

ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ CICATRISANTE DE *DESMODIUM VELUTINUM* (FABACEAE) CHEZ LE RAT

RAMA Michela Stephanie^(1,2), TEMASOA Yvanna^(1,2), MIANA Léonard Pascal⁽¹⁾, RAZAFINIRINA Emma Isabelle^(1,2), ROUKIA Djoudi^(1,2)

1 : Laboratoire de Recherche en Biotechnologie, Environnement et Santé (LRBES) Campus Universitaire d'Ambondrona, Université de Mahajanga, Mahajanga - Madagascar

2 : École Doctorale Génie du Vivant et Modélisation (EDGVM), Université de Mahajanga, Mahajanga - Madagascar

E-mail : michelastephanie2408@gmail.com

Téléphone : +261 32 74 561 75

Résumé

Desmodium velutinum est une plante utilisée traditionnellement pour soigner les plaies et les blessures. Une étude *in vivo* a été effectuée chez le rat afin de démontrer expérimentalement l'activité cicatrisante de l'extrait brut méthanolique des feuilles de cette plante. Des plaies ouvertes de 10mm de diamètre ont été créés au niveau du dos de l'animal. Tous les produits ont été appliqués par voie topique sous forme de pommades. Le test a débuté le jour de la création des plaies jusqu'à la guérison de tous les animaux de tous les lots soit 18 jours. Les paramètres étudiés ont été les surfaces des plaies en utilisant la méthode de la planimétrie directe ainsi que la vitesse de cicatrisation. L'application de la pommade a été effectuée tous les deux jours et les mesures ont été prises tous les jours jusqu'à la fermeture des plaies. Les plaies des animaux traités avec l'extrait à 20% se sont refermées au bout de 10 jours avec une vitesse de cicatrisation maximale de 14,3mm²/j. Chez le lot traité avec le madécassol 1% (référence) (19,3mm²/j), la guérison fut observé au bout 11 jours de traitement, 14 jours chez le lot traité avec l'extrait à 10%(19,3mm²/j) et 18 jours chez le lot témoin (13,3mm²/j). Le criblage phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes et des tanins ainsi que des stéroïdes dans l'extrait. Les résultats obtenus montrent que cet extrait accélère la cicatrisation et présente une activité cicatrisante similaire au produit de référence. Il se pourrait qu'il exerce son activité en accélérant l'hémostase, en diminuant la phase inflammatoire, ce qui favorise l'accélération de la phase de ré-épithélialisation. Toutefois, des études plus approfondies restent nécessaires pour confirmer ces hypothèses.

Mots-clés : *Desmodium velutinum*, plaie, cicatrisante, plante médicinale.

Abstract

Desmodium velutinum is a plant traditionally used to treat wounds. An *in vivo* study was carried out in rats to demonstrate experimentally the healing activity of the crude methanolic extract of the leaves of this plant. Open wounds of 10mm of diameter were created in the back of the animal. All products have been applied topically in the form of ointments. The test started on the day of the creation of the wounds until the healing of all the animals of all the batches. The test lasted 18 days. The parameters studied were the wound surfaces using direct planimetry method as well as the speed of healing. The ointment was applied every two days and measurements were taken daily until the wounds closed. The wounds of animals treated with 20% extract closed after 10 days with a maximum healing speed of 14,3mm²/d. In the batch treated with 1% madecassol (reference) (19,3mm²/d), healing was observed after 11 days of treatment, 14 days in the batch treated with the 10% extract (19,3mm²/d) and 18 days in the control group (13,3mm²/d). Phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, flavonoids, tannins and steroids in the extract. The results obtained show that this extract accelerates healing and has a healing activity similar to the reference product. It could be that it exerts its activity by accelerating

hemostasis, by decreasing the inflammatory phase, which favors the acceleration of the re-epithelialization phase. However, further studies remain necessary to confirm these assumptions.

Keywords: *Desmodium velutinum*, wound, healing, medicinal plants.

