

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	i
LISTE DES TABLEAUX	ii
LISTE DES FIGURES	iii
LISTE DES SIGLES ET ABBREVIATIONS	iv
A. INTRODUCTION	1
B. MATERIELS ET METHODES	5
I. PARTIE CHIMIQUE	5
1. Préparation de l'extrait	5
2. Criblage phytochimique	5
II. PARTIE PHARMACOLOGIQUE	7
1. Animaux d'expérimentation	7
2. Etude de l'effet de l'extrait NAS20 sur la peur du vide	7
3. Etude de l'effet de l'extrait NAS20 sur la peur de l'espace ouvert	8
III. EXPRESSION ET ANALYSES DES RESULTATS	9
C. RESULTATS	10
I. PARTIE CHIMIQUE	10
1. Rendement de l'extraction	10
2. Résultats du criblage phytochimique.....	10
II. RESULTATS DES TESTS PHARMACOLOGIQUES	11
1. Effet de NAS20 sur la peur du vide chez la souris	11
2. Effet de NAS20 sur la peur sur la peur de l'espace ouvert	12
D. DISCUSSION	13
CONCLUSION	15
BIBLIOGRAPHIES	16
WEBOGRAPHIES	23

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Tests utilisés lors du criblage phytochimique effectué sur l'extrait NAS20.....6

Tableau II. Les familles chimiques présentes dans l'extrait NAS2010

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Photographie d'un Labyrinthe en croix surélevé, avec une souris sur la plateforme centrale, vue de haut	8
Figure 2. Photographie d'une Planche à trous, vue de haut	9
Figure 3. Temps de passage dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé pendant 5 min des souris témoins (■) et traitées avec l'extrait NAS20 administré par voie orale aux doses de 250 mg/kg (■); 500 mg/kg (■) et du Valium 2 mg/kg administré par voie intrapéritonéale (■) ($\bar{m} \pm e.s.m$; $n = 5$; $p < 0,05$)	11
Figure 4. Nombre de trous visités par les souris placées sur une planche à trous pendant 5 min des souris témoins (■), et des souris traitées avec l'extrait NAS20 à 250 mg/kg (■) et 500 mg/kg (■) administré par voie orale et du Valium 2 mg/kg administré par voie intrapéritonéale (■) ($\bar{m} \pm e.s.m$. $n = 3$; $p < 0,05$).....	12

LISTE DES SIGLES ET DES ABREVIATIONS

%: pourcent.

coll.: collaborateurs.

Cck : cholécystokinine

e.s.m: erreur standard à la moyenne.

Gaba: acide γ -aminobutyrique.

g: gramme.

i.p: intra-péritonéale.

\bar{m} : moyenne.

min: minutes.

mg/kg: milligramme/kilogramme.

n: nombre d'animaux utilisés.

Nacl: chlorure de sodium.

p: degré de signification

Lpgpc: Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie.

t: Test de Student.

sec: secondes

INTRODUCTION



A. INTRODUCTION

L'anxiété est le type de troubles mentaux qui a un taux de prévalence très élevé dans la population en générale (KESSLER R. C. et coll., 2009) et présente un taux de prévalence entre 7 à 20 % chez l'homme et 11 à 27 % chez la femme (REINER Q., 2009).

Les troubles anxieux font partie des troubles psychiatriques le plus répandus dans l'Union Européen : ils touchent plus de 60 millions de personnes (WHITTCHEN H. V. et coll., 2010). Les données épidémiologiques et cliniques sur les troubles psychiatriques collectées à Madagascar sont rares, surtout celles issues des provinces côtières (ANDRIANTSEHENO L. M. et coll., 2004).

La peur est une réaction normale à une menace, tandis que l'anxiété est une peur incontrôlée ou inappropriée (LEDOUX J. E., 1996 ; 2000). L'anxiété est une réaction cognitive, affective et aversive, caractérisée par un sentiment d'insécurité et une crainte que quelque chose de potentiellement négative se produise (LEARY M. R., 1983). Deux facteurs provoquent l'état anxieux : les facteurs génétiques et les facteurs environnementaux. Il existe 2 formes majeures d'anxiété : l'anxiété instinctive et l'anxiété apprise.

L'organisme peut être génétiquement prédisposé à l'anxiété apprise ; mais cette dernière peut également être acquise fondamentalement par l'expérience. L'anxiété instinctive est une peur innée ; elle préexiste dans l'organisme et fait l'objet d'un contrôle génétique plus rigide (KANDEL E. et coll., 2007).

Lorsque ces réponses sont excessives, persistantes et altérées cliniquement chez l'homme, en ce sens où elles deviennent pénibles et envahissantes, la pathologie mentale se produit.

Un trouble anxieux est un excès d'inquiétude et de peur, caractérisé par une hyperexcitation. Dans ce cas, l'inquiétude et la peur inhibent et entravent l'adaptation du sujet face au monde environnant, et se manifestent de façon déprimante sous forme d'anxiété généralisée, d'agoraphobie, de sociophobie, d'attaque de panique, de stress post traumatique, de troubles obsessionnels compulsifs, selon leur classification dans le Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux.

Le système limbique est une structure impliquée dans l'anxiété. Il est représenté par l'hippocampe et l'amygdale, qui interviennent dans les réactions émotionnelles et le comportement motivé. Il est en relation directe avec l'hypothalamus, et se trouve au carrefour des souvenirs, des émotions et du contrôle des systèmes végétatifs et hormonaux.

La région amygdalienne est fortement impliquée dans les émotions, et notamment dans l'anxiété. Elle contrôle un grand nombre de réactions de peur et exhibe une plasticité neuronale, qui donne des réponses de peur conditionnées à de nouvelles sortes d'expériences. L'amygdale apparaît comme une région « protectrice ». Elle participe à la coordination des comportements propres à éviter le danger, et indique au corps des actions appropriées. Elle stimule aussi un groupe des neurones dans l'hippocampe. Ce dernier aide le cerveau à apprendre et à former de nouveaux souvenirs et des souvenirs de situations de stress (GERARD E. et coll., 2003). En cas de danger, l'amygdale filtre les *stimuli* non menaçant, met le corps en état d'alarme et modifie toutes les fonctions physiologiques vitales.

