiha, W., & Bouterfas, K. (2015). *Antimicrobien et Antioxydant Activités des Flavonoïdes Extraits des Écorces de Rhamnus alaternus L. du mont de Tessala ( Algérie Occidentale ). March.*
- Berka, B., Hassani, A., & Allaf, K. (2015). Strategy of experimental design for intensification of solvent extraction of natural antioxidant flavonoids and phenols from buckthorn textured leaves. *Cogent Chemistry*, *1*(1), 1087109. <https://doi.org/10.1080/23312009.2015.1087109>
- Berka, B., Hassani, A., Allaf, K., & Chemat, F. (2008). Analysis by Gas Chromatography-Mass Spectrometry of the Essential Oil of Rhamnus Alaternus L. (Rhamnaceae), an Aromatic and Medicinal Plant Growing in Algeria. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, *11*(6), 563–570. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2008.10643667>
- Biologie, D. D. E., En, T., Obtention, V. U. E. D. E. L., & Diplome, D. U. (2020). *Contribution à l ' étude des activités biologiques de deux plantes médicinales algériennes à effet antidiabétique . Membres du Jury. 2019–2020.*
- Boizot, N., & Charpentier, J.-P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier Technique de l'Inra, January*, 79–82.
- Boussahel, S., Speciale, A., Dahamna, S., Amar, Y., Bonaccorsi, I., Cacciola, F., Cimino, F., Donato, P., Ferlazzo, G., Harzallah, D., & Cristani, M. (2015). Flavonoid profile, antioxidant and cytotoxic activity of different extracts from Algerian Rhamnus alaternus L. bark. *Pharmacognosy Magazine*, *11*(42), S102–S109. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.157707>

## C

- Calhelha, R. C., Haddad, H., Ribeiro, L., Heleno, S. A., & Carocho, M. (2023). *Inflammation : What ' s There and What ' s New ?* 1–26.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002). *a04971003\_178*. *10*(3), 178–182.
- Charbonneau Lucie. (2019). *La plaie*. [https://www.chuv.ch/fileadmin/sites/dso/documents/Methodes\\_de\\_soins/MDS\\_PLAIES\\_La\\_plaie.pdf](https://www.chuv.ch/fileadmin/sites/dso/documents/Methodes_de_soins/MDS_PLAIES_La_plaie.pdf)

Chen, G., Mutie, F. M., Xu, Y., Saleri, F. D., Hu, G., & Guo, M. (n.d.). *Antioxidant , Anti-inflammatory Activities and Polyphenol Profile of Rhamnus prinoides*. 1–12.

Clinical, I. (2015). Les cicatrices chéloïdes ( première partie ) : une pathologie de la cicatrisation cutanée. *Annales de Chirurgie Plastique Esthétique*.  
<https://doi.org/10.1016/j.anplas.2015.09.005>

## D

Daira, N. E.-H., Maazi, M. C., & Chefrou, A. (2016). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq. de l'Est Algérien. *Bulletin de La Société Royale Des Sciences de Liège, March 2019*, 276–290.  
<https://doi.org/10.25518/0037-9565.6494>

Danowski, R. (1991). Inflammation en rhumatologie. *Ann. Kinésithér*, 18(5), 233–240.

Daoudi, A., Hrouk, H., Belaidi, R., Slimani, I., Ibijbijen, J., & Nassiri, L. (2016). *Valorisation de Ruta montana et Ruta chalepensis : Etude ethnobotanique , Screening phytochimique et pouvoir antibactérien Valorization of Ruta montana and Ruta chalepensis : Ethnobotanical study , phytochemical screening and Antibacterial activity*. 7(3), 926–935.

Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Mina, L., & Hassani, I. (2003). *Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, Thymelaea lythroïdes*. February 2017.

## E

Effet, E. D. E. L., Ipomoea, D., Isabelle, R. E., Moussa, I., Jeenathfrancelline, R., & François, R. J. (2020). *SUR LA CICATRISATION DES PLAIES CUTANÉES CHEZ LA SOURIS Matériels et méthodes Préparation de matériels végétaux*. 2.

Ékro, Y. B., Ékro, J. A. M. A. B., Oua, B. B. B., I, F. H. T. R. A. B., & Hilé, E. E. É. (2007). *Étude ethnobotanique et screening phytochimique de Caesalpinia benthamiana ( Baill .) Herend . et Zarucchi ( Caesalpinaceae )*. 4, 217–225.