Introduction

Une plaie est définie comme étant une interruption dans la continuité d'un tissu du corps, une rupture de la barrière cutanée (Li et al., 2005). Elle peut être causée par des agents extérieurs mécaniques : brûlures, radiations, coupures, déchirures, frottements, pincements et pressions (Fortin, 2005) Un cicatrisant est un agent qui favorise et accélère la cicatrisation. Il améliore l'état et l'apparence de la cicatrice (SFMU, 2005). La cicatrisation est l'ensemble des phénomènes physiologiques naturels qui a pour but de réparer des lésions et de restaurer la structure cutanée (Krishnan, 2006). Le retard de guérison d'une blessure résulte de la perte de la continuité ou de la perturbation de la structure anatomique et cellulaire de la peau. La plaie endommage les terminaisons nerveuses du derme et détruit complètement l'épiderme et le derme (Nagori et Solanki, 2011). Après une blessure, une réponse inflammatoire se produit et les cellules situées sous le derme (la couche cutanée la plus profonde) commencent à augmenter la production de collagène. Plus tard, le tissu épithélial (la peau externe) sera régénéré (Vipin et Sarvesh, 2011).

Depuis plusieurs siècles, nos ancêtres ont utilisé de nombreuses plantes médicinales pour se soigner (Michayewicz, 2013). D'après OMS en 2008, 80% des habitants de la planète utilisent la médecine traditionnelle à base de plantes pour les soins de santé primaire. A Madagascar, les plantes médicinales occupent une place importante dans la vie quotidienne des malgaches, aussi

bien en milieu urbain qu'en milieu rural (Boiteau, 1982). Leur faible pouvoir d'achat, la hausse des prix des médicaments pharmaceutiques ainsi que la distance géographique des villages par rapport aux centres de soins de base sont autant des raisons qui poussent la population à la thérapie par les plantes. En cas de blessure, la population utilise habituellement les plantes qui se trouvent dans leur environnement pour accélérer la cicatrisation. De nombreuses plantes possèdent des propriétés cicatrisantes, par exemple *Centella asiatica* (talapetraka) dont l'acide madécassique améliore la cicatrisation des plaies (Pousset, 1989).

D'après les enquêtes ethnopharmacologiques effectuées dans le Fokontany Ankijabe, District Ambatoboeny, dans la Région Boeny à Madagascar, *Desmodium velutinum* (Fabaceae) ou *Sofindambo* est traditionnellement utilisée par la population locale pour traiter de nombreux problèmes de santé, notamment les lésions cutanées chez l'homme et chez l'animal. Par ailleurs, des études concernant l'activité antioxydante de cette plante ont été effectuées en 2018 par Nkwocha et ses collaborateurs. D'après les travaux d'Anowi et al. (2012), l'extrait méthanolique *Desmodium velutinum* est doté d'activité anti-diarrhéique et antipyrétique. Isah et al., (2014) ont mené une étude de l'activité analgésique de l'extrait méthanolique de *Desmodium velutinum*. Toutesfois, cette plante n'a pas encore fait l'objet d'étude scientifique pour une activité cicatrisante. D'où l'objectif de ce travail est de valoriser et prouver scientifiquement l'usage

traditionnel de cette plante en étudiant la propriété cicatrisante.

Matériels et méthodes

Matériel végétal

Les feuilles de *Desmodium velutinum* (Fabaceae) ont été récoltées dans le district d'Ambatoboeny Fokontany d'Ankijabe. Elles ont été séchées à l'ombre, à la température ambiante pendant trois semaines, puis broyées en de fine poudre.

Animaux d'expérimentation

Des rats mâles et femelles, âgés de 3 mois pesant entre 200g et 230g élevés à l'animalerie du Laboratoire de Recherche en Biotechnologie, Environnement et de Santé (LRBES), ont été utilisés pour cette étude. Ils ont été nourris quotidiennement avec de la provende LFL (Livestock Feed Ltd, 14/20) et ont eu accès à l'eau à volonté.