Un dérèglement venant de l'amygdale contribue à une réaction de peur et d'anxiété. Une telle réaction peut résulter d'un événement, tels que le divorce, la maladie d'un proche, la relation compliquée entre parents et enfant, la pauvreté, le stress vécu lors de la grossesse, l'intimidation et le vieillissement qui font intervenir la neurochimie au niveau du cerveau. Lors d'un excès d'anxiété, les circuits neuroatomiques qui soutiennent la peur et l'anxiété, sont modulés par une variété de neurotransmetteurs, dont le GABA, la sérotonine et la noradrénaline. Plusieurs systèmes entrent aussi dans la régulation de l'émotion : le glutamate, les neuropeptides (CCK, substance P), l'axe hypothalamo-hypophysaire et le système nerveux autonome. L'acide gamma-aminobutyrique (GABA) est le principal neurotransmetteur inhibiteur qui modère l'action de la sérotonine, qui est un neurotransmetteur excitateur (SMITH P., 2010).

Les neurones GABAergiques constituent le principal système inhibiteur de transmission au niveau du système nerveux central. Le GABA est synthétisé à partir de l'acide glutamique par un enzyme décarboxylase (glutamate décarboxylase ou GAD) puis catabolisé par le GABA Transaminase. Il est à l'origine du calme et de la détente, et régule ainsi l'anxiété.

Les structures impliquées dans la modulation des états anxieux contiennent d'importants réseaux d'interneurones GABAergiques. L'influence inhibitrice de GABA sur l'activité neuronale du GABA s'exprime via les récepteurs ionotropes GABA_A et métabotropes GABA_B, tous les deux impliqués dans le contrôle des états anxieux (BANARD E. A. et coll., 1998; BOWERY N. G. et coll., 2000).

La sérotonine, originaire des noyaux du raphé, fournit des influx vers les structures corticolimbiques impliquées dans le contrôle des états anxieux (LIN C. H. et coll., 2001 ; WANG S. J. et coll., 2002). Un dysfonctionnement de la neurotransmission sérotoninergique est impliqué dans les troubles neuropsychiatriques, dont l'anxiété (YAN Z., 2002).

L'anxiété est due à une suractivité de la fonction sérotoninergique ou à une diminution de l'activité inhibitrice du système GABAergique, elle est caractérisée par un trop grand retrait et d'évitement (PRIME G., 2013).

Les projections noradrénergiques ascendantes innervent intensément l'hippocampe, l'amygdale, le cortex, l'hypothalamus et toutes les régions corticales impliquées dans l'intégration de la réponse à l'anxiété (LINDVALL O. et coll., 1984; TANAKA M. et coll., 2000). L'activation marquée et soutenue des voies noradrénergiques, déclenchée par des *stimuli* stressants ou anxiogènes, est accompagnée par des manifestations émotionnelles, cognitives et autonomiques qui provoquent la panique.

Les benzodiazépines (tranquillisants), les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine et les inhibiteurs de la recapture de la noradrénaline sont principalement utilisés afin d'inhiber l'effet anxiogénique de la sérotonine et de la noradrénaline ou de renforcer l'effet du GABA. Parmi les médicaments qui traitent l'anxiété, citons : la famille des Benzodiazépines : LEXOMIL®, LYSANXIA®, NORDAZ®, SERESTA®, TEMESTA®, TRANXENE®, VALIUM® ; la famille des Antidépresseurs qui traite l'anxiété, en inhibant la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline (ISRSNa) : PROZAC®, SEROPRAM®, l'IMAO MOCLAMINE®, CYMBALTA®, EFFEXOR® ; les antidépresseurs tricycliques : ELAVIL®, TOFRANIL® ; les autres familles : EQUANIL®, ATARAX®, BUSPAR®.

Plusieurs agents pharmacologiques ciblent le système et modulent l'effet global du GABA, en renforçant son effet inhibiteur par rapport aux neurotransmetteurs excitateurs (LYDIARD R. B., 2003). Les produits anxiolytiques rectifieraient les problèmes engendrés par les facteurs responsables de la maladie, en se liant aux récepteurs ou des sites de reconnaissance, plus particulièrement avec la sérotonine et le GABA (récepteur GABA_A), en rétablissant le déséquilibre entre le neurotransmetteur modérateur et inhibiteur, et finalement en ramenant à une inhibition GABAergique normale. L'activation des récepteurs 5-HT_{1A} avec des agonistes partiels, tels que la buspirone ou l'inhibition de la recapture de la sérotonine, est également utilisée dans le traitement des troubles anxieux (LUCKI I., 1998).

Beaucoup de médicaments modernes sont issus des molécules d'origine végétale à la suite de recherches pharmacologiques, et les plantes médicinales à partir de laquelle elles ont été isolées servent de matières premières, les molécules sont utilisées comme modèles dans la synthèse de médicaments (ZHANG X. et coll., 1998).

La médecine traditionnelle reste très répandue dans toutes les régions du monde en développement, et son usage ne cesse de croître dans les pays industrialisés.

Vingt-cinq pourcent des médicaments modernes sont préparés à base de plantes qui, au départ, ont été utilisées traditionnellement.

En Afrique, jusqu'à 80 % de la population ont recours à la médecine traditionnelle à ce niveau (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/2003/fs134/fr/>).

Dans la région africaine, beaucoup de gens traitent l'anxiété par les plantes médicinales, telles que «millepertuis» ou *Hypericum perforatum* L. (CLUSIACEAE), *Griffonia simplicifolia* (CAESAIPINIACEAE).

Ce sont des plantes africaine, dont les graines sont riches en L-5 HTP (Hydroxytryptophane), précurseur direct de la sérotonine (CARNEVALE G. et coll., 2011).

