

TABLE DE MATIERES

TABLE DES MATIERES.....	I
LISTE DES TABLEAUX.....	IV
LISTE DES SCHEMAS.....	V
LISTE DES FIGURES.....	VI
LISTE DE PHOTOGRAPHIE.....	VII
LISTE DES ABREVIATIONS.....	VIII
INTRODUCTION.....	1
I. MATERIELS ET METHODES.....	5
I-1. ETUDES PHYTOCHIMIQUES.....	5
A. EXTRACTION CHIMIQUE.....	5
B. FRACTIONNEMENT DE L'EXTRAIT DICHLOROMETHANIQUE (DCM).....	7
C. CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE.....	8
I.2. TESTS PHARMACOLOGIQUES.....	10
I.2.1. ANIMAUX D'EXPERIENCE.....	10
1- Tests <i>in vivo</i>	10
2- Tests <i>in vitro</i>	10

II

I.2.2. PRELEVEMENT DES ORGANES.....	10
1- Fundus isolé de rat.....	10
2- Duodénum isolé de rat.....	11
3- Iléon isolé de cobaye.....	11
I.2.3. PROTOCOLES EXPERIMENTAUX.....	12
1- TESTS <i>in vivo</i>	12
a)- Ulcère de contrainte de SHAY par ligature de pylore.....	12
b)- Ulcère provoqué par l'éthanol 95°.....	13
2- Tests <i>in vitro</i>	14
a)- Tests sur le fundus isolé de rat.....	14
b)- Tests sur le duodénum isolé de rat.....	15
c)- Tests sur l'iléon isolé de cobaye.....	15
d)- Tests des extraits DCM sur le fundus isolé de rat.....	15
3- Tests de toxicité aiguë.....	15

II . ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS..... 17

III.RESULTATS.....18

III.1. ETUDE CHIMIQUE..... 18

III.1.1. RENDEMENT DE L'EXTRACTION..... 18

III.1.2. CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE..... 18

III

III.2. ETUDES PHARMACOLOGIQUES.....	19
III.2.1- Tests <i>in vivo</i>.....	19
a. Effet anti-sécrétoire de l'EMEOH d'AKB 18 F.....	19
b. Effet mucoprotecteur de l'EMEOH d'AKB 18 F.....	22
III.2.2- Tests <i>in vitro</i>.....	25
a)- Activités de l'EMeOH, de l'extrait hénanique et de l'extrait DCM sur la réponse de l'Acétylcholine sur le fundus isolé de rat.....	25
b)- Activités de l'EMeOH, de l'extrait hénanique et de l'extrait DCM sur la réponse de l'Acétylcholine sur le duodénum isolé de rat isolé de rat.....	28
c)- Activités de l'EMeOH, de l'extrait hénanique et de l'extrait DCM sur la réponse de l'Histamine sur l'iléon isolé de rat.....	31
d)- Inhibition de la contraction provoquée par l'Acétylcholine par les fractions de l'extrait DCM.....	34
III.2.3- Tests de toxicité aiguë.....	35
IV- DISCUSSION.....	37
V- CONCLUSION.....	41
REFERENCES BILIOGRAPHIQUES.....	42

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau I :** Méthode utilisée pour le criblage chimique de l'EMeOH
- Tableau II :** Pourcentage de rendement de l'extraction chimique des feuilles d'AKB 18 F.
- Tableau III :** Criblage phytochimique de l'EMeOH de l'AKB 18 F.
- Tableau IV :** Effets de l'administration intra duodénale de EMeOH sur le volume, le pH et l'acidité du suc gastrique après ligature de pylore chez le rat
- Tableau V :** Pourcentage d'inhibition de l'acidité gastrique dans l'ulcère provoqué par la ligature de pylore chez le rat traité avec l'EMeOH d'AKB 18 F
- Tableau VI :** Valeurs des CI50 des différents extraits testés sur fundus isolé de rat.
- Tableau VII :** Valeurs des CI50 des différents extraits testés sur duodénum isolé de cobaye
- Tableau VIII :** Valeurs des CI50 des différents extraits testés sur iléon isolé de cobaye
- Tableau IX :** Pourcentage d'inhibition de chaque fraction de l'extrait DCM sur l'effet contractile de l'Acétylcholine sur fundus isolé de rat.
- Tableau X :** Tableau récapitulatif des résultats du test de toxicité aiguë.

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1 : Mécanisme de la sécrétion de l'acide chlorhydrique (HCl) au niveau de la cellule pariétale.

Schéma 2 : Schéma d'extraction des feuilles de la plante AKB 18 F

Schéma 3 : Schéma du fractionnement de l'extrait dichlorométhanique

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 :** Longueur moyenne et pourcentage d'inhibition de l'hyperhémie en fonction de la dose des produits administrés.
- Figure 2 :** Courbe effet concentration de l'Acétylcholine en absence et en présence de l'extrait méthanolique (sur fundus isolé de rat)
- Figure 3 :** Courbe effet concentration de l'Acétylcholine en absence et en présence de l'extrait hexanique (sur fundus isolé de rat)
- Figure 4 :** Courbe effet concentration de l'ACh en absence et en présence de l'extrait dichlorométhanique (sur fundus isolé de rat)
- Figure 5 :** Courbe effet concentration de l'Acétylcholine en absence et en présence de l'extrait méthanolique (sur duodénum isolé de rat)
- Figure 6 :** Courbe effet concentration de l'Acétylcholine en absence et en présence de l'extrait hexanique (sur duodénum isolé de rat)
- Figure 7 :** Courbe effet concentration de l'Acétylcholine en absence et en présence de l'extrait dichlorométhanique (sur duodénum isolé de rat)
- Figure 8 :** Courbe effet concentration de l'Histamine en absence et en présence de l'extrait méthanolique (sur iléon isolé de rat)
- Figure 9 :** Courbe effet concentration de l'Histamine en absence et en présence de l'extrait hexanique (sur iléon isolé de rat)
- Figure 10 :** Courbe effet concentration de l'Histamine en absence et en présence de l'extrait dichlorométhanique (sur iléon isolé de rat)

LISTE DE PHOTOGRAPHIE

Photographies 1 :

- a- Estomac d'un Rat témoin après administration de l'éthanol
- b- Estomac d'un Rat traité avec 50 mg/kg d'EMeOH
- c- Estomac d'un Rat traité avec 75 mg/kg d'EMeOH
- d- Estomac d'un Rat traité avec--- 100 mg/kg d'EMeOH

LISTE DES ABREVIATIONS

ACh : acétylcholine

CI : concentration inhibitrice

DCM : dichlorométhanique

ECL : cellule entérochromaffine like

E.DCM : Extrait dichlorométhanique

E.Hex : Extrait hexanique

E_{max} : effet maximal

EMeOH : extrait méthanolique

HCl : acide chlorhydrique

MeOH : méthanolique

PG E : prostaglandine E

UD : ulcère duodéal

UG : ulcère gastrique

UGD : ulcère gastroduodéal

INTRODUCTION

La Médecine Traditionnelle reste encore le principal recours de la majorité des populations des pays en voie de développement pour soigner leurs maladies de tous les jours. Cette médecine utilise des substances d'origine animale, minérale mais surtout végétale. (DIALLO Drissa, 2000)

De nos jours, force est de reconnaître que, malgré les multiples progrès de la médecine moderne, il y a un net regain d'intérêt vis à vis de la médecine et de la pharmacopée traditionnelle. Les raisons sont apparemment fort simples : les médicaments importés sont hors de la portée d'une large majorité des populations africaines et ne sont pas toujours disponibles dans les structures de distribution. De plus, dans la pharmacopée traditionnelle locale, nombreuses sont les recettes qui ont fait et continuent de faire leurs preuves d'efficacité (MILLOGO. H. et coll., 2005)

Concernant l'ulcère gastroduodéal (UGD), les Malgaches surtout en milieu rural ont recours aux plantes médicinales qui ont une activité anti-ulcéreuse comme *Mystroxylon aethiopicum* (Fanazava), *Clidemia hirta* (Mazambody), *Harongana madagascariensis* (Harongana), *Olex humbertii* (Netsy ou Remaintso) et *Centella asiatica* (Talapetraka) ; ces plantes ont été l'objet d'étude chimique et pharmacologique mais beaucoup d'autres plantes n'ont pas encore été étudiées ; parmi elles, figure la plante AKB 18 F qui est utilisée empiriquement contre les maux d'estomac.

L'ulcère gastroduodéal (UGD) n'est pas une maladie mortelle mais qui peut devenir nocive quand la maladie s'évoluera en hémorragie, perforation, sténose ou même en un état cancéreux. L'ulcère gastroduodéal est une affection fréquente chez l'homme et chez la femme, surtout à l'âge adulte. De nos jours, on estime qu'environ 10 % de la population des pays industrialisés est susceptible de souffrir un jour ou l'autre d'un ulcère. Les ulcères duodénaux sont les plus fréquents (MICHELINE F., 2004).

L'UGD est une maladie touchant essentiellement l'estomac et la portion initiale du duodénum. Cette maladie est due à une perte de substance protectrice au niveau de la muqueuse gastroduodéale (MGD). La participation de l'acide chlorhydrique et de la pepsine dans leur pathogénie est fondamentale (BERARDI, 2000 ; CLAERBOUT J.F, 2002).

Physiologiquement, il existe un équilibre entre les facteurs corrosifs (HCl et pepsine) et les facteurs protecteurs de la MGD (mucus, ion carbonate, flux sanguin et épithélium). L'UGD s'installe quand les facteurs corrosifs dominent les moyens de défense de la MGD. Il est généralement admis que dans l'ulcère duodénal (UD), le facteur dominant est l'agression chlorhydropeptique alors que dans l'ulcère gastrique (UG) c'est l'altération de la muqueuse gastrique (LABAYLE, 2000; CHAMOUARD P, 2002).

Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de la perturbation de cet équilibre, parmi eux figurent l'alcool, les sels biliaires, les acides organiques faibles, les salicylés, le tabac et la prise de substances nocives entraînent aussi la défaillance des défenses de la MGD (CLAERBOUT J.F et coll., 2002 ; ZENECA A, 2004).

De nos jours, l'ulcère gastroduodénal (UGD) est dû aux facteurs environnementaux comme le stress, l'anxiété, le manque de sommeil et la peur. Ces facteurs exogènes stimulent l'activité parasympathique d'où l'installation d'ulcère gastroduodénal par hypersécrétion d'acide chlorhydrique. Les cellules pariétales du fundus sécrètent l'ion H^+ grâce à la pompe H^+/K^+ ATPase et les ions H^+ forment avec les ions Cl^- de la lumière gastrique de l'acide chlorhydrique. C'est l'excès de cette sécrétion acide qui provoque des lésions au niveau de la MGD. Les cellules principales quant à elles sécrètent les pepsinogènes qui sont des précurseurs de la pepsine, enzyme protéolytique en milieu acide. La pepsine est capable d'hydrolyser les chaînes glycoprotéiniques de la muqueuse gastrique et leur fait perdre leurs propriétés viscoélastiques responsables de la lésion tissulaire (CLAERBOURT J.F et coll., 2002).

Au niveau des cellules pariétales de l'estomac, il y a trois types de récepteurs : les récepteurs à l'Histamine type 2 (H_2), les récepteurs à l'Acétylcholine type M_1 et les récepteurs à la gastrine.

- La stimulation des récepteurs M_1 et les récepteurs à la gastrine fait intervenir les ions calciums intracellulaires (Ca^{2+}). L'augmentation des concentrations intracellulaires en Ca^{2+} et la formation du complexe Calcium- Calmoduline (Ca^{2+} - CaM) déclenchent la phosphorylation de la pompe H^+/K^+ ATP ase favorisant la sortie de l'ion H^+ vers la lumière gastrique. (ALLAIN P., 2004).
- La stimulation des récepteurs type H_2 par l'histamine provoque la libération basale des ions H^+ passant par la phosphorylation de la pompe H^+/K^+ ATPase par la protéine kinase A stimulée par augmentation d'AMPC intracellulaire.

Le schéma 1 résume le mécanisme de la sécrétion de l'acide HCl au niveau de la cellule pariétale.

Dans ce travail intitulé « ETUDE DE L'ACTIVITE ANTI-ULCEREUSE DE FEUILLES DE LA PLANTE AKB 18 F », nous avons évalué d'une part, l'activité anti-ulcéreuse de l'extrait méthanolique (EMeOH) de feuilles d'AKB 18 F chez le rat par des tests *in vivo*, et d'autre part, par des tests *in vitro*, comparé l'effet des extraits méthanolique, dichlorométhanique et hénanique vis à vis de l'activité contractile de l'Acétylcholine sur fundus et duodénum isolés de rat, et l'effet de l'Histamine sur iléon isolé de cobaye afin de déterminer l'extrait actif de la plante AKB 18 F.

Cette étude comporte quatre parties :

- La première partie présente l'introduction et le rappel physiopathologique de l'ulcère gastroduodénal
- La deuxième partie est consacrée à la présentation des Matériels et Méthodes
- La troisième partie rapporte les résultats obtenus
- Dans la quatrième partie, est discuté l'ensemble des résultats
- Une conclusion générale termine ce travail.