Extraction

Cinq cent grammes (500 g) de poudres de feuilles *Desmodium velutinum* ont été macérées sous agitation dans le complexe de solvants méthanol-eau (80 : 20), pendant 24h et à température ambiante. Le macérât a ensuite été filtré à l'aide d'un papier Jaugé, sous vide puis évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif (BUCHI R-114), sous pression réduite, à 40°C. Le rendement de l'extraction R% a été selon la formule suivante :

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

Criblage phytochimique

Le test consiste à utiliser des réactifs spécifiques pour chaque famille chimique auxquelles un précipité et/ou un changement de couleur sont observés en leur présence (Fong et al., 1977).

Tableau 1 : Criblage phytochimique pour mettre en évidence les familles chimiques dans l'extrait (Fong et al., 1977)

Familles chimiques	Tests	Réactifs	Observations
ALCALOÏDES		DRAGENDORFF, MAYER, WAGNER	Précipitation
STEROIDES	LIBERMAN BURCHARD	Anhydride acétique + H ₂ SO ₄	Coloration violet ou bleu : Stéroïdes
FLAVONOÏDES	WIL-STATER	Ruban de Mg + HCl concentré	Coloration rouge
TANINS		Gélatine + NaCl	Précipitation verte
		Gélatine + FeCl ₃ MeOH	Précipitation bleu

Étude de l'activité cicatrisante

Formulation des pommades

L'extrait a été incorporé dans de la vaseline (utilisé comme excipient) pour donner deux pommades de concentrations 10% et 20% respectivement (Wigger-Alberti et al., 1997).

Formules :

- Pommade à 10% (PL-10%) : 1g d'extrait mélangé avec 9g de vaseline
- Pommade à 20% (PL-20%) : 2g d'extrait mélangé avec 8g de vaseline

Test pharmacologique

Les animaux ont été répartis en 4 lots de 3 rats dont un lot témoin à qui seulement de la vaseline a été appliquée, un lot de référence

traité avec le madécassol (1%), un lot traité avec PL-10% et un lot traité avec PL-20%. Les produits testés ont été appliqués par voie topique. Le premier jour (J0) de l'expérience, les animaux ont été anesthésiés par inhalation d'éther diéthylique. Les duvets sur le dos de l'animal ont été rasés avec une tondeuse stérilisée. Par la suite, deux plaies circulaires de 10mm de diamètre ont été créés de part et d'autre de la colonne vertébrale (figure 1) à l'aide d'un dispositif circulaire tranchant. Pendant toute la durée de l'expérience (J0 à J18), les plaies ont été nettoyées et mesurées par planimétrie directe en utilisant un papier millimétré. Afin d'étudier l'effet cicatrisant de l'extrait, tous les jours, l'évolution des surfaces des plaies ont été observées. La vitesse de la cicatrisation des plaies a été calculée comme suit :

$$V = \frac{S(n-1) - S_n}{J_n - J(n-1)}$$

V : vitesse de cicatrisation ; **S(n-1)** : surface de la plaie avant n^{ème} jour ; **S_n** : surface de la plaie à chaque mesure ; **J_n-J(n-1)** : variation du temps entre chaque mesure



Figure 1 : Les plaies sur la partie dorsale de l'animal

Tableau 3 : L'évolution de la surface des plaies des rats, observés sur une période de 18 jours

Lots		Témoin	Madécassol 1%	Pommade à 10%	Pommade à 20%
Surfaces des plaies (mm ²) en fonction du temps	J2	75,8 ± 1,15	67,3 ± 1,66*	69,4 ± 1,52*	62 ± 1,73*
	J4	72,8 ± 1,15	49 ± 1,2*	56,3 ± 2,51*	47,3 ± 1,54*
	J7	43 ± 1,73	11 ± 0,86*	15,5 ± 0,28*	10,4 ± 1,15*
	J10	22 ± 0,57	2,3 ± 0,57*	1,9 ± 0,57*	00 ± 00*

Test statistique

Les résultats sont exprimés en moyennes plus ou moins erreurs standards à la moyenne (m ± e.s.m). La comparaison des moyennes entre les lots traités et témoins, a été faite par l'application du test *t* de Student. Le seuil de significativité a été fixé à p < 0,05.