La population Malagasy ne fait pas exception à ces gens, car l'anxiété est traitée avec diverses plantes à Madagascar. Dans la région Alaotra Mangoro, la population locale utilise le décocté des feuilles de *Catharanthus roseus* (APOCYNACEAE), de pervenche de Madagascar ou *Albizia* (MIMOSACEAE), de «Longoza» ou *Aframomum augustifolium* K.Schum (ZINGIBERACEAE), les feuilles de Cypress ou *Cupressus lusitanica miii* (CUPRESSACEAE), pour traiter les troubles anxieux. Dans cette région, les tradipraticiens utilisent aussi le décocté des feuilles et tiges d'« antsointsoina, siasia » ou *Emilia citinada* (COMPOSEAE), de« ramitampina, ramatsatso » ou *Phothos scandens* L. (ARACEAE), de « Tsilaitra » ou *Noronhia* (OLEACEAE), de« tritranazava » ou *Pityrogramma calomelano* L. Link (ANDIATHANCEAE) pour traiter l'anxiété (RAVO O. V. V., 2013).

D'après les enquêtes ethnobotaniques que nous avons effectué à Ambatofotsy, le décocté des feuilles de la plante codée NAS20 dans la famille des MYRTACEAE est utilisé pour calmer le stress et la peur. Notre étude a pour but d'étudier l'activité anxiolytique de l'extrait hydro alcoolique de cette plante. En reproduisant sur les modèles *in vivo* des situations de stress et de peur chez la souris.

MATERIELS

ET

METHODES

— — —

B. MATERIELS ET METHODES

I. PARTIE CHIMIQUE

1. Préparation de l'extrait

Les feuilles de la plante ont été récoltées aux alentours d'Ambatofotsy le 12 décembre 2015. Elles ont été séchées dans un endroit aéré, à l'abri du soleil et à la température ambiante pendant trois mois et demi. Une fois séchées, les feuilles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique au LPGPC, Faculté des Sciences d'Antananarivo. Deux cent cinquante grammes (250g) de la poudre obtenue ont été macérés dans un mélange éthanol-eau (60 : 40) à la température ambiante pendant 5 jours. Le macérât ainsi obtenu a ensuite été filtré sur un coton hydrophile ; puis ce filtrat a été évaporé à sec à l'aide d'un distillateur, à la température de 80°C. L'extrait sec obtenu a été codé NAS20, puis pesé pour calculer le rendement de l'extraction selon la formule :

$$\text{rendement (\%)} = \frac{\text{poids de l'extrait sec (g)}}{\text{poids de la poudre de départ (g)}} \times 100$$

2. Criblage phytochimique

Pour identifier les familles chimiques présentes dans l'extrait NAS20, un criblage phytochimique a été effectué. Ce test est basé sur la formation de précipité ou le changement de coloration de l'extrait en présence d'un réactif spécifique en présence de la famille chimique correspondante dans l'extrait (FONG H.H.S. et coll., 1977) (tableau I).

Afin de quantifier la teneur relative des familles chimiques présentes dans l'extrait, les signes suivants ont été utilisés :

- + : Présence en faible quantité
- ++ : Présence en quantité moyenne
- +++ : Présence en forte quantité

Tableau I. Tests utilisés lors du criblage phytochimique effectué sur l'extrait NAS20 (FONG H.H.S., 1977).

Familles chimiques	Tests	Réactifs	Observations
ALCALOÏDES		DRAGENDORFF, MAYER, WAGNER	Précipitation
TANINS		Gélatine + NaCl	Précipitation verte
		Gélatine + FeCl ₃ Méthanol	Précipitation Bleue
COMPOSES PHENOLIQUES		Gélatine 1%	Précipitation
STEROIDES ET TRITERPENES	LIERMAN BURCHARD	Anhydride acétique + H ₂ (SO ₄)	Coloration violette
	BADGET KEDDE	Acide picrique	Coloration rouge
	SALKOWSKI	H ₂ (SO ₄)	Anneau de séparation rouge
FLAVONOÏDES	WIL-STATER	Ruban de Mg + HCl concentré	Coloration rouge
LEUCOANTHOCYANES	BATH-SMITH	HCl concentré + bain marie	Coloration rouge violacée
ANTHOCYANES		HCl à froid	Coloration rouge
POLYSACCHARIDES		+ 3 Volumes d'éthanol	Trouble
SUCRES REDUCTEURS		Liqueur de Fehling+ Bain-marie	Précipitation rouge brique
COUMARINES		NaOH 10%	Fluorescence à l'UV
SAPONINES	MOUSSE	HCl + Agitation	Persistance d'une mousse (3cm d'épaisseur) après 30mn

II. PARTIE PHARMACOLOGIQUE

Dans le but d'étudier l'activité anxiolytique de l'extrait NAS20, des tests *in vivo* ont été effectués chez la souris. Le comportement des souris placées sur « le labyrinthe en croix surélevé » (LISTER R. G., 1987; WALF A. A. et coll., 2007) et sur « la planche à trous » (COTRIM M. D. et coll., 1998; TAKEDA H. et coll., 1998) a été observé.

1. Animaux d'expérimentation

Des souris mâles de race SWISS âgées de 8 à 10 semaines, pesant entre 15 et 25 g, ont été utilisées. Elles ont été élevées au sein de l'animalerie au LPGPC, Faculté des Sciences d'Antananarivo, avec un cycle 12h lumière / 12h obscurité, à la température de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Elles ont été nourries avec de la provende LFL 14/20, et ont eu libre accès à l'eau (BROUSTAIL. 1967 ; LAROCHE M. J. et coll., 1990 ; KANYONGA P. M. et coll., 2010). Les souris ont été mises à jeun 12 heures avant l'expérience, mais elles ont eu un libre accès à l'eau (HELLION-IBARROLA M. et coll., 2006). Une heure avant le test, les animaux ont été acclimatés dans la pièce d'expérimentation, une pièce très calme et dans la pénombre (DOUKKALI Z. et coll., 2016).