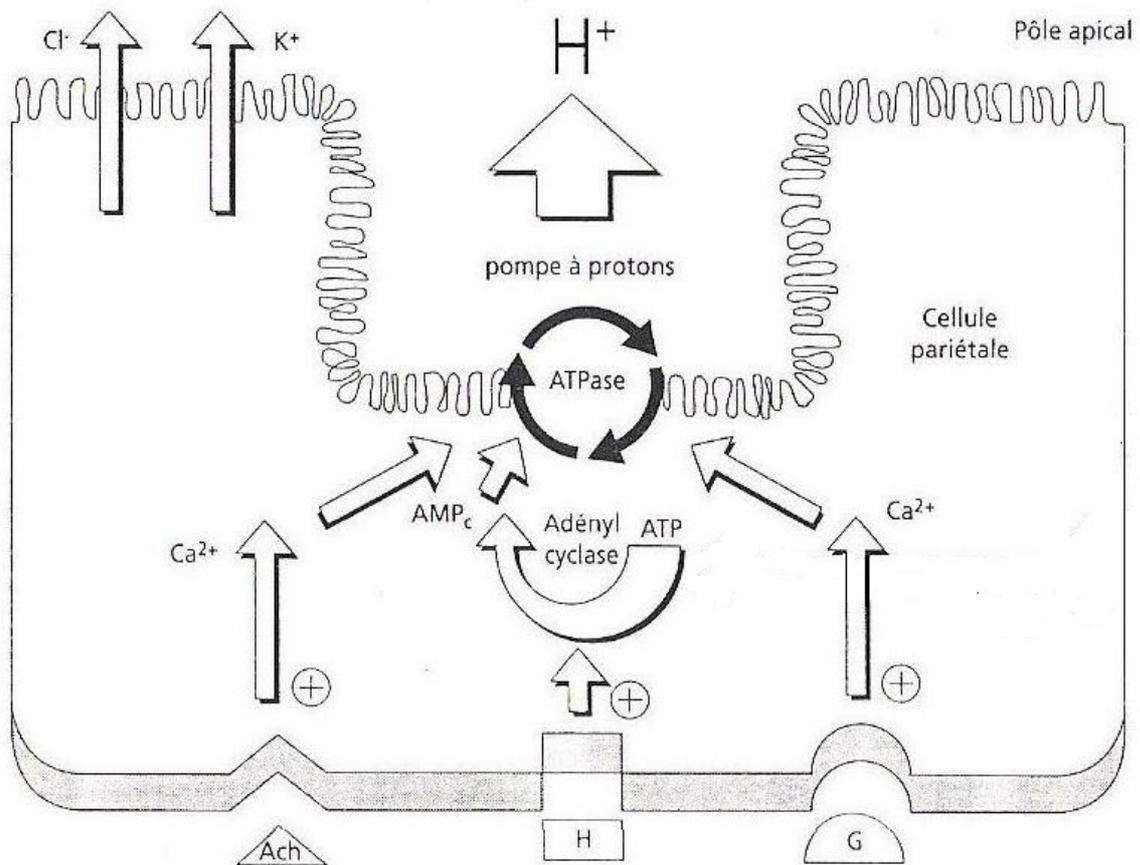


Schéma 1 : Le mécanisme de la sécrétion de l'acide HCl au niveau de la lumière gastrique.

Source : Livre de CLAERBOUT J.F., DINE T.

Traitement de l'ulcère gastro-duodéal

Pharmacie clinique et thérapeutique, 2^{ème} édition, p. 202

H : Histamine, ACh : acétylcholine, G : Gastrine

I-MATERIELS ET METHODES

I.1- ETUDES PHYTOCHIMIQUES :

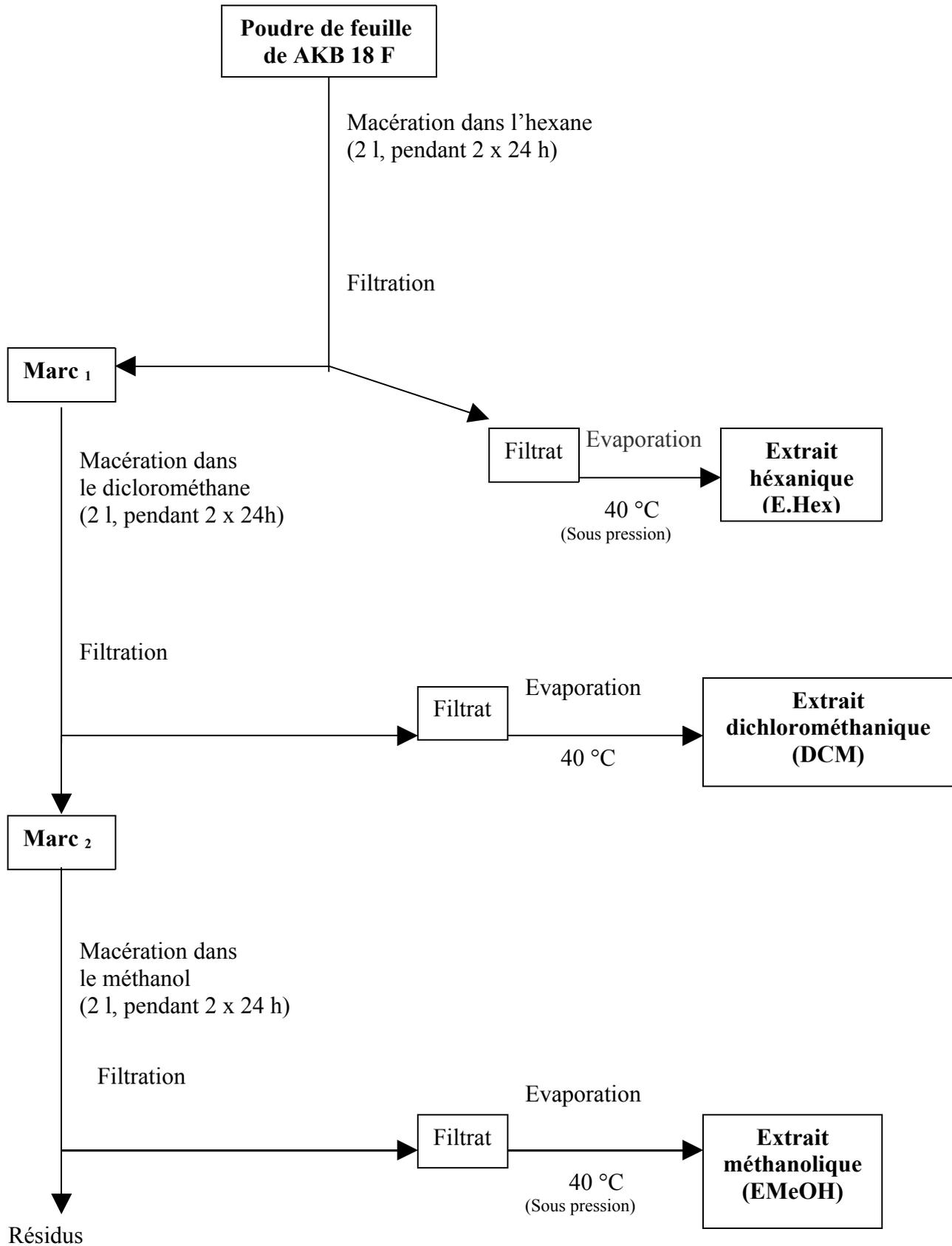
A. EXTRACTION CHIMIQUE :

La plante AKB 18 F a été collectée dans la province d'Antananarivo en mars 2005.

Après séchage à l'ombre, les feuilles ont été broyées et 640 grammes de poudre de ces feuilles ont été macérés dans des solvants de polarité croissante, hexane, dichlorométhane et méthanol respectivement. Chaque extraction a duré 24 heures sous agitation à la température de la salle et a été repris 2 fois.

Les extraits obtenus ont été pesés pour calculer le rendement des extractions effectuées pour obtenir les différents extraits.

Le schéma 2 ci-après montre les différentes étapes de l'extraction des feuilles de la plante AKB 18 F.



Schéma₂ : Schéma d'extraction de Feuilles de la plante AKB 18 F

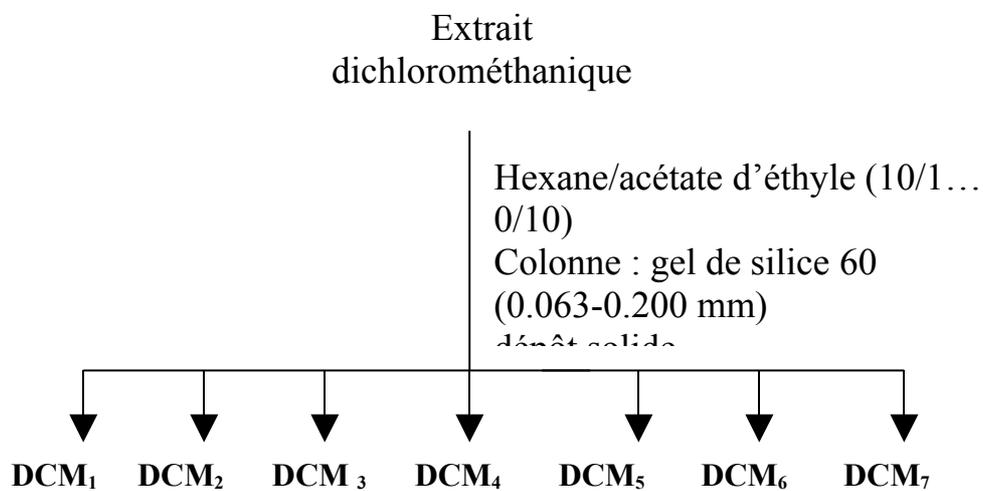
B. FRACTIONNEMENT DE L'EXTRAIT DICHLOROMETHANIQUE (DCM) :

L'extrait DCM a été déposé à la surface d'une colonne chromatographique (450x24 mm) dont la phase stationnaire est constituée par le gel de silice 60 (0.063-0.200 Merck).

L'éluant utilisé est un mélange d'hexane/acétate d'éthyle (10/1 à 0/10). Les conditions de séparation ont été optimisées en utilisant la chromatographie sur couche mince (CCM) dont la phase stationnaire est constituée par le gel de silice 60 F₂₅₄ Merck.

A l'issue de ce fractionnement, sept (7) fractions ont été obtenues et soumises aux tests pharmacologiques.

Le schéma₃ résume le fractionnement de l'extrait DCM.



DCM : dichlorométhanique

Schéma₃ : Schéma du fractionnement de l'extrait dichlorométhanique.

C. CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE :

Ce test a pour but de déterminer les différentes familles chimiques présentes dans l'EMeOH de la plante AKB 18 F et d'estimer qualitativement leur présence dans l'extrait. Il est basé sur l'apparition de complexes insolubles qui se présentent sous forme de précipités ou sur un changement de la coloration de l'extrait en présence de différents réactifs spécifiques pour chaque famille chimique.

Le Tableau I résume la méthode utilisée pour le criblage des familles chimiques présentes dans l'EMeOH.

Tableau I : Méthode utilisée pour le criblage chimique de l'EMeOH (FONG et FARNSWORTH, 1977).

Familles chimiques	Tests	Réactifs	Observation	Indication
ALCALOÏDES	- Dragendorff - Mayer - Wagner	(NO ₂)BI/IK HgCl ₂ /IK I ₂ /IK	Précipitation Précipitation Précipitation	Alcaloïdes
COMPOSES PHENOLIQUES		2-3 gouttes de FeCl ₃ Ammoniaque Méthanol chauffé	Précipitation Fluorescence bleue Coloration rose	Tanin Coumarine Flavonoïde
SAPONINES	Mousse	Agitation dans un tube à essai avec de l'eau	Persistance de la mousse après 30 mn de repos	Saponines
STEROÏDES	- Lieberman - Salkowski - BadjetKedde	3 gouttes d'anhydride acétiques + H ₂ SO ₄ concentré 1 ml d'H ₂ SO ₄ concentré grains d'acide picrique + base	Coloration pourpre, violet ou bleu vert Anneau de séparation rouge Coloration rouge	Stéroïde Stérols insaturés Stéroïde lactonique
QUINONES		benzène+ base	Coloration rouge de la phase alcaline	Quinone
POLYSACCHARIDES		Alcool-eau (1 : 3)	Précipitation	Polysaccharide

I.2- TESTS PHARMACOLOGIQUES :

I.2.1. ANIMAUX D'EXPERIENCE :

1- Tests *in vivo* :

Des rats adultes de souche Wistar de sexe mâle ou femelle pesant entre 180 et 200 g ont été utilisés pour tous les tests *in vivo*.

Quant aux tests de toxicité aiguë, ce sont des souris de souche Swiss mâle ou femelle, pesant entre 20 et 30 g qui ont été utilisées.