Résultats

Rendement d'extraction

À partir de 500 g de poudres de feuilles sèches macérées dans le mélange méthanol-eau (80:20), 49 g d'extrait ont été obtenus, ce qui donne un rendement de 9,8 %.

Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique effectué sur cet extrait a révélé la présence des alcaloïdes, des stéroïdes en teneur moyenne mais aussi des flavonoïdes et des tanins en faible teneur.

Tableau 2 : Criblage phytochimique de l'extrait brut de *Desmodium velutinum*

Familles chimiques	Teneurs
ALCALOÏDES	++
STÉROÏDES	++
FLAVONOÏDES	+
TANINS	+

+ : Faible ; ++ : Moyenne ; +++ : Forte

Étude de l'activité cicatrisante

D'après les résultats obtenus, le madécassol (1%) et les pommades (PL-10% et PL-20%) réduisent significativement (*p<0,05) la surface des plaies en fonction du temps comparé au témoin (vaseline) (Tableau 3).

Résultats exprimés en $m \pm e.s.m$, $*p < 0,05$ pour $n=3$. Le madécassol 1% a été utilisé comme cicatrisant de référence.

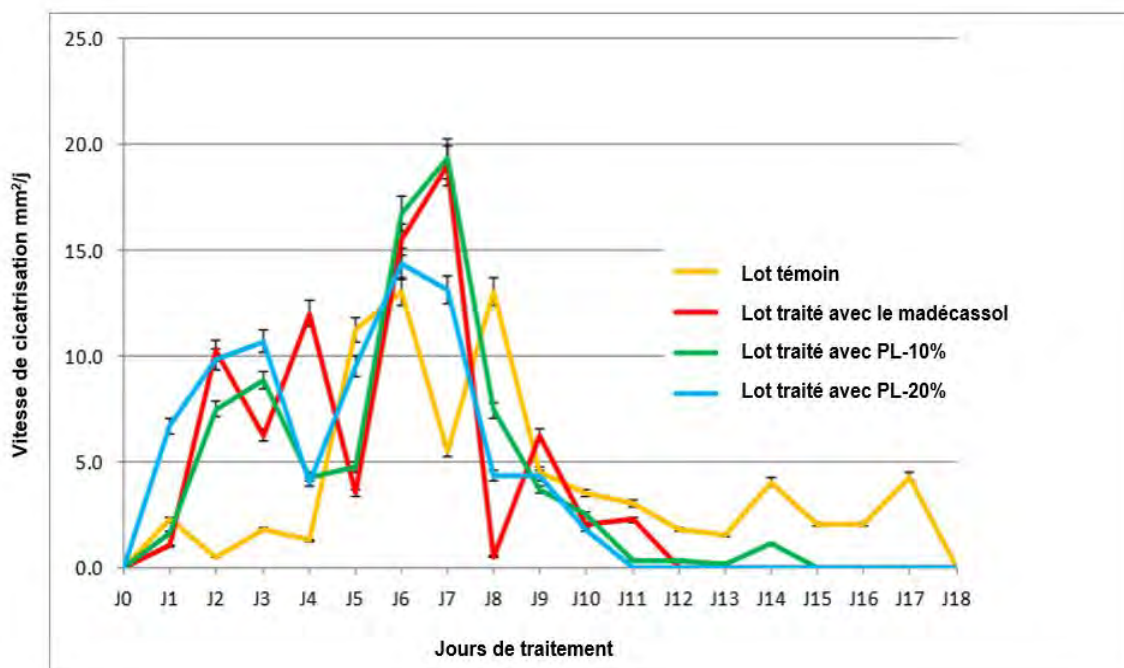


Figure 2 : Effets de l'extrait brut de feuilles de *Desmodium velutinum* sur la vitesse de cicatrisation des plaies dans le temps.