## F

Faure, S. (2009). Anti-inflammatory corticosteroids. *Actualites Pharmaceutiques*, 48(487), 51–56. [https://doi.org/10.1016/S0515-3700\(09\)70493-8](https://doi.org/10.1016/S0515-3700(09)70493-8).

## G

Gall, Y. (2010). Acide hyaluronique : structure, métabolisme et implication dans la cicatrisation. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 137, S30–S39. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0151-9638\(10\)70007-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0151-9638(10)70007-7)

## H

Halkes, S. B. A., Beukelman, C. J., Kroes, B. H., Van Den Berg, A. J. J., Labadie, R. P., & Van Dijk, H. (1997). In vitro immunomodulatory activity of *Filipendula ulmaria*. *Phytotherapy Research*, 11(7), 518–520. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199711\)11:7<518::AID-PTR136>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199711)11:7<518::AID-PTR136>3.0.CO;2-9)

Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105(3), 1126–1134. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.010>

## K

Katanić, J., Boroja, T., Mihailović, V., Nikles, S., Pan, S. P., Rosić, G., Selaković, D., Joksimović, J., Mitrović, S., & Bauer, R. (2016). In vitro and in vivo assessment of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) as anti-inflammatory agent. *Journal of Ethnopharmacology*, 193, 627–636. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.10.015>

Kherbachi, S., Kheniche, M., & Tacherfiout, M. (2022). Antihemolytic activity of hydroalcoholic leaves and bark extracts from *Rhamnus alaternus* against AAPH induced hemolysis on human erythrocytes. *International Journal of Plant Based Pharmaceuticals*, 2(2), 210–219. <https://doi.org/10.29228/ijpbp.3>

Khettal, B., Zaidi, A., Tacherfiout, M., & Sobhi, W. (2014). P156: Effet des extraits de feuilles de *Rhamnus Altarnus* à activités antioxydant et antilipasique sur la masse corporelle et le métabolisme des lipides des souris nourries avec un régime enrichie en carbohydrates. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 28, S149–S150. [https://doi.org/10.1016/s0985-0562\(14\)70798-8](https://doi.org/10.1016/s0985-0562(14)70798-8)

Kořtun-Jasion, M., Sawulska, P., Patyra, A., Woźniak, M., Dudek, M. K., Filipek, A., & Kiss,

- A. K. (2023). Bio-Guided Isolation of Compounds from *Fraxinus excelsior* Leaves with Anti-Inflammatory Activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4). <https://doi.org/10.3390/ijms24043750>
- Kosalec, I., Kremer, D., Locatelli, M., Epifano, F., Genovese, S., Carlucci, G., Randić, M., & Zovko Končić, M. (2013). Anthraquinone profile, antioxidant and antimicrobial activity of bark extracts of *Rhamnus alaternus*, *R. fallax*, *R. intermedia* and *R. pumila*. *Food Chemistry*, 136(2), 335–341. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.026>
- Kouamé, T. K., Siaka, S., Kassi, A. B. B., & Soro, Y. (2021). Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigma thonningii* (Caesalpiniaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(1), 97–105. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v15i1.9>

## L

- L' inflammation et le système immunitaire*. (2013). 1–4.
- L, M. S., & El-haoud, H. (2018). *SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE : Mentha Spicata L . PHYTOCHMICAL SCREENING OF A MEDICINAL PLANT* : 226–233.
- Leite, C. D. S., Bonafé, G. A., Santos, J. C., Martinez, C. A. R., Ortega, M. M., & Ribeiro, M. L. (2022). The Anti-Inflammatory Properties of Licorice (*Glycyrrhiza glabra*)-Derived Compounds in Intestinal Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(8). <https://doi.org/10.3390/ijms23084121>
- Length, F. (2014). *Phytochemical analysis of the methanol leaves extract of Paullinia pinnata linn.* 6(2), 10–16. <https://doi.org/10.5897/JPP2013.0299>
- Létard, J.-C., Canard, J.-M., Costil, V., Dalbiès, P., Grunberg, B., Lapuelle, J., & Commissions nutrition et thérapies complémen. (2015). Phytothérapie – Principes généraux. *Hegel*, N° 1(1), 29–35. <https://doi.org/10.3917/heg.051.0029>
- Liang, F. (2006). The Penetration Rate into Pelt of Waxberry Vegetable Extracts with Different Tannin Content. *West Leather*, 91(2), 20–22.