2- Tests *in vitro* :

Des rats adultes de souche Wistar de deux sexes pesant entre 180 et 200g et des cobayes tricolore mâle et femelle pesant entre 300 et 350g ont été utilisés pour le prélèvement d'organe isolé.

Les animaux ont été mis à jeûn 24 heures avant le jour d'expérience avec accès libre à l'eau pour les tests *in vivo* et *in vitro*, quant au test de toxicité aiguë, la durée du jeûne des animaux a été de 12 heures.

I.2.2. PRELEVEMENT DES ORGANES :

1)- Fundus isolé de rat :

Le Rat a été exsanguiné après avoir reçu un coup sec sur la nuque. Après ouverture de l'abdomen, l'estomac a été prélevé. Le fundus, partie supérieure de l'estomac a été prélevé puis rapidement mis dans la solution de Jallon spécifique pour fundus dont la composition exprimée en milli mole (m mol) est la suivante :

NaCl	18,12
NaHCO ₃	1
Glucose	1
KCl	0,84
CaCl ₂	0,12

Le fundus, une fois prélevé, a été ensuite ouvert le long de sa petite courbure, et découpé délicatement en lanière suivant sa longueur (TUNER, 1965). Un segment d'environ 2 cm a été monté dans la cuve à organe isolé contenant 20 ml de la solution de Jallon et aéré avec du carbogène (95% O₂ et 5% CO₂).

2)- Duodénum isolé de rat :

Le duodénum a été prélevé après l'ouverture de l'abdomen. L'organe a été ensuite mis dans la solution de Tyrode pour intestin dont la composition en milli mole (mM) est la suivante :

NaCl	15.48
Glucose	2
NaHCO ₃	1.68
KCl	0.4
MgCl ₂	0.4
CaCl ₂	0.3
NaHPO ₄	0.11

Après nettoyage, un segment d'environ 2 cm de l'organe a été monté dans la cuve à organe isolé contenant 20 ml de la solution de Tyrode et aéré avec du carbogène.

3)- Iléon isolé de cobaye :

L'iléon a été prélevé après l'ouverture de l'abdomen du Cobaye. L'organe a été ensuite mis dans la solution de Tyrode pour intestin. Après nettoyage, un segment d'environ 2 cm de l'organe a été monté dans la cuve à organe isolé contenant 20 ml de la solution de Tyrode et aéré avec du carbogène (Wardle et Sanger en 1993).

I.2.3. PROTOCOLES EXPERIMENTAUX :

1- TESTS *in vivo*:

Pour mesurer l'activité anti-ulcéreuse de l'EMeOH de Feuilles de AKB 18 F, des tests utilisant deux techniques ont été effectués. Le principe de ces expériences est de provoquer expérimentalement l'ulcère gastrique chez le rat.

a)- Ulcère de contrainte de SHAY par ligature de pylore : (Shay et coll., 1965)

Les animaux ont été repartis en 6 lots de six animaux, dont un lot témoin, un lot de référence et quatre lots traités.

Le jour de l'expérience, le rat a été anesthésié à l'éther son abdomen a été ouvert sous anesthésie et la ligature du pylore a été faite. Juste après cette opération, de l'eau distillée (pour le lot témoin) ou de la cimétidine (pour le lot de référence) à 100 mg / Kg ou de l'EMeOH à 25, 50, 75 ou 100 mg/ kg ont été administrés par voie intra duodénale.

Après l'administration de ces produits, l'abdomen a été refermé par des sutures et lavé avec du sérum physiologique (NaCl 9‰). Quatre heures après, chaque animal a été sacrifié par inhalation d'éther.

Une ligature a été placée au niveau de l'œsophage près du diaphragme et l'estomac a été prélevé. La sécrétion contenue dans l'estomac a été versée dans un tube gradué de la centrifugeuse après réouverture de la ligature du côté du pylore. Ce volume total a été mesuré puis centrifugé à 2 000 tours par minute pendant 10 min. Le volume du surnageant et le pH ont été mesurés. Le contenu en acide total de la sécrétion gastrique a été déterminé par titrage avec 0.01N de NaOH.

Trois gouttes de phénol phtaléine ont été ajoutées sur le surnageant puis de la solution de NaOH 0,01 N a été versée goutte à goutte dans le mélange jusqu'à l'obtention d'un virage en coloration rose pour mesurer l'acidité totale du surnageant.

Le volume total de NaOH versé sur le mélange a été enregistré pour connaître le volume de la base (NaOH) utilisé durant la titration. L'acidité totale du suc gastrique a été calculée en utilisant la relation $N_a \cdot V_a = N_b \cdot V_b$ où N_a représente la normalité du suc gastrique, N_b la normalité de la NaOH, V_b le volume de la NaOH versée et V_a le volume du surnageant.

Ainsi, on applique la relation :

$$\text{ACIDITE TOTALE} = \frac{N_b \cdot V_b}{V_a}$$

Les normalités sont exprimées en milliéquivalent par litre (mEq/l) et les volumes en millilitre (ml).

b)- Ulcère provoqué par l'éthanol 95° : (SAIRAM et coll., 2002)

Les rats ont été répartis en 5 lots de six animaux : un lot témoin recevant par gavage 1 ml d'eau distillée, quatre lots traités avec différentes doses d'EMeOH (25, 50 et 75 mg/kg) et un lot de référence avec Lansoprazole à la dose de 20 mg/kg.

Une heure après l'administration de chaque produit, tous les animaux ont reçu 1 ml d'éthanol 95° par gavage.

Après une heure de l'administration de l'éthanol, tous les animaux ont été sacrifiés. L'abdomen a été ouvert l'estomac a été ensuite prélevé puis ouvert le long de sa grande courbure et la longueur de l'hyperhémie a été mesurée.

La valeur moyenne de la longueur des hyperhémies de chaque lot a été calculée et comparée à celle des autres lots.

Pour les tests d'ulcère de Shay et l'ulcère provoqué par l'éthanol 95°, l'EMeOH a été solubilisé dans de l'éthanol 5%.

2- Tests in vitro :

Pour mesurer et comparer l'effet de chaque extrait vis-à-vis des agents contracturants, des tests sur organes isolés ont été effectués. Le principe de l'expérimentation est de provoquer à l'histamine ou de l'acétylcholine la contraction de l'organe puis de mesurer la variation de cet effet contractile en absence et en présence de l'extrait testé.

a- Tests sur le fundus isolé de rat :

Une de deux extrémités du Fundus a été fixée au fond de la cuve et l'autre a été reliée à un capteur isotonique de marque Ugo-basile avec une tension de base de 1 g. La cuve a été maintenue à 37 °C et aérée avec du carbogène (95 % O₂, 5 % CO₂).

L'organe a été rincé 15 min après le montage dans la cuve puis laissé s'adapter aux conditions expérimentales pendant 45 min appelé période d'équilibration. Pendant ce temps, la solution physiologique dans la cuve est changée toutes les 15 min. Après cette période, une sensibilisation de l'organe a été effectuée en injectant dans la cuve une concentration de 10⁻² M d'acétylcholine. Le choix de cette concentration ainsi que les concentrations d'acétylcholine (ACh) utilisées pendant le test a été fixé à partir des tests préliminaires.

Après 60 minutes d'équilibration, de l'ACh à concentrations croissantes et cumulatives de 10⁻⁸ M à 10⁻² M ont été injectées dans le bain. Les réponses contractiles provoquées par l'ACh ont été enregistrées. Après cela, l'organe a été rincé et laissé au repos pendant 15 min. Un test de reproductibilité a été fait avec les mêmes concentrations croissantes et cumulatives de l'ACh. Ces deux tests ont permis de mesurer l'amplitude de l'effet maximal (E_{max}) de l'ACh. Un autre rinçage a été effectué et le fundus a été laissé de nouveau au repos pendant 15 min. Après ce délai, l'extrait (héxanique, dichlorométhanique ou méthanolique) a été injecté et incubé respectivement pendant 15 min dans la cuve. Passé ce délai et sans lavage des nouvelles injections d'ACh avec les mêmes concentrations (de 10⁻⁸ M à 10⁻² M) ont été effectuées et les réponses ont été mesurées.

La variation de l'effet maximal (E_{max}) de l'ACh en absence et en présence de l'extrait a été mesurée.

Avec des concentrations croissantes de l'extrait à tester et le pourcentage d'inhibition de la contraction provoquée par l'agent contracturant utilisé, la CI₅₀ de l'extrait a été calculée en utilisant la régression linéaire.

b- Tests sur le duodénum isolé de rat :

Le duodénum isolé de rat a été maintenu à 37 °C, aérée avec du carbogène et la tension de base à 1 g.

La période d'équilibration qui dure 60 min a été entrecoupée de lavages toutes les 15 min. La contractilité de l'organe a été testée avec de l'ACh à $5 \cdot 10^{-3}$ M.

Les concentrations d'ACh utilisées ont été de 10^{-8} M à 10^{-4} M pour tous les tests. Les réponses ont été mesurées à l'aide d'un capteur isotonique de marque Ugo-basile relié à un enregistreur de même marque.

c- Tests sur l'iléon isolé de cobaye :

La préparation a été maintenue à 37 °C, aérée avec du carbogène et la tension de base a été fixée à 1 g.

La contractilité de l'iléon a été testée avec de l'histamine à $5 \cdot 10^{-5}$ M.

Les concentrations d'Histamine utilisées ont été de 10^{-9} à 10^{-5} M pour tous les tests les réponses mesurées à l'aide d'un capteur isotonique de marque Ugo-basile relié à un enregistreur de même marque.

d- Tests des extraits DCM sur le fundus isolé de rat:

Pour déterminer la fraction la plus active de l'extrait DCM, des tests sur le fundus isolé de rat ont été effectués.

Le fundus isolé de rat a été maintenu à 37 °C, aéré avec du carbogène et la tension de base à 1 g. La période d'équilibration qui dure 60 min a été entrecoupée de lavages toutes les 15 min. La contractilité de l'organe a été testée avec de l'ACh à 10^{-2} M. Après la période d'équilibration, un autre rinçage a été effectué et le fundus a été laissé au repos pendant 15 min. Après ce délai, chaque fraction (DCM₁ à DCM₇) de concentration 0.01 mg/ml a été injectée et incubée séparativement pendant 15 min dans la cuve. Passé ce délai et sans lavage des nouvelles injections d'ACh avec les mêmes concentrations (de 10^{-8} M à 10^{-2} M) ont été effectuées et les réponses mesurées.

La variation de l'effet maximal (Emax) de l'ACh en absence et en présence de chaque fraction a été mesurée afin de calculer le pourcentage d'inhibition de chaque fraction de l'extrait DCM sur l'effet contractile de l'Ach.

Il est à noter que pour tous les tests, les extraits ont été dissout dans du DMSO 5%. Un organe a été utilisé pour tester une concentration de chaque extrait.

3- Tests de toxicité aiguë : (SOUZA BRITO et coll., 1998)

Pour étudier les signes d'intoxication et mesurer le taux de mortalité lors de l'administration de l'extrait d'AKB 18F des tests de toxicité ont été réalisés.

Les souris ont été réparties en 6 lots de 6 animaux : le lot témoin a reçu de l'eau distillée et les lots traités ont reçu des doses croissantes de l'extrait méthanolique (0.5, 1, 1.5, 2 et 3 g/kg) par voie orale. Les animaux ont été observés 5, 15, 30 min, et à 1, 2, 4 et 6 heures après l'administration de l'eau distillée ou de l'EMeOH ; puis ils ont été observés une fois par jour pendant deux semaines. Les animaux ont été privés de nourriture et d'eau le jour de l'expérience mais le lendemain jusqu'au quatorzième jour, ils ont reçu de la nourriture et de l'eau à volonté.

II- ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS :

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne des valeurs obtenues plus ou moins l'écart type réduit ($X \pm s.e.m$). Pour la comparaison des résultats obtenus, le test « t » de Student a été utilisé et la valeur de $p < 0.05$ a été considérée comme significative.

III-RESULTATS

III.1- ETUDE CHIMIQUE:

III.1.1. RENDEMENT DE L'EXTRACTION :

Les résultats du rendement de l'extraction des feuilles d'AKB 18 F sont rapportés sur le tableau II.

Il est de 2.82% pour l'extrait hexanique, 0.99% pour l'extrait dichlorométhanique (DCM) et de 8.52% pour l'extrait méthanolique (EMeOH).

Tableau II : Pourcentage de rendement de l'extraction chimique des feuilles d'AKB 18F.

Extrait	Rendement (%)
MeOH	8.52
Héxanique	2.82
DCM	0.99

III.1.2. CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE :

Le tableau III présente le résultat du criblage phytochimique de l'EMeOH.

Dans l'extrait méthanolique de feuilles d'AKB 18 F, le criblage phytochimique montre la présence abondante de coumarines, de stérols insaturés et de stéroïdes tandis que les quinones, les alcaloïdes et les flavanols existent en quantité faible. D'autre part, on note l'absence des tanins, des saponines et des polysaccharides.