Le madécassol (1%) et les pommades (PL-10% et PL-20%) accélèrent la cicatrisation des plaies. Au 7^{ème} jour (J7), les lots traités avec le madécassol et PL-10% ont atteint le pic de vitesse maximale de 19,3 mm²/j. Pour le lot traité avec PL-20%, le pic maximal apparaît au 6^{ème} jour (J6), avec une vitesse de cicatrisation de 14,3 mm²/j. Le témoin atteint deux pics maximaux identiques l'un au 6^{ème} jour (J6) et l'autre au 8^{ème} jour (J8), avec une vitesse de cicatrisation de 13,3 mm²/j.

Discussion

La cicatrisation des plaies est une cascade d'événements très complexes qui peut être grossièrement divisée en trois phases qui se chevauchent : inflammation, formation de tissu de granulation et remodelage de la matrice extracellulaire (Vipin et Sarvesh, 2011). Les activités biologiques de

la peau sont dues à son interaction avec diverses protéines de liaison. Dans le processus de réparation tissulaire, les cellules inflammatoires favorisent la migration et la prolifération des cellules endothéliales conduisant à la néovascularisation du tissu conjonctif qui synthétisent les matrices extracellulaires, y compris le collagène, entraînant une ré-épithélialisation des tissus blessés (Agarwal et al., 2009). Les résultats obtenus ont montré que l'extrait foliaire de *Desmodium velutinum* présente effectivement une activité cicatrisante.

Son activité cicatrisante pourrait être due à la présence des familles chimiques (alcaloïdes, stéroïdes, flavonoïdes, tanins) détectées lors du criblage phytochimique. Pendant le test, il a été remarqué que l'extrait réduit non seulement la durée du saignement et de l'inflammation mais il accélère également l'épithélialisation, ce qui favorise la fermeture

des plaies. Il a été mentionné dans les travaux menés par Okoli et ses collaborateurs en 2007 ainsi que dans les travaux de Nabil et al., en 2014 que les tanins possèdent une activité hémostatique en précipitant les protéines pour arrêter le saignement.

Le raccourcissement de la phase inflammatoire permet d'aboutir plus rapidement à la phase d'épithélialisation et ainsi permettre l'accélération de la guérison des plaies. D'après les recherches de Santhanam (2009), les alcaloïdes possèdent une activité anti-inflammatoire et selon Sudsai et al., 2013, les flavonoïdes augmentent la migration des fibroblastes au niveau des plaies.

L'épithélialisation et la contraction des plaies traitées avec l'extrait est plus rapide par rapport à celle des témoins. Cette épithélialisation précoce pourrait être due à la présence des tanins et des flavonoïdes, comme l'a démontré l'étude effectuée par Ofori-Kwakye et al., 2011 sur la plante médicinale *Spathodea campanulata* (BIGNONIACEAE).

Conclusion

Les résultats obtenus de ce travail ont permis de démontrer scientifiquement que l'extrait hydroalcoolique de feuilles de *Desmodium velutinum* possède une activité cicatrisante sur les plaies ouvertes expérimentales chez le rat. Il accélère l'hémostase et réduit la durée de la phase inflammatoire. Il favorise la fermeture des plaies en accélérant l'apparition des tissus épithéliaux. Ces activités pourraient être dues à l'effet combiné ou séparé des familles chimiques présentes dans l'extrait. Cette étude a permis de vérifier et de valider l'utilisation traditionnelle de cette plante comme

cicatrisante. Toutefois, des études plus approfondies doivent être réalisées afin d'isoler et d'identifier la ou les molécule(s) active(s) et par la suite élucider leurs mécanismes d'actions pharmacologiques. Néanmoins, cette étude contribue d'une manière générale à la valorisation de la biodiversité végétale et à l'amélioration de la santé pour un meilleur développement durable.