## M

- Magnavacca, A., Piazza, S., Cammisa, A., Fumagalli, M., Martinelli, G., Giavarini, F., Sangiovanni, E., & Dell'agli, M. (2021). Ribes nigrum leaf extract preferentially inhibits ifn- $\gamma$ -mediated inflammation in hacat keratinocytes. *Molecules*, 26(10), 1–23. <https://doi.org/10.3390/molecules26103044>
- Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428–435. <https://doi.org/10.1038/nature07201>
- Miara, M. D., Hammou, M. A., & Aoul, S. H. (2013). Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytotherapie*, 11(4), 206–218. <https://doi.org/10.1007/s10298-013-0789-3>.

## N

- Nekkaa, A., Benaissa, A., Mutelet, F., & Canabady-Rochelle, L. (2021). Rhamnus alaternus plant: Extraction of bioactive fractions and evaluation of their pharmacological and phytochemical properties. *Antioxidants*, 10(2), 1–21. <https://doi.org/10.3390/antiox10020300>
- Nigussie, G., Melak, H., & Endale, M. (2021). Traditional medicinal uses, phytochemicals, and pharmacological activities of genus rhamnus: A review. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, 8(3), 899–932. <https://doi.org/10.18596/jotcsa.929188>

## O

- Ouahiba, B., Karima, Y., Narimen, B., Razika, L., Souheila, T., HADDAD Djillali, E., Sounia, O., Djanette, B., & Karim, A. (2020). Criblage Phytochimique Et Évaluation Du Pouvoir Antioxydant Des Feuilles De Myrtus Communis L. Et Rhamnus Alaternus L. Phytochemical Screening and Evaluation of the Antioxidant Power of Leaves of Myrtus Communis L. and Rhamnus Alaternus L. *Revue Agrobiologia*, 10(1), 1749–1761. [www.agrobiologia.net](http://www.agrobiologia.net)
- Ouédraogo, N., Lompo, M., Sawadogo, R. W., Tibiri, A., Hay, A. E., Koudou, J., Dijoux, M. G., & Guissou, I. P. (2012). Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de Pterocarpus erinaceus

Poir. (Fabaceae). *Phytotherapie*, 10(5), 286–292. <https://doi.org/10.1007/s10298-012-0732-z>.

## P

Plantas, L. E. S., Époque, T. À. L., Saitabi, I. L. E. T. D. E., Julia, M., & García, M. (2012). *L*. 247–255.

Price, M. L., Scoyoc, S. Van, & Butler, L. G. (1978). A Critical Evaluation of the Vanillin Reaction as an Assay for Tannin in Sorghum Grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(5), 1214–1218. <https://doi.org/10.1021/jf60219a031>.

## Q

Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Thierry, D., Claude, B., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J.-C., Bailleul, F., & Trotin, F. (2000). determinacion TLc y folin modificado de polifenoles quettier delau 2000.pdf. *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 35–42.

## R

Reticulata, D. A., Sur, A., Aigu, L. Œ., Ndiaye, M., Gy, S. Y., Am, D., Mt, T., & Faye, B. (2006). *Résumé IN THE RAT-PAW OEDEMA INDUCED BY CARRAGEENIN Annona reticulata is a plant from Central America which also found also in Senegal and used. XIV*, 179–186.

Roques, C. (2017). La place des silicones dans la prévention. *Revue Francophone de Cicatrisation*, 1(3), 55–57. [https://doi.org/10.1016/S2468-9114\(17\)30377-8](https://doi.org/10.1016/S2468-9114(17)30377-8).

## S

Senet, P., Meaume, S., and Dubertret, L. (2000). Physiologie de la cicatrisation cutanée. *Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris) dermatologie* 98-040-A-10, 8p.

Serge Gouegoui Bohui, P., Amissa Adima, A., Bobelé Niamké, F., & David, J. N. (2018). Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim, January*, 50–58. <http://www.soachim.org>

Serhan, C. N., & Savill, J. (2005). Resolution of inflammation: The beginning programs the

end. *Nature Immunology*, 6(12), 1191–1197. <https://doi.org/10.1038/ni1276>

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

Siracusa, L., Saija, A., Cristani, M., Cimino, F., D'Arrigo, M., Trombetta, D., Rao, F., & Ruberto, G. (2011). Phytocomplexes from liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) leaves - Chemical characterization and evaluation of their antioxidant, anti-genotoxic and anti-inflammatory activity. *Fitoterapia*, 82(4), 546–556. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.01.009>

Souaga, K., Adou, A., Amantchi, D., & Angoh, Y. (1998). Plaidoyer pour une utilisation raisonnée des anti-inflammatoires en odonto-stomatologie. *Odonto-Stomatologie Tropicale = Tropical Dental Journal*, 21(83), 16–21.