Tableau III : Criblage phytochimique de l'EMeOH de l'AKB 18 F.

Familles chimiques	Présence Relative
Alcaloïdes	+
Flavanols	+
Quinones	++
Coumarines	+++
Stérols insaturés	+++
Stéroïdes	+++
Tanins	-
Saponines	-
Polysaccharides	-

Légendes : +++ : présence abondante
++ : présence à moyenne concentration
+ : état de trace
- : absence

III.2- ETUDES PHARMACOLOGIQUES :

III.2.1- Tests *in vivo* :

c. Effet anti-sécrétoire de l'EMeOH d'AKB 18 F :

Le tableau IV rapporte les résultats de l'effet de l'administration de l'EMeOH sur le volume total et le pH du suc gastrique chez le rat.

Ces résultats montrent que chez le lot témoin le volume total du suc gastrique est de 5.65 ± 0.25 ml, la cimétidine (100 mg/kg) le diminue jusqu'à 2.84 ± 0.184 ml et dans les mêmes conditions, l'administration de dose croissante de l'EMeOH (25, 50 et 75 mg/kg) diminue significativement et de façon dose dépendante le volume gastrique. Une diminution de volume jusqu'à 3 ± 0.41 ml est observée après administration de 75 mg/kg de l'EMeOH ($p < 0.001$).

Quant à la valeur du pH intra gastrique, elle augmente chez les animaux traités avec l'EMeOH par rapport à celle des animaux témoins. Ainsi, la valeur moyenne du pH chez le lot témoin est de $1,75 \pm 0,07$ tandis qu'à partir de la dose 50 mg/kg elle augmente de façon significative et atteint $3,71 \pm 0,31$ ($p < 0,001$) à la dose de 75 mg/kg. Quant aux animaux traités avec la cimétidine à la dose de 100 mg/kg, le pH augmente à $3,91 \pm 0,24$

Tableau IV : Effets de l'administration intra duodénale de EMeOH de AKB 18 F sur le volume et le pH gastrique après ligature de pylore chez le Rat ($\bar{X}\pm s.e.m$; n=6)

Produits Administrés	Doses (mg/kg)	n	Volume total du suc gastrique (ml)	pH du suc gastrique
Eau distillée		6	5,65±0,25	1,75±0,07
Cimétidine	100	6	2,84±0,18***	3,91±0,24***
EMeOH	25	6	5,50±0,27 N.S	1,96±0,04NS
	50	6	3,73±0,58*	3,10±0,38***
	75	6	3,00±0,41***	3,71±0,31***

*** : $p < 0,001$; ** : $p < 0,01$; * : $p < 0,05$; NS : Non Significatif

Le tableau V ci-après rapporte le pourcentage d'inhibition de l'acidité gastrique après administration intra duodénale de doses croissantes de l'EMeOH allant de 25 à 75 mg/kg.

Tableau V : Pourcentage d'inhibition de l'acidité gastrique dans l'ulcère provoqué par la ligature de pylore chez le rat traité avec l'EMeOH d'AKB 18 F ($\bar{X}\pm s.e.m$; n=6)

Produits Administrés	Doses (mg/kg)	n	Acidité gastrique (mEq/l/4h)	Pourcentage d'inhibition de l'acidité gastrique (%)
Eau distillée		6	145,00±6,94	0
Cimétidine	100	6	54,50±2,39***	62,41±1,66***
EMeOH	25	6	111,00±4,08**	20,68±3,08**
	50	6	64,40±3,34***	55,32±2,33***
	75	6	49,50±2,36***	68,47±1,66***

*** : $p < 0,001$; ** : $p < 0,01$; * : $p < 0,05$

Ces résultats montrent l'administration de doses croissantes de l'EMeOH diminue l'acidité gastrique de façon dose dépendante et significative. La diminution est de $49,50 \pm 2,36$ mEq/l/4h ($p < 0,001$) à une dose de 75 mg/kg par rapport au lot témoin ($145,00 \pm 6,94$ mEq/l/4h).

Le pourcentage d'inhibition de l'acidité gastrique est de 68,47% à la dose 75 mg/kg.

b. Effet mucoprotecteur de l'EMEOH d'AKB 18 F :

L'administration de l'éthanol 95° par voie orale induit l'apparition de l'hyperhémie qui est due à une stase du flux sanguin de la muqueuse gastroduodénale contribuant au développement d'hémorragie et de nécrose et se présente sous forme de bandes rouges sur la muqueuse gastrique.

La photographie 1 montre l'état de l'estomac après administration de l'alcool 95° chez les rats témoins et traités avec les doses 50, 75 et 100 mg/kg de l'EMeOH d'AKB 18 F où on note une diminution des hyperhémies.

Quant à la figure 1, elle montre la longueur moyenne de l'hyperhémie chez les rats témoins et traités avec du Lanzor® et avec des doses croissantes d'EMeOH.

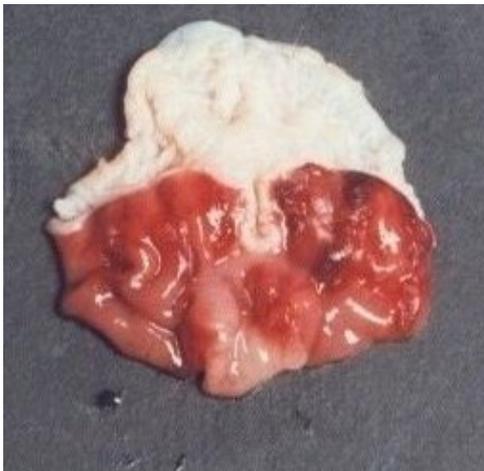
Ces résultats montrent que la longueur moyenne de l'hyperhémie est diminuée après administration de l'EMeOH et atteint 89,58% à la dose de 100 mg/kg ($p < 0,001$).



a



b



c



d

Photographies 1 : Etat de l'estomac du rat :

a : Témoin après administration de l'éthanol 95°

b : Traité avec 50 mg/kg de l'EMeOH

c : Traité avec 75 mg/kg de l'EMeOH

d : Traité avec 100 mg/kg de l'EMeOH

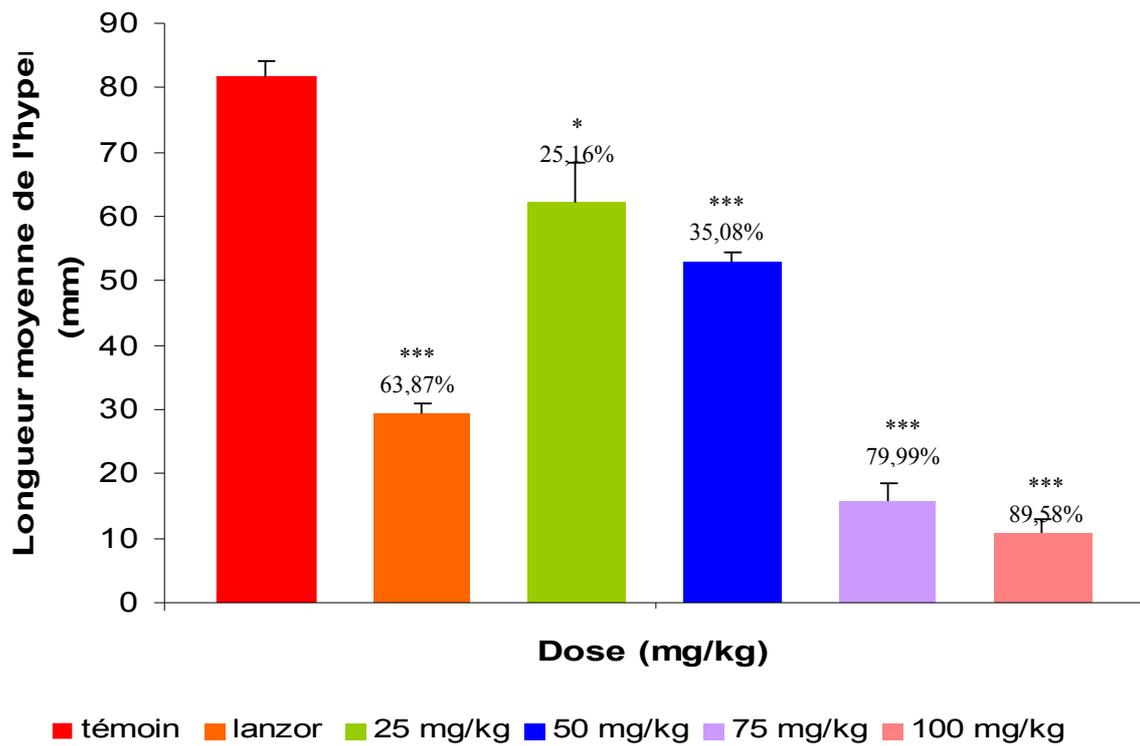


Figure 1 : Longueur moyenne et pourcentage d'inhibition de l'hyperhémie chez les rats témoin, les rats traités avec du Lanzor® et l'EMeOH d'AKB 18 F (n=6)

X± s.m.e, *** : p< 0.001, ** : p <0.01, * : p<0.05

III.2.2-Tests *in vitro* :

a. Activités de l'EMeOH, de l'extrait héxanique et de l'extrait DCM sur la réponse de l'Acétylcholine sur le fundus isolé de rat :

L'administration de l'Acétylcholine dans le bain provoque une contraction concentration dépendante avec une CE_{50} égale à $3.09 \pm 0,15 \times 10^{-5}$ M et l'effet maximal (E_{max}) est atteint à une concentration de 10^{-2} M, CE_{50} est la concentration d'Acétylcholine utilisée pour avoir la moitié de la contraction maximale.

La courbe effet- concentration de l'Acétylcholine est déplacée vers la droite et l'effet maximal est déprimé en présence de concentrations croissantes d'EMeOH allant de 0,5 à 1,5 mg/ml (figure 2), d'extrait héxanique de 0,1 à 0,5 mg/ml (figure 3) ou de d'extrait dichlorométhanique de 0,01 à 0,1 mg/ml (figure 4). Les différents extraits de AKB 18 F inhibent de façon concentration dépendante l'effet contractile de l'Acétylcholine.

Le tableau VI rapporte les valeurs de la CI_{50} des extraits testés, CI_{50} est la concentration de l'extrait qui inhibe 50% de la contraction maximale provoquée par l'Acétylcholine sur le fundus isolé de rat.

Ces résultats montrent que c'est l'extrait méthanolique qui possède la CI_{50} la plus élevée égale à $1659,70 \pm 28,90$ $\mu\text{g/ml}$ suivi de l'extrait héxanique avec $299,00 \pm 12,50$ $\mu\text{g/ml}$. C'est l'extrait dichlorométhanique qui a la CI_{50} la plus faible égale à $61,87 \pm 1,25$ $\mu\text{g/ml}$.

**Tableau VI : Valeurs des CI_{50} des différents extraits testés sur fundus isolé de rat
($\bar{X} \pm \text{s.m.e}$; $n=4$).**

		Valeurs des CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)		
ORGANE	n	Extrait Méthanolique	Extrait héxanique	Extrait dichlorométhanique
FUNDUS	4	$1659,70 \pm 28,90$	$299,00 \pm 12,50$	$61,87 \pm 1,25$

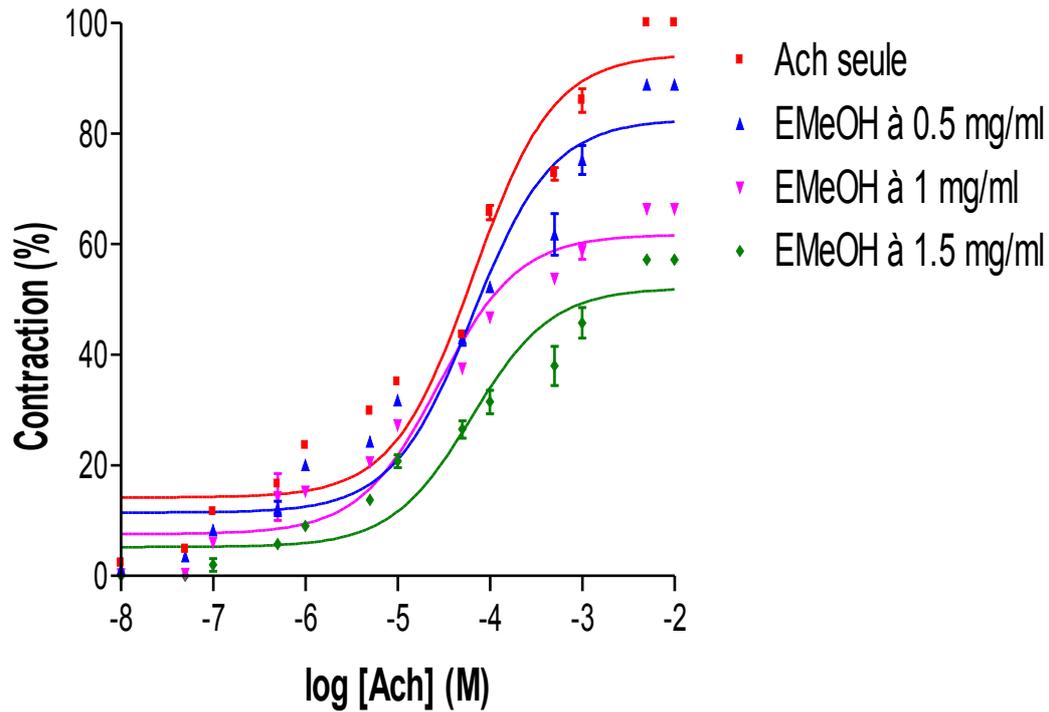


Figure 2 : Courbe effet-concentration de l'ACh en absence et en présence de l'extrait méthanolique (EMeOH) sur le fundus isolé de rat (n=4)