Références bibliographiques

- Kamau J.K., Nthiga P.M., Mwonjoria J.K., Ngeranwa J.J.N., Ngugi M.P., (2016). Anti-Inflammatory Activity of Methanolic Leaf Extract of *Kigelia africana* (Lam.) Benth and Stem Bark Extract of *Acacia hockii* De Wild in Mice. *Journal of Developing Drugs*, DOI: 10.4172/2329-6631.1000156.
- Li W, Dasgeb B, Phillips T, Li Y, Chen M, Garner W. et al. (2005). Wound-healing perspectives. *Dermatol Clin.* ; **23** (2): 181-192.
- Vipin Kumar Garg and Sarvesh Kumar Paliwal, (2011). Wound-healing activity of ethanolic and aqueous extracts of *Ficus benghalensis*. *J Adv Pharm Technol Res*. Doi : 10.4103/2231-4040.82957
- Okoli C. O., Akah P. A., Okoli A. S. (2007). Potentials of leaves of *Aspilia africana* (Compositae) in wound care: an experimental evaluation. *Revue University of Illinois (Chicago)*, **275**: 6- 7.
- Nabil G., Leïla H., Aberkane M. C., Oueld-Mokhtar S. M., Nassima (2014). Évaluation de l'activité hémostatique *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. 2014. *Algerian Journal of Natural Products*, **2,2**: 64-74
- Santhanam G. et Riviere M. (2009). Les plantes médicinales du Piton MontVert. Ed. Association pour les Plantes Aromatiques et Médicales de la Réunion, Sainte-Clotilde 4-5.
- Sudsai T. et al, (2013). Evaluation of the woundhealing property. *Journal of Ethnopharmacology*, **150**, 223-231
- Ofori-kwakye K., Awo A. K., Marcel T. B. (2011). Woundhealing potential of methanol extract of *Spathodea campanulata*. Stem bark formulated into a topical preparation. *Afr. J. Tradit. Complement Altern. Med.*, **8** (3): 218 -223.

- Agarwal PK, Singh A, Gaurav K, Goel S, Khanna HD, Goel RK. (2009). Evaluation of woundhealing activity of extracts of plantain banana (*Musa sapientum var. paradisiaca*) in rats. *Indian J ExpBiol.*; **47**:32–40.
- Michayewicz N. (2013). *Aloe vera*, plante médicinale traditionnellement et largement utilisée depuis des millénaires, aux nombreuses propriétés thérapeutiques. Plante miracle ?
- Boiteau P., (1982). Contribution à l'histoire de Nation malgache. 445pp
- Pousset J. L. (1989). Plantes médicinales Africaines : utilisation pratique. Edition. Agence de coopération culturelle et technique, Ellipses, Paris, 1: 19-95.
- SFMU (2005). *Conférence de Consensus : Prise en charge des plaies aux urgences – texte long*. Edition. Société Francophone de Médecine d'Urgence, Clermont-Ferrand, 2-4.
- Nagori B. ET Solanki R., (2011). Rôle of Medicinal plants in woundhealing. *Research Journal of Medicinal plants*. **5 (4)**: 392-405
- Nkwocha, Chinelo, Chinene, et al, (2018). Effect of *Desmodium velutinum*, Stem Bark Methanolic Extract on Some Antioxidant Enzymes and Vitamins in Acetaminophen-intoxicated Rats. Department of Biochemistry, University of Nigeria, Nsukka, Enugu State, Nigeria
- Anawi et al., (2012). Antipyretic and phytochemical evaluation of the ethanolextract of the leaves of *Desmodium velutinum*. *Asian Journal Pharmacy Life Science*, 2: 135-143
- Isah et al., (2014). Growth Rate and Yield of Two Tomato Varieties (*Lycopersicon esculentum* Mill) under Green Manure and NPK Fertilizer Rate Samaru Northern Guinea Savanna
- Fortin, V. (2005) Etude de régénération de la membrane basilaire au cours de la guérison de plaies cutanées humaines. Université Lavcoll. Histologie : organes, systèmes et appareils. *Revue Faculté de Médecine Pierre Marie Curie*, PCEM2- DCEM1, France, 67-72. CRICKX B., 2005b).
- Wigger-Alberti W., Maraffio B., Wernli M, Elsner P. (1997). Self application of a protective cream. Pit falls of occupational skin protection.