2. Étude de l'effet de l'extrait NAS20 sur la peur du vide

Un labyrinthe surélevé (EPM) a été utilisé pour étudier l'effet anxiolytique de l'extrait NAS20. Les bras ouverts du labyrinthe représentent le vide qui est un facteur anxiogène chez la souris (RODGERS R. J. et coll., 1997). Le labyrinthe surélevé a été fabriqué avec une planche peinte en noire avec des pieds peints en blanc. Il se présente sous forme de croix, avec 4 bras : 2 bras opposés ont été fermés par des parois verticales (35 x 5 x 15 cm), tandis que les 2 autres ont été laissés ouverts (35 x 5 cm). Il comporte des pieds au nombre de quatre, de 40 cm de hauteur (HATAT et coll., 2001 ; TAMBOUR et coll., 2005). **(Figure 1)**



Figure 1. Photographie d'un Labyrinthe en croix surélevé vu de haut, avec une souris sur la plateforme centrale

Les souris ont été réparties en 4 lots : 1 lot témoin et 2 lots traités avec l'extrait NAS20, et le 4^{ème} lot a été traité avec du Valium, qui a servi de produit de référence. Les souris du lot témoin ont reçu 10 ml/kg d'eau distillée par voie orale, tandis que les souris des 2 autres lots ont reçu par voie orale l'extrait NAS20 aux doses de 250 et 500 mg/kg, dissout dans un volume de 10 ml/kg. Enfin, les souris du 4^{ème} lot ont reçu 2 mg/kg de Valium dissout dans du NaCl 9 % par voie intra péritonéale (*i.p.*) dans un volume de 10 ml/kg (CLOMBOK S. et coll., 1991).

Trente minutes après l'administration de ces produits, les souris ont été placées une à une sur la plateforme centrale. Le nombre d'entrées et le temps passé dans les bras ouverts ont été enregistrés pendant 5 min.

Lorsque les 4 pattes de la souris sont entrées dans un bras ouvert, cela a été compté comme une entrée dans le bras ouvert (ADEYEMI O. O. et coll., 2006).

3. Etude de l'effet de l'extrait NAS20 sur la peur de l'espace ouvert

Une "planche à trous" a été utilisée pour étudier l'activité anxiolytique de l'extrait NAS20. C'est un dispositif qui permet d'étudier la réaction de curiosité et le désir de fuite d'un rongeur placé dans un espace ouvert (KANYONGA P. M. et coll., 2010). La planche à trous a été fabriquée avec une planche en bois de 36 cm x 36 cm (0,5 cm d'épaisseur).

Elle comporte 16 trous de 3 cm de diamètre, espacés de 2,2 cm, et est encadrée par un enclos transparent et équidistants les uns des autres (BOISSIER J. R. et coll., 1964) (**Figure 2**).



Figure 2. Photographie d'une planche à trous, vue de haut

Les souris ont été mises à jeun pendant 12 heures, puis réparties en 4 lots : 1 lot témoin, 2 lots traités avec l'extrait, et 1 lot de référence. Les animaux du lot témoin ont reçu de l'eau distillée, et les animaux des 2 lots ont reçu l'extrait aux doses respectives de 250 et 500 mg/kg par voie orale dans un volume de 10 ml/kg. Enfin, les animaux du lot de référence ont reçu 2 mg/kg de Valium dissout dans un sérum physiologique NaCl 9 ‰ par voie intra péritonéale dans un volume de 10 ml/kg (CLOMBOK S. et coll., 1991).

Trente minutes après, la souris a été placée au centre de la planche pendant 5 minutes ; et le nombre de fois où la souris a plongé sa tête dans un des trous a été compté (WOLFMAN C. et coll., 1994 ; YADAV A. V et coll., 2008).

III. EXPRESSION ET ANALYSES DES RESULTATS

Les résultats obtenus ont été exprimés en moyennes avec écarts types réduits ($\bar{m} \pm \text{e.s.m.}$), et les moyennes ont été comparées entre elles en utilisant le test paramétrique « t » de Student, avec un degré de signification $p < 0,05$.

RESULTATS



C. RESULTATS

I. PARTIE CHIMIQUE

1. Rendement de l'extraction

L'évaporation à sec du filtrat hydro-alcoolique, obtenue avec 250 g de poudre macérée dans le mélange éthanol-eau (60 : 40), donne 34,58 g d'extrait NAS20 sec; ce qui donne un rendement de l'extraction de 11%.

2. Résultats du criblage phytochimique

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait NAS20 montre qu'il contient une forte teneur en alcaloïdes, tanins, leucoanthocyanes et sucres réducteurs ; tandis qu'il contient une teneur moyenne en composés phénoliques, et enfin une faible teneur en triterpènes (**Tableau II**)

Tableau II. Les familles chimiques présentes dans l'extrait NAS20

FAMILLES CHIMIQUES	TENEURS
ALCALOIDES	+++
TANINS	+++
LEUCOANTHOCYANES	+++
SUCRES REDUCTEURS	+++
COMPOSES PHENOLIQUES	++
TRITERPENES	+

+++ : Présence en forte teneur

++ : Présence en teneur moyenne

+: présence en faible teneur

II. RESULTATS DES TESTS PHARMACOLOGIQUES

1. Effet de NAS20 sur la peur du vide chez la souris

L'administration de l'extrait NAS20 par voie orale ainsi que l'injection de Valium par voie intra péritonéale augmentent le temps de passage des souris dans les bras ouverts du labyrinthe par rapport à celui des animaux du lot témoin.

Pendant les 5 minutes d'observation, les souris du lot témoin restent $3,33 \pm 1,28$ secondes dans les bras ouverts, tandis que les souris traitées avec l'extrait NAS20 aux doses de 250 et 500 mg/kg, restent respectivement pendant $15,67 \pm 2,18$ et $23,33 \pm 1,67$ secondes dans les bras ouverts du labyrinthe ($p < 0,05$).

Les souris traitées avec le Valium à la dose de 2 mg/kg, restent $56,33 \pm 2,82$ secondes dans les bras ouverts ($p < 0,05$) (**figure 3**).