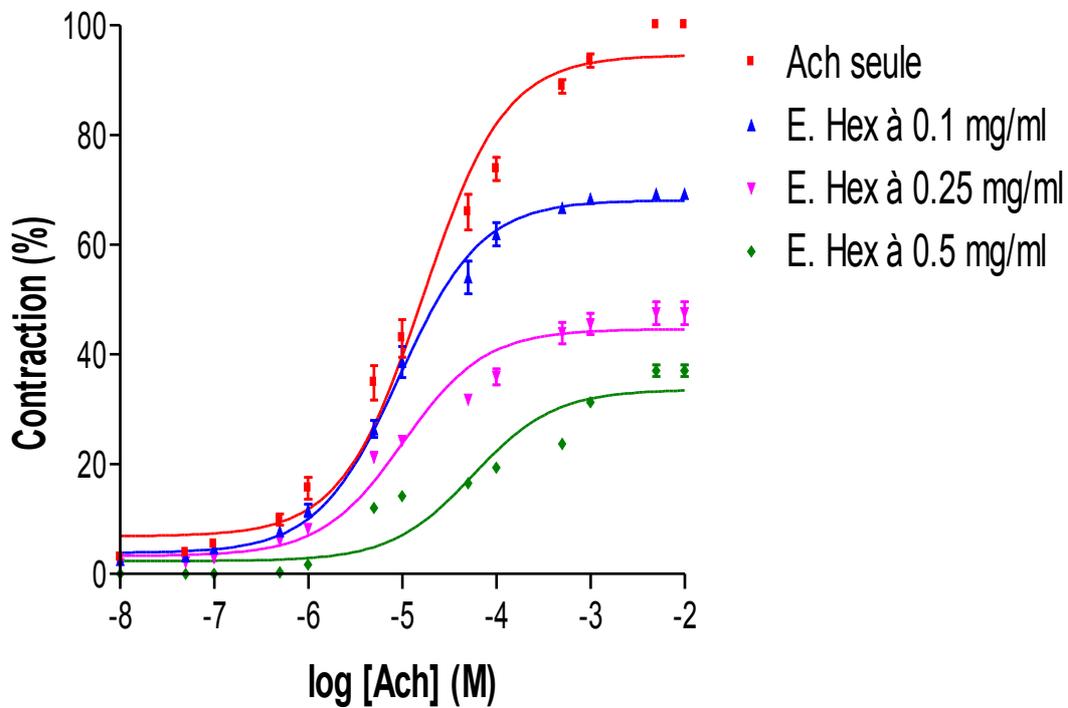


Figure 3 : Courbe effet-concentration de l'ACh en absence et en présence de l'extrait hexanique (E.Hex) sur le fundus isolé de rat (n=4)

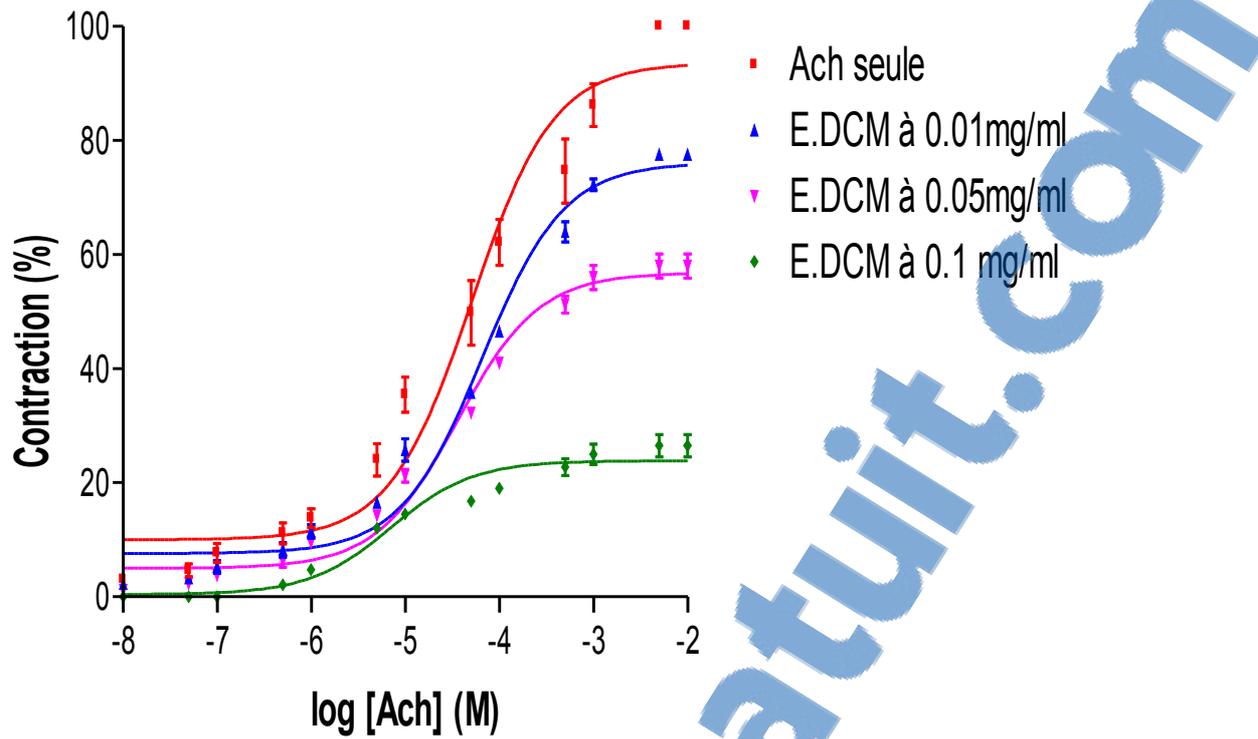


Figure 4 : Courbe effet-concentration de l'ACh en absence et en présence de l'extrait dichlorométhanique (E.DCM) sur le fundus isolé de rat (n=4)

b. Activités de l'EMeOH, de l'extrait héxanique et de l'extrait DCM sur la réponse de l'Acétylcholine sur le duodénum isolé de rat :

Les résultats rapportés sur la figure 5 montrent les courbes effet concentration de l'Acétylcholine en absence et en présence de concentrations croissantes d'EMeOH allant de 0,075 à 0,5 mg/ml. La figure 6 représente celles en absence et en présence de l'extrait héxanique à des concentrations testées allant de 0,005 à 0,5 mg/ml et la figure 7 celle en absence et en présence d'extrait DCM à des concentrations allant de 0,005 à 0,5 mg/ml.

Les figures 5, 6 et 7 montrent qu'en présence des extraits la courbe effet concentration de l'Acétylcholine se déplace vers la droite et l'amplitude de l'E_{max} est déprimée.

Le tableau VII rapporte les valeurs de CI₅₀ des trois extraits testés sur duodénum isolé de rat. Ces résultats montrent que c'est l'extrait DCM qui possède la plus faible CI₅₀ (13,07± 0,32 µg/ml) par rapport aux deux autres extraits ; elle est égale à 305,00±8,70 µg/ml pour l'EMeOH, et de 30,57±1,25 µg/ml pour l'extrait héxanique.

Tableau VII : Valeurs des CI₅₀ des différents extraits testés sur duodénum isolé de rat (X± s.m.e ; n=4).

		Valeurs des CI ₅₀ (µg/ml)		
ORGANE	n	Extrait Méthanolique	Extrait héxanique	Extrait dichlorométhanique
DUODENUM	4	305,00±8,70	30,57±1,25	13,07±0,32

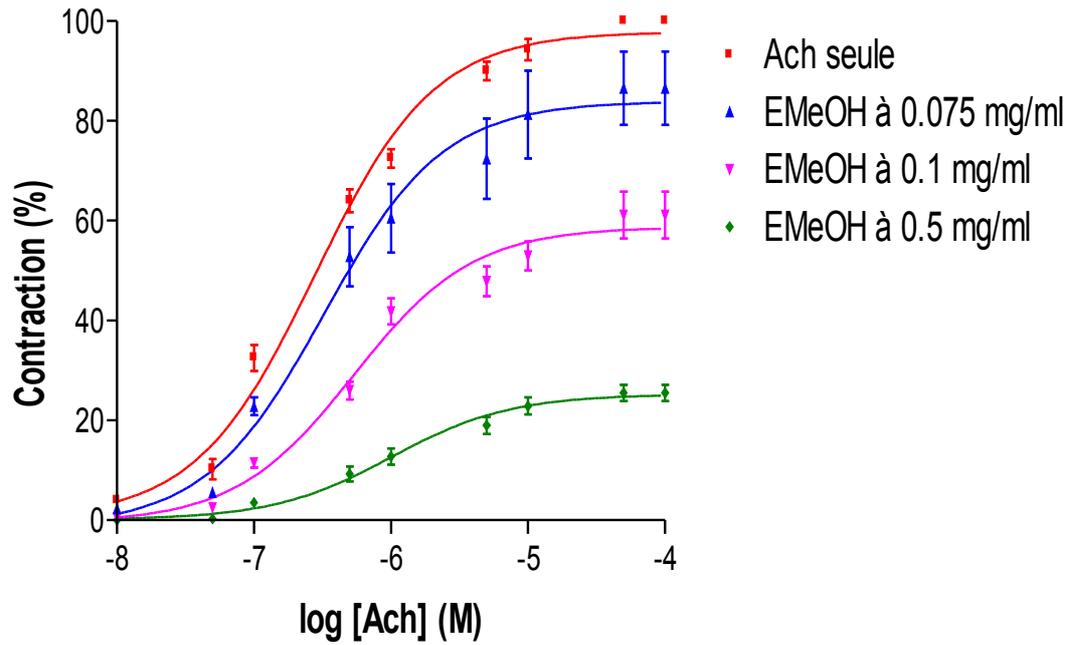


Figure 5 : Courbe effet-concentration de l'ACh en absence et en présence de l'extrait méthanolique 5EMeOH) sur le duodénum isolé de rat (n=4)

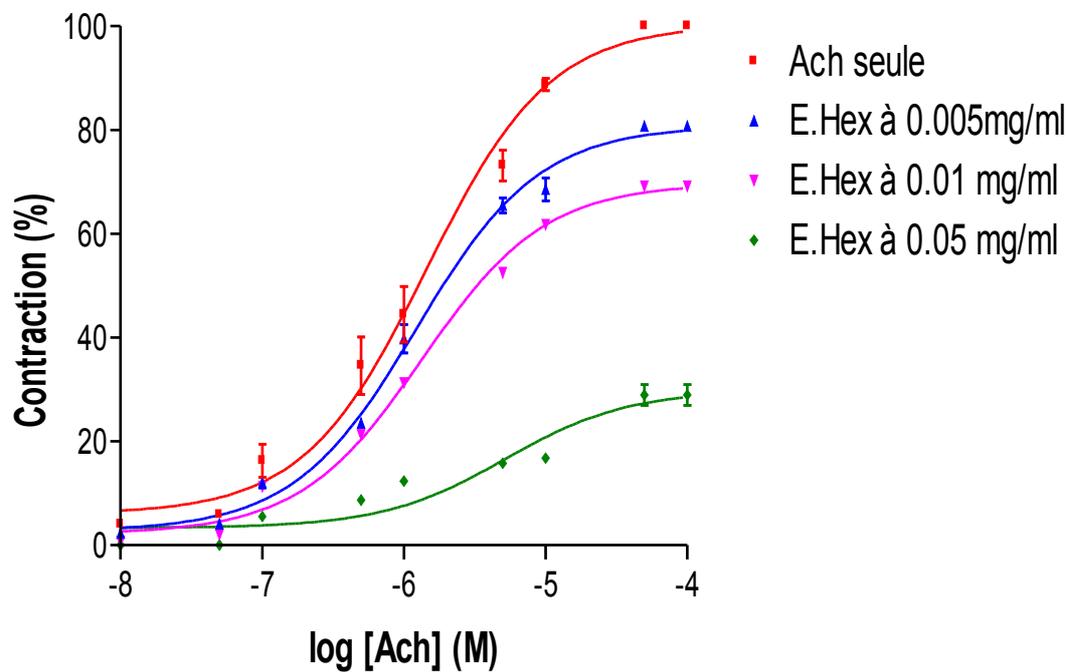


Figure 6 : Courbe effet-concentration de l'ACh en absence et en présence de l'extrait hexanique (E.Hex) sur le duodénum isolé de rat (n=4)