Stephanie, R. M., Isabelle, R. E., Joslin, R., Loutfi, Y., Housseny, O., & Djoud, R. (2021). ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ CICATRISANTE DE L'EXTRAIT DE (CUCURBITACEAE) CHEZ LA SOURIS Matériels et méthodes Matériel végétal Criblage phytochimique. 5, 211–223.

## T

Tarik Mohammed CHAOUCHÉ, F. H., & BOUDJEMAI, OuhibaGHELLAI, and I. (2020). 21. *Chaouchev89\_Art\_2020\_PI\_14*. 1–14.

Téot, L. (2018). Classification des cicatrices pathologiques. *Journal of Chromatography B*, 2(3), 17–21. <https://doi.org/10.1016/j.refrac.2018.07.005>

Thakur, C., & Prasad, B. (2019). *Antiinflammatory Activity of Stem Bark of Rhamnus purpureus* Antiinflammatory Activity of Stem Bark of Rhamnus purpureus. January.

## U

Uessan, K. N. G., Adja, B. K., Irihi, G. N. Z., Raoré, D. T., & Ssi, L. A. K. É. (2009). *Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire)*. 6, 1–15.



**V**

Venereol, A. D. (2005). Cicatrisation cutanée. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 132(11), 64–65. [https://doi.org/10.1016/s0151-9638\(08\)79542-5](https://doi.org/10.1016/s0151-9638(08)79542-5)

Vonkeman, H. E., & van de Laar, M. A. F. J. (2010). Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: Adverse Effects and Their Prevention. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 39(4), 294–312. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2008.08.001>.

**X**

Xia, E. Q., Deng, G. F., Guo, Y. J., & Li, H. Bin. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(2), 622–646. <https://doi.org/10.3390/ijms11020622>.

**Y**

Y. MOULIN. (2001). Comprendre le processus de cicatrisation. *Infirm Que*, vol.9(1), 37–40.

# *Annexes*

**Annexes 01** : Principaux anti-inflammatoires stéroïdiens (Faure, 2009).

DCI	Spécialités
<b>Corticoïdes physiologiques</b>	
Hydrocortisone	Hydrocortisone Roussel® Hydrocortisone Upjohn
<b>Corticoïdes de synthèse : voie générale</b>	
Prednisone	Cortancyl® + G
Prednisolone	Solupred® + G
Méthylprednisolone	Médrol® Solumédrol® + G
Bétaméthasone	Célestène® + G, dans Célestamine®. Betnesol® Betnesol®, Célestène® Célestène chronodose®, Diprostène®
Dexaméthasone	Dectancyl® phosphate disodique dexaméthasone Mylan®
Budésonide	Entocort®, Rafton®

**Annexes 02** : Principales formes orales des AINS commercial (Bannwarth, 2005).

Famille	Dénomination commune internationale (DCI)	Spécialités (exemples)®
<b>Salicylés</b>	Acide acétylsalicylique	Aspirine Upsa
	Acétylsalicylate de lysine	Aspégic

	Diflunisal	Dolobis
<b>Acétates</b>	Acéclofénac Diclofénac	Cartrex Voltarène
<b>Indolés</b>	Étodolac Indométacine Sulindac	Lodine Indocid Arthrocline
<b>Oxicams</b>	Méloxicam Piroxicam Ténoxiam	Mobic Feldène Tilcotil
<b>Propioniques</b>	Acide tiaprofénique Alminoprofène Fénoprofène Flurbiprofène Ibuprofène Kétoprofène Naproxène Naproxène sodique	Surgam Minalfène Nalgésic Cébutid Brufen Profénid Naprosyne Apranax
<b>Pyrazolé Divers</b>	Phénylbutazone Acide niflumique Nabumétone Nimésulide	Butazolidine Nifluril abucox Nexen
<b>Coxibs</b>	Célécoxib	Celebrex