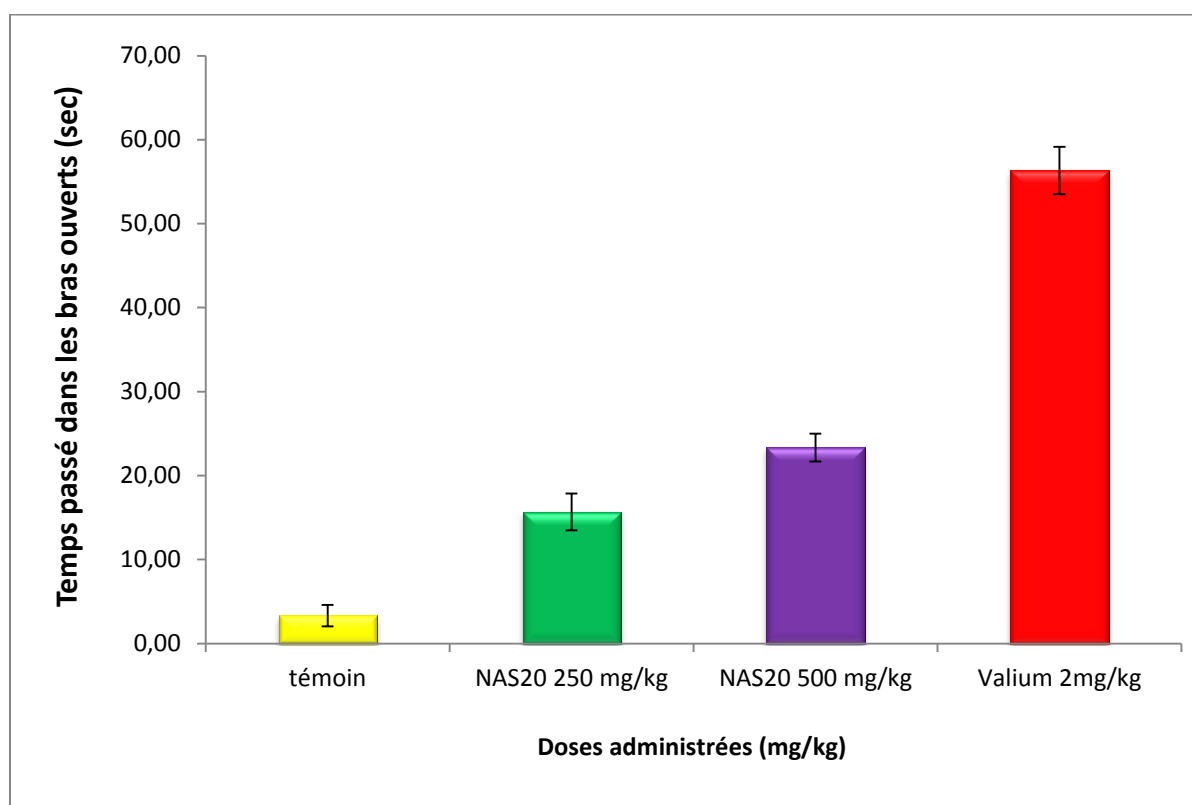


Figure 3. Temps de passage dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé pendant 5 min des souris témoins (■) et traitées avec l'extrait NAS20 administré par voie orale aux doses de 250 mg/kg (■); 500 mg/kg (■) et du Valium 2 mg/kg administré par voie intra péritonéale (■) ($\bar{m} \pm e.s.m.$; $n = 5$; $p < 0,05$).

2. Effet de NAS20 sur la peur de l'espace ouvert

L'administration de l'extrait NAS20 par voie orale ainsi que l'injection du Valium par voie intrapéritonéale diminuent le nombre de trous explorés par les souris par rapport à celui des animaux du lot témoin.

Pendant les 5 minutes d'observation, les animaux du lot témoin ont visité $24 \pm 0,77$ trous, contre $14,33 \pm 0,90$ et $11,33 \pm 0,64$ trous pour les souris traitées avec l'extrait aux doses respectives de 250 mg/kg et de 500 mg/kg, tandis que les animaux traités avec le Valium ont visité $7,00 \pm 0,77$ trous ($p < 0,05$) (figure 4).