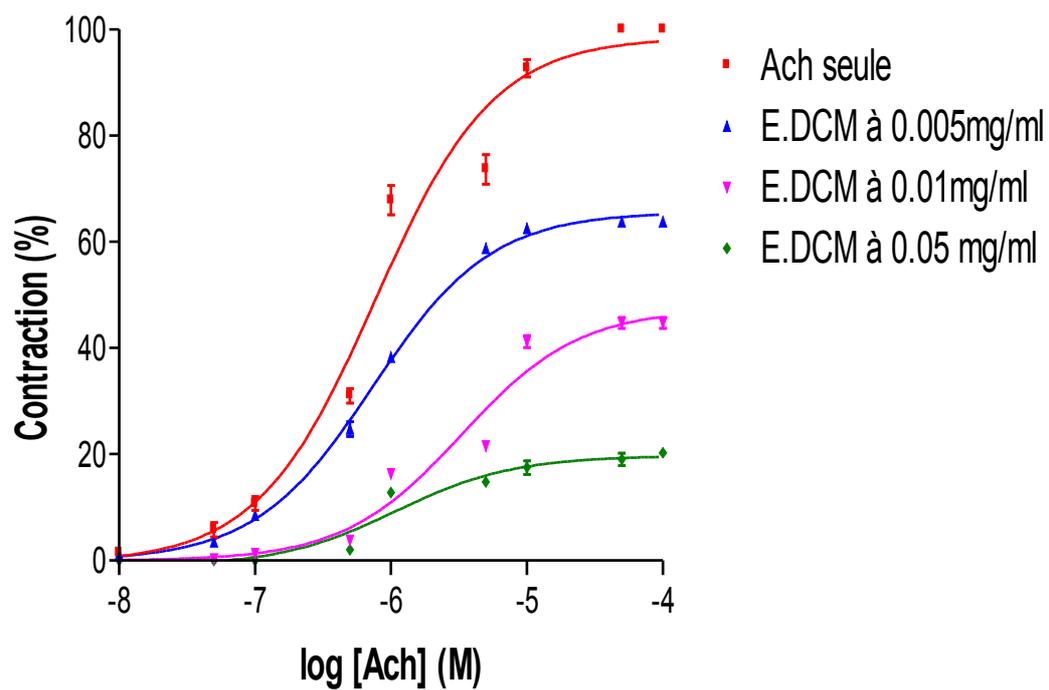


Figure 7 : Courbe effet-concentration de l'ACh en absence et en présence de l'extrait dichlorométhanique (E.DCM) sur le duodénum isolé de rat (n=4).

c. Activités de l'EMeOH, de l'extrait hexanique et de l'extrait DCM sur la réponse de l'Histamine sur l'iléon isolé de rat :

L'agent contracturant utilisé est l'histamine car l'iléon est un organe riche en récepteur histaminique. L'histamine contracte l'iléon de façon concentration dépendante avec CE_{50} égale à $2,77 \pm 0,10 \times 10^{-6} M$ et l' E_{max} est atteint à $10^{-5} M$.

La courbe effet- concentration de l'Histamine est déplacée vers la droite et l'amplitude de son E_{max} est déprimée en présence de concentrations croissantes d'EMeOH allant de 0,1 à 1 mg/ml (figure 8), à des concentrations de l'extrait hexanique allant de 0,075 à 0,25 mg/ml (figure 9) ou de concentrations de l'extrait DCM allant de 0,0025 à 0,0075 mg/ml (figure 10). Les extraits de AKB 18 F inhibent de façon concentration dépendante la contraction provoquée par l'Histamine.

Le tableau VIII rapporte les valeurs de CI_{50} des trois extraits testés sur iléon isolé de cobaye. Ces résultats montrent que la CI_{50} l'extrait DCM est la plus faible ($6,15 \pm 0,05 \mu g/ml$) suivi de celle de l'extrait hexanique égale $125,56 \pm 3,20 \mu g/ml$ et enfin, l'EMeOH égale à $371,75 \pm 6,00 \mu g/ml$ pour l'EMeOH.

Tableau VIII : Valeurs des CI_{50} des différents extraits testés sur iléon isolé de cobaye ($X \pm s.m.e$; $n=4$).

ORGANE	n	Valeurs des CI_{50} ($\mu g/ml$)		
		Extrait Méthanolique	Extrait hexanique	Extrait dichlorométhanique
ILEON	4	$371,75 \pm 6,00$	$125,56 \pm 3,20$	$6,15 \pm 0,05$

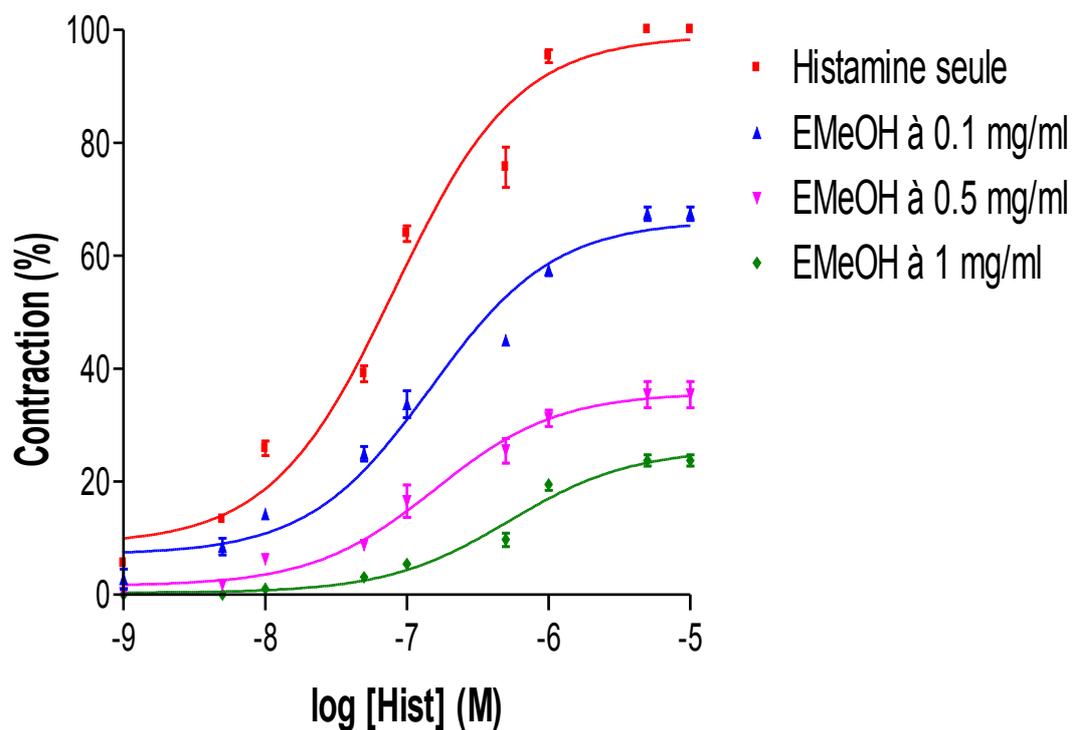


Figure 8 : Courbe effet-concentration de l'Histamine en absence et en présence de l'extrait méthanolique (EMeOH) sur l'iléon isolé de cobaye (n=4)

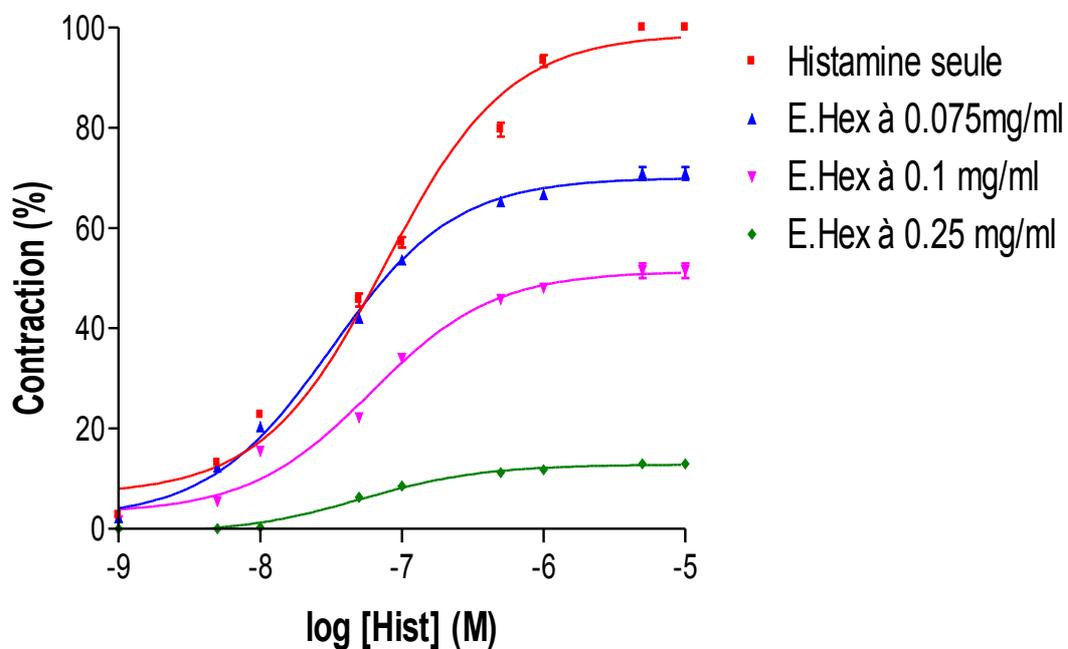


Figure 9 : Courbe effet-concentration de l'Histamine en absence et en présence de l'extrait hexanique (E.Hex) sur l'iléon isolé de cobaye (n=4)

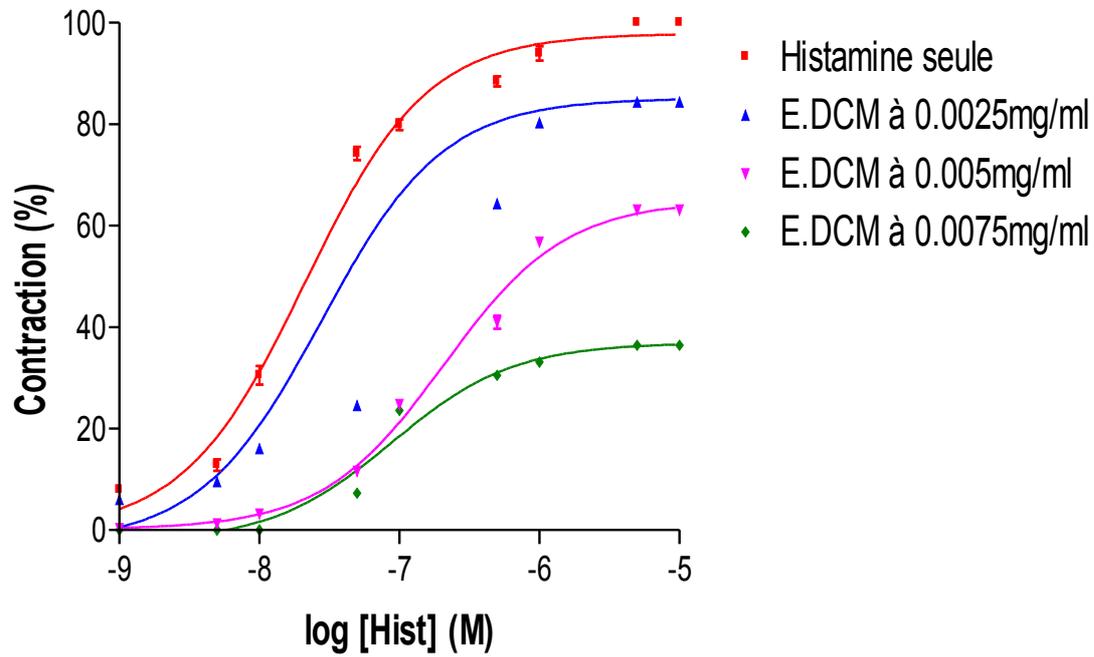


Figure 10 : Courbe effet-concentration de l'Histamine en absence et en présence de l'extrait dichlorométhanique (E.DCM) sur l'iléon isolé de cobaye (n=4)

d- Inhibition de la contraction provoquée par l'Acétylcholine par les fractions de l'extrait DCM :

Le tableau IX rapporte. le pourcentage d'inhibition provoquée par les fractions de l'extrait DCM sur l'effet contractile de l'Acétylcholine au niveau du fundus isolé de rat.

Ces résultats montrent que la fraction DCM₇ inhibe avec un pourcentage élevé de 81,62% à la dose de 0,01 mg/ml.