**Annexe 03 : Matériel et produits chimiques utilisés dans notre étude.**

Produits chimiques	Matériels
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Folin-Ciocolteu</li> <li>• Chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>)</li> <li>• Eaux distillées</li> <li>• Carbonate de Sodium (NaCO<sub>3</sub>)</li> <li>• Acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)</li> <li>• Chloroforme.</li> <li>• Réactif de Dragendorf</li> <li>• Anhydre acétique</li> <li>• Acide gallique</li> <li>• Triochlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>)</li> <li>• Quercétine</li> <li>• Ethanol absolu (96%)</li> <li>• Méthanol absolu</li> <li>• Ammoniaque (NH<sub>4</sub>OH)</li> <li>• Acétate de Sodium (CH<sub>3</sub>COONa)</li> <li>• Vanilline(C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>)</li> <li>• Acide sulfurique</li> <li>• Carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)</li> <li>• HCL (8%) Acide chlorhydrique</li> <li>• Éther di éthyle</li> <li>• Persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>)</li> <li>• Chlorure ferrique (0,1%)</li> <li>• Diclofénac 50mg/kg</li> <li>• Acide acétique</li> <li>• tween 1%</li> <li>• crème cicatyl bio</li> <li>• L'alcool à 70%.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agitateur (VELP)</li> <li>• Bain Marie (Fisher Scientific)</li> <li>• Balance</li> <li>• Balance a précision</li> <li>• Gants</li> <li>• Micropipettes</li> <li>• Des embouts</li> <li>• Cristallisoir</li> <li>• Bécher</li> <li>• Spatule</li> <li>• Éprouvette graduée</li> <li>• Erlenmeyer</li> <li>• Flacon en verre</li> <li>• pissette</li> <li>• PH mètre</li> <li>• Spectrophotomètre</li> <li>• Vortex</li> <li>• Tubes à essais</li> <li>• Tubes Eppendorff</li> <li>• Flacons</li> <li>• Cages en polypropylène transparentes</li> <li>• Biberon</li> <li>• Sonde de gavage</li> <li>• Seringues</li> <li>• Étuves</li> <li>• pince</li> <li>• Portoire</li> <li>• Papier Whatman</li> <li>• biopsy punch.</li> <li>• Entonnoir</li> <li>• Tamis</li> <li>• Pied à coulisse</li> </ul>

**Résumé :**

*Rhamnus alaternus* est un arbuste méditerranéen appartenant à la famille des Rhamnacées. L'extraction méthanolique d'écorce e RA a donné un rendement de 16,3%. Les analyses qualitatives ont révélé la présence de diverses familles de composés naturels tels que les polyphénols, les tanins, les dérivés anthracéniques libres, les terpénoïdes, les stérols et les triterpénoïdes. Sur le plan quantitatif, nous avons évalué les taux de composés phénolique. Les dosages ont révélé des quantités significatives de tanins condensés et de polyphénols totaux. L'activité anti-inflammatoire a été suivie à l'aide du test de l'œdème de la patte arrière droite de la souris induite par la caragénine, Les résultats montrent que l'extrait méthanolique du *Rhamnus alaternus* possède un effet anti-inflammatoire qui est due probablement à sa composition phytochimiques particulièrement en composés phénoliques à savoir les polyphénols, et les flavonoïdes et que l'administration d'extrait méthanolique d'écorce de RA, à différentes doses favorisent la cicatrisation et la rétraction des plaies au fil du temps.

**Mots clés :** *Rhamnus alaternus*, composés phénolique, effet anti-inflammatoire, effet cicatrisant

**Abstract :**

*Rhamnus alaternus* is a Mediterranean shrub belonging to the Rhamnaceae family. The methanolic extraction of RA bark yielded a 16.3% yield. Qualitative analyses revealed the presence of various families of natural compounds such as polyphenols, tannins, free anthracene derivatives, terpenoids, sterols, and triterpenoids. In terms of quantitative analysis, we evaluated the levels of phenolic compounds. The measurements revealed significant amounts of condensed tannins and total polyphenols. The anti-inflammatory activity was assessed using the carrageenan-induced hind paw edema test in mice. The results demonstrate that the methanolic extract of *Rhamnus alaternus* possesses anti-inflammatory effects, which are likely due to its phytochemical composition, particularly the presence of phenolic compounds such as polyphenols and flavonoids. Furthermore, the administration of methanolic extract of RA bark at different doses promotes wound healing and wound contraction over time.

**Keywords:** *Rhamnus alaternus*, phenolic compounds, anti-inflammatory effect, wound healing effect