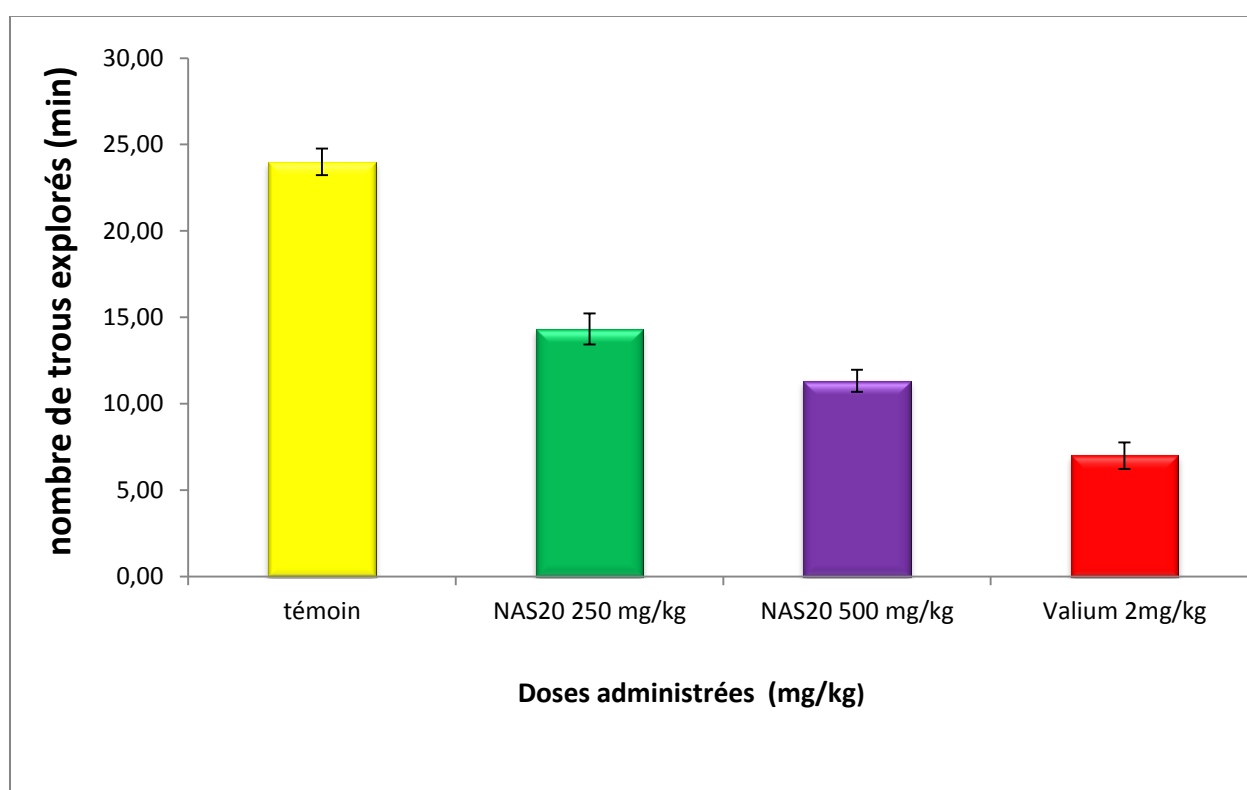


Figure 4. Nombre de trous visités par les souris placées sur la planche à trous pendant 5 min des souris témoins (■), des souris traitées avec l'extrait NAS20 à 250 mg/kg (■) et à 500 mg/kg (■) administré par voie orale et du Valium 2 mg/kg administré par voie intrapéritonéale (■) ($\bar{m} \pm e.s.m.$ $n = 3$; $p < 0,05$).

DISCUSSION



D. DISCUSSION

Notre objectif a été d'étudier l'activité anxiolytique de l'extrait NAS20. En effet, d'après les enquêtes ethno-pharmacologiques que nous avons effectuées à Ambatofotsy, le décocté des feuilles de la plante dans la famille des MYRTACEAE, à partir de laquelle l'extrait codé NAS20 est utilisé, calme le stress et la peur. Cette activité a été étudiée chez les souris, lesquelles servent de modèle idéal pour l'étude des produits anxiolytiques dans la mesure où elles sont de nature anxieuses (LISTER R. G., 1987). Deux dispositifs anxiogènes ont été mis en place pour étudier l'effet de l'extrait NAS20 sur le comportement d'évitement et d'exploration chez la souris. Le labyrinthe en croix surélevé a été utilisé pour étudier l'effet de l'extrait NAS20 sur la peur du vide chez les souris ; tandis que la planche à trous a servi à l'étude de son effet sur la peur de l'espace ouvert chez les souris.

Dans la présente étude, les souris ont reçu une dose de Valium, un anxiolytique de la classe des benzodiazépines (KANYONGA P. M. et coll., 2009), le Valium est utilisé comme produit de référence. Ce médicament potentialise l'effet de GABA qui est un inhibiteur au niveau du système nerveux central et en se liant sur le récepteur GABA_A, il favorise l'ouverture du canal Chlore et exerce son effet inhibiteur.

Le labyrinthe en croix surélevé est l'un des modèles expérimentaux disponibles pour étudier l'effet anxiolytique d'un produit chez les souris. Dans le labyrinthe en croix surélevé, les bras ouverts situés à un niveau élevé provoquent la peur ; tandis que les bras fermés offrent aux souris la sécurité (RODGERS R. J. et coll., 1997). L'augmentation du nombre de passage ou la durée de temps passé dans les bras ouverts indique une activité anxiolytique d'un produit testé. Tout comme les animaux traités avec le Valium, les animaux traités avec l'extrait passent plus de temps dans les bras ouverts du labyrinthe par rapport aux animaux témoins. Cela signifie que leur peur du vide a diminué grâce à l'extrait NAS20.

En utilisant le même dispositif expérimental : d'un côté, COTRIM M. D. et ses collaborateurs (1999) ont étudié l'activité anxiolytique de l'extrait de *Tilia europaea*, et de l'autre côté, MOHAMMED S. P. et ses collaborateurs (2014), ont exploré l'effet de *Ixora coccinea* Linn. Ils ont obtenu les mêmes résultats et ont conclu que les extraits qu'ils ont étudiés possèdent une activité anxiolytique. Sur la base de ces résultats, l'extrait NAS20 possède une activité anxiolytique.

Sur la planche à trous, l'extrait diminue le nombre de trous explorés par les souris. Or cette planche a été conçue pour étudier le comportement des souris face au désir d'explorer et d'éviter les espaces ouverts (BOISSIER J. R. et coll., 1967). Les résultats des tests effectués sur la planche à trous montrent que l'extrait NAS20 et le Valium diminuent le nombre de trous explorés, et que les souris arrivent à rester plus longtemps dans l'espace ouvert. Autrement dit, ces produits ont réduit la peur des souris face à l'espace ouvert.

DOUKKALI Z. et coll., 2015, ont utilisé la planche à trous pour étudier l'activité anxiolytique de l'extrait méthanolique d'*Urtica urens* et les résultats qu'ils ont obtenus montrent une diminution du nombre de trous explorés, et ils ont conclu que cet extrait possède une activité anxiolytique.

Par analogie, nous pouvons dire que l'extrait NAS20 possède un effet anxiolytique. Pour diminuer l'anxiété des souris, l'extrait NAS20 devrait renforcer l'action du GABA, qui est un neuromédiateur modérateur au niveau du système nerveux central, ou inhiber l'action stimulatrice de la sérotonine ou de l'adrénaline (SANGER D. J., 1985 ; PURVES D. et coll., 2005).

Il est possible que l'extrait agisse de la même manière que les feuilles de *Alchornea cordifolia* (EUPHORBIACEAE) étudiées par KAMENAN A. et coll., 2013, ou chez la racine de *Ixora coccinea* Linn (RUBIACEAE) utilisée comme sédatif par MOHAMMED S. P. et coll., 2014. D'après les résultats de ces recherches, l'activité anxiolytique de ces extraits est due à la présence d'alcaloïdes, qui agissent comme agonistes des récepteurs GABAergiques.