Tableau IX : Pourcentage d'inhibition de chaque fraction de l'extrait DCM sur l'effet contractile de l'Acétylcholine sur fundus isolé de rat (X±s.e.m ; n=4)

FRACTIONS	DCM₁	DCM₂	DCM₃	DCM₄	DCM₅	DCM₆	DCM₇
Pourcentage d'inhibition (%)	18,92±0,22	7,80±0,73	24,20±1,10	52,75±2,00	15,75±1,00	25,43±3,60	81,62±1,00
n	4	4	4	4	4	4	4

III.2.3 Tests de toxicité aiguë :

Le tableau X rapporte les résultats obtenus lors des tests de toxicité aiguë effectués chez les souris.

Ces résultats montrent que l'administration par voie orale de l'EMeOH, à la dose de 0.5 g/kg ne provoque aucun signe d'intoxication ni de mortalité chez les animaux traités.

A partir de la dose de 1g/kg des signes d'intoxication sont observés.

En effet, à partir de la 15^{ème} minute, 17% des animaux recevant la dose de 1 ; 1,5 et 2 g/kg présentent une diarrhée et 100% des animaux recevant la dose de 3 g/kg.

A la 30^{ème} minute, 50% des animaux recevant la dose de 1.5 g/kg présentent une ataxie et une polypnée mais les animaux reprennent leur état normal à partir de la 2^{ème} heure après l'administration de l'extrait.

Les trois degrés d'intoxication (diarrhée + ataxie + polypnée) ont été observés chez 100% des animaux recevant la dose de 2 g/kg.

Une mortalité est observée chez 25% des animaux recevant la dose de 2 g/kg à la 6^{ème} heure tandis qu'à la dose de 3 g/kg, 50% des animaux traités sont morts juste après l'administration, et la mortalité est de 100% à partir de la 2^{ème} heure de l'expérience.

Il est à noter que dès la 4^{ème} heure les animaux intoxiqués qui ont reçu la dose de 2 g/kg retrouvent leur état normal.

Tableau X: Tableau récapitulatif des résultats du test de toxicité aiguë ($X \pm s.e.m$; $n=6$)

Doses d'extrait	Temps (minute)	Signes d'intoxication (%)			Pourcentage des animaux intoxiqués	Taux de mortalité (%)
		Diarrhée	Ataxie	Polypnée		
0,5 g/kg	5	-	-	-	0	0
	15	-	-	-	0	0
	30	-	-	-	0	0
	60	-	-	-	0	0
	120	-	-	-	0	0
	240	-	-	-	0	0
	360	-	-	-	0	0
1g/kg	5	17	-	-	17	0
	15	17	-	-	17	0
	30	-	-	-	-	0
	60	-	-	-	-	0
	120	-	-	-	-	0
	240	-	-	-	-	0
	360	-	-	-	-	0
1,5 g/kg	5	17	17	17	50	0
	15	17	33	17	67	0
	30	-	33	17	50	0
	60	-	33	17	50	0
	120	-	-	-	-	0
	240	-	-	-	-	0
	360	-	-	-	-	0
2 g/kg	5	17	17	17	50	0
	15	17	33	33	83	0
	30	33	33	50	100	0
	60	33	33	50	100	0
	120	-	-	-	-	0
	240	-	-	-	-	0
	360	-	-	-	-	25
3 g/kg	5	50	100	100	100	50
	15	100	100	100	100	-
	30	-	100	100	100	83
	60	-	100	-	100	-
	120	-	-	-	100	100
	240	-	-	-	-	-
	360	-	-	-	-	-

DISCUSSION

L'objectif de notre travail était d'évaluer l'activité anti-ulcéreuse de l'extrait méthanolique (EMeOH) de la plante AKB 18 F *in vivo*, et de comparer l'effet des extraits méthanolique, dichlorométhanique et hélianique de la même plante vis à vis de l'activité contractile de l'acétylcholine sur le fundus et le duodénum isolés de rat, et vis-à-vis de l'effet de l'histamine sur l'iléon isolé de cobaye

Les résultats des tests effectués chez le Rat sur l'ulcère de Shay ont montré que l'EMeOH de AKB 18 F diminue le volume ainsi que l'acidité du suc gastrique chez le rat de façon significative et dose dépendante à partir de la dose de 50 mg/kg.

Testé sur l'ulcère gastrique provoqué par l'éthanol 95°, les résultats ont montré que ce même EMeOH diminue la formation de l'hyperhémie c'est à dire la lésion de la muqueuse gastrique des rats traités de façon significative et dose dépendante à partir de la dose de 25 mg /kg.

Ces résultats montrent que l'EMeOH possède une activité anti-ulcéreuse traduite par la diminution de la sécrétion acide de l'estomac et un effet mucoprotecteur de la muqueuse gastrique.

La diminution de la sécrétion acide et l'acidité du suc gastrique lors de l'administration de doses croissantes de l'EMeOH pourraient être liée à sa capacité soit d'inhiber l'effet stimulant des médiateurs (acétylcholine, histamine et gastrine) au niveau des récepteurs membranaires localisés au niveau des cellules pariétales, responsables de la sécrétion acide gastrique soit de bloquer les canaux calciques au niveau du réticulum sarcoplasmique entraînant la diminution de la concentration intracellulaire en calcium et aussi la diminution de la sécrétion acide au niveau de l'estomac.

En effet, la sécrétion excessive de l'acide chlorhydrique vers la lumière gastrique entraîne la lésion de la muqueuse gastrique.

Physiologiquement, l'estomac et le duodénum résistent aux effets corrosifs de l'HCl et la pepsine grâce aux facteurs protecteurs mais le déséquilibre entre facteurs agressifs et mécanismes de défense de la muqueuse est à l'origine de l'ulcérogenèse gastroduodénale (THIEFIN G. et coll., 1998 ; CHAMOUARD P, 2002).

Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de ce déséquilibre, parmi eux figure l'alcool qui entraîne la défaillance des défenses de la muqueuse (ZENECA A., 2004) en interrompant les barrières protectrices de la muqueuse permettant la rétro diffusion des ions H^+ d'où l'atteinte tissulaire (BURTON J., 2001).

Chez le rat, l'administration de l'alcool 95° provoque la lésion de la muqueuse gastrique d'où la formation de l'hyperhémie caractérisée par la formation des bandes rouges sur la muqueuse gastrique.

Les résultats ont montré que l'EMeOH réduit la longueur de l'hyperhémie de façon significative et dose dépendante et cette activité pourrait être attribuée à la capacité de l'extrait de renforcer le ou les mécanisme(s) de défense de la muqueuse gastrique.

Les facteurs de défense de la muqueuse gastroduodénale sont constitués par :

- les prostaglandines surtout celles de la série E présentes en grande quantité dans la muqueuse gastrique, diminuent les lésions dues aux agents agressifs. Les PG E endogènes exercent un rôle cytoprotecteur (CLAERBOURT J.F. et coll., 2002).
- le mucus qui se présente sous forme d'un gel viscoélastique qui est riche en ions bicarbonates ayant comme rôle de neutraliser les ions H^+ provenant des cellules pariétales du fundus. La pénétration de ces ions H^+ est aussi ralentie par les gels (LICHTENBERGER, 1999, CHAMOUARD P., 2002)
- l'épithélium sécrétant les ions bicarbonates est imperméable aux ions H^+ (THIEFIN, 1998).

Au vu des résultats obtenus chez le rat, l'effet anti-ulcéreux de l'EMeOH de la plante AKB 18 F pourrait être attribué à son effet sur la synthèse des prostaglandines endogènes car ces derniers ont un rôle cytoprotecteur surtout vis-à-vis de l'ulcère provoqué par l'éthanol (BLANDIZZI et coll., 1999).

La comparaison des doses actives de l'EMeOH sur l'ulcère de Shay et l'ulcère provoqué par l'éthanol montre que l'EMeOH est plus actif pour inhiber l'ulcère provoqué par l'éthanol que l'ulcère de Shay.

Les résultats positifs des tests *in vivo* ont permis de réaliser des tests *in vitro* sur des organes isolés afin de déterminer l'extrait actif de la plante AKB 18 F et d'isoler la fraction active.

Des tests *in vitro* ont permis de comparer l'activité anticholinergique des extraits testés ainsi que leur activité antihistaminique.

Les résultats sur le fundus et le duodénum isolés de rat ont montré que les extraits méthanolique, hélianique et dichlorométhanique inhibent de façon concentration dépendante et non compétitive l'effet contractile de l'acétylcholine de même que l'effet de l'Histamine sur iléon isolé de cobaye.

La comparaison des valeurs de la CI_{50} des extraits a montré que l'extrait dichlorométhanique (DCM) ayant la CI_{50} la plus faible par rapport aux deux autres extraits testés sur tous les organes isolés.

Ainsi, utilisant la technique du fractionnement bioguidé, les résultats de ce fractionnement de l'extrait DCM suivi des tests sur le fundus isolé de rat ont montré que la fraction DCM 7 inhibe fortement l'effet de l'Acétylcholine par rapport aux autres fractions. DCM7 est donc la fraction la plus active de l'AKB 18 F.

L'étude phytochimique de l'EMeOH des feuilles de la plante AKB 18 F a montré que cet extrait est riche en coumarines.

Selon Curini et collaborateurs (2006), plus de 160 composés coumariniques ont été isolés à partir des plantes appartenant à la Famille de Rutaceae et ces mêmes auteurs ont montré que plusieurs dérivés des Coumarines exercent des effets anti-tumoral, anti-inflammatoire et anti-viral.

Quant à Watanabe et collaborateurs (1987), ils ont montré que les coumarines interviennent dans la guérison du cancer gastrique.

Les dérivés des coumarines présentent aussi des activités antioxydantes (KONTOZIORGIS C.A. and all., 2005).

BAGCHI et collaborateurs (1998) ont démontré que les radicaux libres participent à la formation d'ulcère provoqué par l'éthanol et que la formation de l'ulcère peut être prévenue par un antioxydant.

On pourrait se demander alors si l'effet mucoprotecteur de l'EMeOH des feuilles de la plante AKB 18 F serait dû à sa capacité de prévenir la lésion de la muqueuse gastrique et/ou d'inhiber des radicaux libres par ses constituants coumariniques.

L'ulcère est une sorte de plaie superficielle ou profonde au niveau de la muqueuse gastroduodénale. Il s'accompagne généralement d'inflammation et de douleurs à l'abdomen. Les douleurs ulcéreuses proviennent du contact entre l'acide sécrété par l'estomac et la plaie (FRECHETTE M., 2004).

D'après Muray (2002), la coumarine possède aussi une action cicatrisante outre ses activités anti-tumorales et antioxydantes.

Etant donné les effets attribués aux coumarines, on peut se demander si l'effet anti-ulcéreux de l'EMeOH des feuilles de la plante AKB 18 F est aussi dû à l'activité cicatrisante de ses composés coumariniques.

CONCLUSION

Cette étude a permis de tester les extraits de feuilles de la plante AKB 18 F.

L'extrait méthanolique exerce une activité antiulcéreuse par ses effets anti-sécrétoire et mucoprotecteur chez le rat.

Les résultats des tests sur modèles d'organes isolés ont montré que c'est l'extrait dichlorométhanique a montré un effet antispasmodique le plus prononcé et DCM₇ la fraction la plus active.

L'extrait méthanolique n'est pas toxique aux doses actives pharmacologiques.

Le travail ultérieur portera sur des tests biologiques de la fraction DCM₇ afin d'en isoler la molécule active, d'élucider son mécanisme d'action moléculaire et de déterminer sa structure chimique pour un développement en tant que médicament antiulcéreux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1- AKAH P.A., ORISAKWE O.E., GAMANIEL K.S., SHITTU A. (1998)

Evaluation of Nigerian traditional medicine : II. effects of some Nigerian folk remedies on peptic ulcer

J. Pharmacol., **62** : 123-127

2- ALLAIN P. (2004)

Mécanisme de la digestion

Rev. Pharmacorama

3- AMEENAH GURIB F. (1997)

Rapport ethnobotanique et phytochimique sur le projet : inventaire et étude des plantes médicinales et des plantes aromatiques des états de l'Océan Indien.

Projet FED-COI N° 6100/33/94/066

4- BAGCHI D., CARRYL O., TRAN M., KROHN R., GARG A. (1998)

Stress, diet and alcohol-induced oxidative gastroduodenal mucosal injury in rats and protection by bismuth subsalicylate.

J. Appl. Toxicol., **18** (1): 3-13

5- BERARDI R.R (2000)

A critical evaluation of proton pump inhibitors in the treatment of gastroesophageal reflux disease.

Am. J. Managed Care., **6** (9): S 491- S 505.

6- BRITO S. (1998)

Antiulcerogenic activity of dehydrocrotonin, a diterpene isolates from *Croton cajucara*.

Benth. Planta Med., **64** : 126-129

7- BURTON J. (2001)

L'ulcère gastrique et son traitement

Cycle de conférence 2000-2001, Paris.

8- CEREGRZYN M., OZAKI T. (1998)

A potent relaxant of rat stomach fundus: in-vitro evidence

Can. J. Physiol. and Pharmacol., **76** (10-11) : 989-999

9- CHAMOULARD P. (2002)

L'ulcère gastroduodéal.

Faculté de médecine Strasbourg

Rev. University Louis Pasteur- Strasbourg.

10- CLAERBOUT J.F., DINE T., (2002)

Traitement de l'ulcère gastro-duodéal

Pharmacie clinique et thérapeutique, 2^{ème} édition : 198-228

11- CURINI M., CRAVOTTO G, EPIFANO F, GIANNONE G. (2006)

Chemistry and biological activity of natural and synthetic phenoxycoumarins

Dipartimento di Chimica e Tecnologia del Farmaco, Sezione di Chimica

Organica, Via del Liceo, 06123 Perugia, Italy. curmax@unipg.

Curr. Med. Chem., **13** (2) : 199-222.

**12- DIALLO D., SANOGO R., DOUARE, I., MAIGA A., DIAKITE, CHIAKA,
COULIBALY D. (2000)**

Du savoir traditionnel aux médicaments traditionnels améliorés, expérience malienne.

Cas de *Entada africana*

Département Médecine Traditionnelle- Universités de Messina, Oslo.

13- FRECHETTE M., Marie-Michèle (2004)

Ph.D. Mantha, M.Sc

Article du Réseau Protéus

14- FONG H, TINWAM (1997)

Phytochemical screening

Rev. University of Illinois Chicago

15- GEPDIREMEN A, SULEYMAN H. (2003)

Administration of salicylate dose-dependently prevents stress-induced ulcer formation in Rats.

J. Pharmacol., **55** (2) : 209-12.

16- GROVER J.K. ADIGA G., VATS. V., RATHI S.S. (2001)

Extracts of *Benincasa hispida* prevent development of experimental ulcers

J. Pharmacol., **78** : 159-164

17- HURIMA C.A., LIMA (2000)

Gastro protective effect of essential oil from *Croton cajucara*

J. Pharmacol., **69** : 229-234

18- HUMBERT H. (1950)

Flore de Madagascar F.M 104-106 : 47-48

19- HOSTETTMAN K. (1998)

Strategy for the biological and chemical evaluation of the plant extracts

Pure App.chem., Vol 70 N° 11 : 2122

20- IAVANA B., ELFRIEDE M. BACCHI, JAYME A.A.A (1999)

Antiulcer action of *Micrgramma squamulosa* (Kaulf) Sota

J. Pharmacol., **65** : 217-223

21- KONTOZIORGIS C., HADJIPAVLOU-LITINA D. (2005)

Synthesis and anti-inflammatory of coumarin derivatives

Journal Med. Chem., **6, 48** (20): 6400-8

22- LABAYLE D. (2000)

Hépatogastro-entérologie: l'infirmière en hépatogastro-entérologie

4^{ème} édition : 48-49.

23- LANDRY Y., GRES J.P. (2003)

Pharmacologie

Des cibles vers l'indication thérapeutique, 399-403

Edition DUNOD.

24- LICHTENBERG.L.M (1999)

Gastroduodenal mucosal defense.

Curr. Opin. Gastroenterol., **15** : 463-472

25- LYOUSSI A., KATI-COULIBALY S., DATTE J.Y., OFFOUMOU A.M., DOSSO M. (2005)

Effet de la Capsaïne en interaction avec l'Acétylcholine et l'adrénaline sur l'activité contractile du duodénum isolé de Lapin.

Pharmacologia : Bulletin de la société française d'Ethnopharmacologie n°35, 39-41

Edition de Guy MAZARS et Jacques FLEURENTIN.

26- MARKOVEC F., REVEL (1999)

Characterization of antisecretory and antiulcer of CR 2945, a neuropotent and selective gastrin CCK (B) receptor antagonist

Eur. J. Phramacol., 12; 369 (1): 81-90

27- MILLOGO H., GUISSOU. I.P., COULMA. O., TRAORE. A.S. (2005)

Développement durable et santé dans les pays du sud, le médicament, de la recherche au terrain

Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés, 1-8.

Colloque du 9 décembre 2005 - Centre Européen de Santé Humanitaire – Lyon

28- MOENS H.J., VAN C. J., AL MJ, VAN DEN B., LOURENS J, NUMANS J. (2004)

NSAID used and the prevention of gastric damage

Article in Dutch, **27** : 148-13

29- MURRAY R.D.H. (2002)

The naturally occurring coumarins

Progress in chemistry organic natural product

Founded by L.Zephmeinter.

Edited by V. W. R. H. Falk. W. Kirby. R. E. Moore

Springer, New York.

30- NICOLAS.D (1999)

High plant diversity of lowland vestiges in eastern Madagascar.

Biodiversity conservation. Ed Kluwer Publisher, **8** : 273-315

31- RABESON Nilomboahangy (2004)

Etude de l'activité anti-ulcéreuse de *Clidemia hirta* ou Mazambody sur 2 modèles animaux

Mémoire de D.E.A Pharmacologie- Faculté des Sciences- Université d'Antananarivo

32- RAKOTONINDRINA .J Désiré (2002)

Prise en charges des hémorragies ulcéreuses gastriques et duodénales.

Thèse de Doctorat en Médecine n° T 606 THM 02

Faculté de Médecine- Université d'Antananarivo

33- RAMA (1993)

Les plantes médicinales utilisées dans la région de Vavatenina.

Thèse de Doctorat en Médecine n° 3265

Faculté de Médecine- Université d'Antananarivo

34- RANDRIANARIVO Emmanuel (2004)

Etude *in vivo* de l'activité anti-ulcéreuse d'*Olox humberitii*.

Mémoire de D.E.A Pharmacologie- Faculté des Sciences- Université d'Antananarivo

35- RAKOTOBE E., RASOLOMANANA J.C., RANDRIANASOLO Sennen S. (1993)

Pharmacopées de l'Ambongo et du Boina, 152-306-307-416

Ed. CIDST Tsimbazaza- Antananarivo.

36- SAIRAM K., RAO Ch . V., DORA BABUM., VIJAYCUMAR K., AGRAWAL V.K., GOEL R.K. (2002)

Antiulcerogenic effect of methanolic extract of *Embilica officinalis*: an experimental study

J. Ethno Pharmacol., **82** : 1-9

37- SEVENET T. (2000)

Plantes, molécules et médicaments

Texte du conférencier

Conférence du 22 mars 2000, CNAM

Université de tous les savoirs

[http// : www.telerama.fr](http://www.telerama.fr)

38- SHANKARAN, DESAI (2001)

Extracts of *Binincasa hispida* prevent development of experimental ulcers

J. Pharmacol., **78** : 59-164

39- STADELMAN F. (1997)

Médecine et nature

Publié en Suisse dans NATÜRLICH n° 5.

40- SHETTY R., VIJAY KUMAR K., NAIDU M.U.R, RATNAKAR K.S. (2000)

Effect of *Gingko biloba* extract on ethanol-induced gastric mucosal lesions in Rats

Ind. J. Pharmacol., **32** : 313-317

41- THIEFIN G., FREMOND L. (1998)

Ulcère gastrique chronique

Épidémiologie, diagnostic, évolution, traitement

Service hépato-gastro-entérologie, CHU Robert-Debré, 51092 Reims cedex

La revue du praticien

42- THIERRY V. (1998)

Ulcère duodénale chronique

Diagnostic, évolution, traitement

Service d'hépatogastro-entérologie, CHU Bichat-Claude Bernard, 75018 Paris

43- TONINI M., DE GIORGIO R., DE PONTI F., STERNINI C., SPELTA V.,
DIONOGI P., BARBARA G., STANGHELLINI V., CORINADELSI R. (2000)

Role of nitric oxide-and vasoactive intestinal polypeptide-containing neurones in human gastric fundus strip relaxations

Br. J. Pharmacol., **129** : 12-13.

44- WANDA G., NJAMEN D, YANKEP E, LA TA DE FOTSING, FOMUM Z.,
WOBER J, STARCKE S, ZIERAU O, VOLLMER G. (2006)

Estrogenic of isoflavones derived from *Milletia griffoniana*

Phytomedicine, 1313: 139-45

45- WATANABE M., HIGASHI T, HASHIMOTO M, TOMODA I, TOMINAGA S,
HASHIMOTO N, MORIMOTO S, YAMAUCHI Y, NAKATSUKASA H,
KOBAYASHI M (1987)

Elevation of tissue Cathepsin B and L activities in gastric ulcer

Hepatogastroenterol., **34** (3) : 120

46- YAKUGAKU Z. (2005)

Chemical study of citrus plants in the search for cancer chemopreventive agents.
JU-ICHI M. School of Pharmaceutical Sciences, Mukogawa Women's University,
Nishinomiya 663-8179, Japan. mjuichi@mwu.mukogawa-u.ac.jp
Review Japanese, **125** (3) : 231-54.

47- ZENECA A. (2000)

Principes Fondamentaux des Gastro-entérologies

3^{ème} conférence des ACG (Association Canadienne de Gastro-entérologie), Canada.

48- ZENECA A. (2004)

Gastro-entérologie, ulcère gastroduodénale

www.astrazenca.ch-htm

**ETUDE DE L'ACTIVITE ANTI-ULCEREUSE DE LA PLANTE AKB 18 F
(RUTACEAE)**

Nom : RAKOTOLALAO

Prénoms : Noro Sehenó Patricia

Née le : 20 Mars 1979 à Fianarantsoa

Adresse: Lot VT 3 AR Andohaniato.

Antananarivo (101)

Laboratoire: Laboratoire de Pharmacodynamie.

**Département de Physiologie Animale et de
Pharmacologie**

B.P 906

Facultés des Sciences.

Université d'Antananarivo.

Directeur de mémoire : Professeur RANDRIANTSOA Adolphe

RAKOTOLALAO Noro Sehen Patricia

**ETUDE DE L'ACTIVITE ANTI-ULCEREUSE DE LA PLANTE AKB 18 F
(Rutaceae)**

RESUME

L'objectif de cette étude a été, d'une part, d'évaluer chez le rat l'activité antiulcéreuse de l'extrait méthanolique (EMeOH) de la plante AKB 18 F utilisée en médecine traditionnelle, et, d'autre part, de comparer les effets de 3 extraits de la même plante vis-à-vis des réponses contractiles de l'acétylcholine et de l'histamine par des tests utilisant des organes isolés.

Chez le rat, l'EMeOH diminue la sécrétion et l'acidité gastrique de façon significative et dose dépendante de 20,68% à 68,47% aux doses allant de 25 à 75 mg/kg mais augmente le pH du suc gastrique aux mêmes doses de $1,96 \pm 0,04$ à $3,70 \pm 0,30$.

Les résultats des tests *in vitro* ont montré que c'est l'extrait dichlorométhanique qui est le plus actif avec des valeurs de CI50 égales à $61,87 \pm 1,25 \mu\text{g/ml}$ sur le fundus, $13,07 \pm 0,32 \mu\text{g/ml}$ sur le duodénum et $6,15 \pm 0,05 \mu\text{g/ml}$ sur l'iléon isolé.

Les tests de fractionnement bio guidé ont permis de déterminer que c'est DCM7 qui est la fraction la plus active car à $0,01 \mu\text{g/ml}$ elle inhibe de $81,62 \pm 1\%$ la réponse contractile de l'acétylcholine sur le fundus isolé de rat.

Les tests de toxicité aiguë ont révélé qu'aux doses actives pharmacologiques, l'EMeOH d'AKB 18 F n'est pas toxique.

Enfin, les feuilles d'AKB 18 F contiennent des composés coumariniques qui seraient à l'origine de ses effets pharmacologiques et pourraient expliquer son utilisation en médecine traditionnelle.

Mots clés : médecine traditionnelle- plante- ulcère

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate in the rat the anti ulcerous activity of the methanolic extract of the medicinal plant AKB 18 F and to compare the effects of different extracts of the same plant against the contractile responses of acetylcholine and histamine by tests *in vitro* on isolated organs.

In the rat, EMeOH inhibited significantly and dose dependently the gastric secretion and acidity from 20.68 to 68.47% with the doses from 25 to 75mg/kg but increased the pH of the gastric juice at the same doses from 1.96 ± 0.04 to 3.7 ± 0.3 .

The *in vitro* tests showed that the more active extract was the dichloromethanic extract with $IC_{50} = 61.87 \pm 1.25 \mu\text{g/ml}$ on the isolated fundus, $13.07 \pm 0.32 \mu\text{g/ml}$ on the duodenum and $6.15 \pm 0.05 \mu\text{g/ml}$ on ileum.

Bioguided fractionation method has indicated that DCM7 was the most active fraction of the AKB 18 F because at 0.01mg/ml it inhibited the response of acetylcholine with $81.62 \pm 1\%$ on the rat isolated fundus.

The toxicity tests revealed that at the active pharmacological doses, AKB 18 F was not toxic.

The pharmacological effects of AKB 18 F could be attributed to its leaves coumarins compounds which are probably responsible of its traditional medicine use.

Keys words: traditional medicine- plant- ulcer.

Directeur de mémoire : Professeur RANDRIANTSOA Adolphe