Nous pouvons ainsi avancer une hypothèse que les alcaloïdes présents dans l'extrait NAS20 pourraient être responsables de l'activité anxiolytique.

Les triterpènes sont aussi dotés d'activité anxiolytique, comme chez *Morus alba* L. (MORACEAE) (mulberry) (YADAV A. V. et coll., 2008).

Comme le NAS20 contient des alcaloïdes et des triterpènes, ces familles chimiques pourraient être à l'origine de son activité anxiolytique chez la souris. Le mécanisme d'action anxiolytique de l'extrait NAS20 pourrait passer par le récepteur GABA, en se fixant sur le récepteur GABA_A, pour rétablir le déséquilibre entre les neuromédiateurs activateurs (5HT/NOR) et modérateur (GABA) pour ramener l'inhibition GABAergique normale. Des études plus approfondies apporteraient plus de précisions sur son mécanisme d'action.

CONCLUSION



CONCLUSION

Les études effectuées sur l'extrait NAS20 montrent qu'il possède une activité anxiolytique.

Il diminue la peur du vide représenté par les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé, et la peur de l'espace ouvert sur la planche à trou. Cette activité pourrait résulter de la présence des alcaloïdes et des triterpènes dans l'extrait. En perspective, une étude plus approfondie de l'extrait NAS20 devrait être effectuée, en isolant les métabolites secondaires, afin d'étudier la ou les molécules responsables de l'effet ainsi que leurs mécanismes d'action.

BIBLIOGRAPHIES

ET

WEBOGRAPIES

— — —

BIBLIOGRAPHIES

ADEYEMI O. O., YEMITAN O. K., TAIWO A. E. (2006).

Neurosedative and muscle-relaxant activities of ethyl acetate extract of *Baphia nitida* AFZEL.
J. Ethnopharmacol., **106** (3): 312 – 316.

ANDRIANTSEHENO L. M., ANDRIANASY T. F., ANDRIAMBAO D. S. (2004).

Les troubles psychiatriques à Madagascar : étude clinique de 376 cas répertoriés à Mahajanga
Bull. Soc. Pathol.Exot., **97** (2): 122 - 126.

BANARD E. A., SKOLNICK P., OLSEN R.W., MOHLER H., SIEGHART W., BIGGIO G.,
BRAESTRUP C., BATESON A. N., LANGER S. Z. (1998).

International Union of Pharmacology XV Subtypes of gamma-aminobutyric acidA
receptors: classification on the basis of submit structure and receptor function.
Rev. Pharmacol., **50**: 291- 313.

BOISSIER J. R., SIMON P., WOLFF J-M. L. (1964).

L'utilisation d'une réaction particulière de la souris (Méthode de la planche à trous) pour
l'étude des médicaments psychotropes.
Thérapie., **19**: 571 - 586.

BROUSTAIL M. (1967).

La Souris de Laboratoire et son Elevage.
3^e Ed. Vigot Frères, Paris, 701 - 702.

BOWERY N. G., ENNA S. J. (2000).

Gamma-aminobutyric acid (B) receptors: first of the functional metabotropic heterodimers.
J. Pharmacol. Exp. Ther., **292**: 2 - 7.

CARNEVALE G., VIESTI D. V., ZAVATTI M., ZANOLI P. (2011).

Anxiolytic-like effect of *Griffonia simplicifolia* Baill. Seed extract in rats.
Phytomedicine., **18** (10): 848 - 851.

CLOMBOK S., STAVROU A., BONN J., MOGG K., CRITCHLOW S., RUST J. (1991).
The effects of Diazépam on anxiety-related cognition.
Cognit. Ther. Res., **15**: 459 - 467.

COTRIM M. D., FIGUEIREDO I. V., CAMRAMONA M. M. (1998).
Behavioural tests to identify anxiolytic activity of drugs.
Arq.Patol., **XXX**: 33 – 35.

COTRIM M. D., FIGUEIREDO V., CAVADAS C., PROEM A., CUNHA A. D. A.,
CARAMONA M. N., MACEDO TRA. (1999).
Pharmacological proprieties of *Tilia Europeae* aqueous extract, screening anxiolytic:
sedatives activity in mice.
Arq. Patol., **XXXXI**: 23 - 29.

DOUKKALI Z., TAGHZOUTI K., BOUIDIDA E. Z. L., RABIE K., NADJMOUDDINE M.,
CHERRAH Y., ALAOUI K. (2015).
Evaluation of anxiolytic activity of methanolic extract of *Urtica urens* in a mice model.
Behav. Brain. Funct., **11**: 19 – 20.

DOUKKALI Z., TAGHZOUTI K., BOUIDIDA E. Z. L., RABIE K., NADJMOUDDINE M.,
CHERRAH Y., ALAOUI K. (2016).
Anxiety Behavior is reduced in The Balb/C Mice that Treated by Methanolic Extract of
Urtica urens : An elevated plus Maze and Open Field Analysis.
Electronic. J. Biol., **12**: 1- 2.

FONG H. H. S., TINWAN., FARNSWORTH N. R. (1977).
Phytochemical Screening plants.
Rev. College of Pharmacy University of Illinois, Chicago, **275**: 6 - 7.

GERARD E., DURLACH C., FONTAINE-DELMONTE., FONTAINE O., BOYER P.
(2003).
L'anxiété sociale Physiologie et sciences humaines.
Ed. MARDAGA P., Belgique, **252** (7): 88 - 91.

HATA T., NISHIKAWA H., ITOH E., FUNAKAMI Y. (2001).

Anxiety-like behavior in elevated plus maze tests in repeatedly cold-stresses mice.

Jpn. J. Pharmacol., **85**: 189 - 196.

HELLION-IBARROLA M., IBARROLA D. A., MONTALBETTI Y., KENNEDY M. L., HEINICHEN O., CAMPUZANO M., TORTORIELLO J., FERNANDEZ S., WASOWSKI C., MARDER M., DE LIMA T. C. M., MORA S. (2006).

The anxiolytic-like effects of *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke(Verbenaceae) in mice.

J. Ethnopharmacol., **105** (3): 400 - 408.

KANDEL E., MARCEL F. (2007).

A la recherche de la mémoire : une nouvelle théorie.

Ed. JACOB O., Paris, 345 – 346.

KANYONGA P. M., FAOUZI M. Y. A., ZELLOU A., ESSASSI M. E., CHERRAH Y. (2010).

Synthèse et évaluation de l'activité pharmacologique de la 4-phényl- 1,5 benzodiazépin-2-one et ses dérivés.

Int. J. Biol. Chem. Sci., **4** (1): 19 - 24.

KAMENAN A., KOUAKOU-SIRANSY G., IRIE-NGUESSAN I., DALLY J., KABLAN B. (2013).

Anxiolytic activity of an aqueous extract of *Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae) leaves.

Afr. J. Pharm. Pharmacol., **7** (16): 816 - 821.

KESSLER R. C., AGUILARGAXIOLA S., ALONSO J., CHATTERJI S., LEE S., ORMEL J., USTUN T. B., WANG P. S. (2009).

The global burden of mental disorders: an update from the WHO World Mental Health (WMH) surveys.

Epidemiol. Psychiatr. Soc., **18**: 23 – 33.

LAROCHE M. J., ROUSSELET F. (1990).

Les animaux du laboratoire Ethique et Bonnes Pratiques.

Ed. Masson, Paris, 393 – 394.

LEARY M. R. (1983).

Social anxiousness: The Construct and its measurement.

J. Pers. Assess., **47**: 66 - 75.

LEDOUX J. E. (1996; 2000).

Emotion circuits in the brain.

Ann. Rev. Neurosci., **23**: 155 - 184.

LIN C. H., HUANG Y. C., TSAI J. J., GEAN P. W. (2001).

Modulation of voltage-dependent calcium currents by serotonin in acutely isolated rat amygdala neurons.

Synapse., **41**: 351 - 359.

LINDVALL O., BJORKLUND A. (1984).

General organization of cortical monoamine systems. In Monoamine innervation of cerebral cortex.

Ed. DESCARTES L., READER T. A., JASPER, H. Liss, New York, 9 - 40.

LISTER R. G. (1987).

The use of a plus maze to measure anxiety mouse.

Psychopharmacol., (Berl). **92** (2): 180 - 185.

LUCKI I. (1998).

The spectrum of behaviors influenced by serotonin.

Biol. Psychiatr., **44** (3): 151 - 162.

LYDIARD R. B. (2003).

The role of GABA in anxiety disorders.

J. Clin. Psychiatr., **64** (3): 21 - 27.

MOHAMMED S. P., LATHEEF N., SRI G. P. (2014).

Evaluation of Anxiolytic Activity of *Ixora coccinea* Linn. Ethanolic Extract in Swiss Albino Mice.

Clin. Exp. Pharmacol., **4**: 146 – 147.

PRIME G. (2013).

Synthèse Bibliographique en Biologie et Biotechnologie : Neurobiologie de la peur et de la colère chez l'humain-similitudes.

Université de Rennes 1- UFR Sciences de la Vie et de l'Environnement, 14 – 15.

PURVES D., AUGUSTINE J. G., FITZPATRICK D., HALL C. W. (2005).

Neurosciences et cognition, chap. 6.

3^e Ed. De Boeck Supérieur, Belgique, 148 - 149.

RAVO O. V. V. (2013).

Etude in vivo de l'activité anxiolytique de l'extrait BSE chez la souris.

Mémoire de DEA en Pharmacologie, Facultés des Sciences, Université d'Antananarivo, 2 – 3.

REINER Q., GARDIER A. M., DAVID D. J., HEN R. (2009).

Mécanismes des effets comportementaux de type anxiolytique / antidépresseur de la Fluoxétine (Prozac ®). Implication de la neurogenèse hippocampique.

Med. Sci., **25** (10): 795 – 798.

RODGERS R. J., DALVI A. (1997).

Anxiety defence and the elevated plus maze.

Neurosci. Behav Rev., **21**: 801 - 810.

SANGER D. J. (1985).

GABA and the behavioral effects of anxiolytic drugs.

Life. Sci., **36** (16): 1503 - 1513.

TAKEDA H., TSUJI M., MATSUMIYA T. (1998).

Changes in head dipping behavior in the hole board reflect the anxiogenic and / or anxiolytic state in mice.

Eur. J. Pharmacol., **350** (1): 21 - 29.

TAMBOUR S., DIDONE V., TIRELLI E., QUERTEMONT E. (2005).

Dissociation between the locomotor and anxiolytic effects of acetaldehyde in the elevated plus-maze: evidence that acetaldehyde is not involved in the anxiolytic effects of ethanol in mice.

Eur. Neuropsychopharmacol., **15**: 655 - 662.

TANAKA M., YOSHIDA M., EMOTO H., ISHII H. (2000).

Noradrenaline systems in the hypothalamus amygdala and locus coeruleus are involved in the provocation of anxiety: basic studies.

Eur. J. Pharmacol., **405**: 397 - 406.

WALF A. A., FRYE C. A. (2007).

The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety related behavior in rodents.

Nat. Protoc., **2** (2): 322 - 328.

WANG S. J., COUNTINHO V., SIHRA T. S. (2002).

Presynaptic cross-talk of β -adrenoreceptor and 5-hydroxytryptamine receptor signalling in the modulation of glutamate release from cerebrocortical nerve terminals.

Br. J. Pharmacol., **137**: 1371 - 1379.

WHITTCHEN H. V., JACOBI F., REHN J. A., GUSTAVSSON M., SVENSSON B., JONSSON. (2011).

The size and Burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010.

Eur. Neuropsychopharmacol., **21**: 655 - 579.

WOLFMAN C., VIOLA H., PALADINI A. C., DAJAS D., MEDINA J. H. (1994).

Possible anxiolytic effects of Chrysin, a central Benzodiazepin receptor ligand isolated from *Passiflora coerulea*.

Pharmacol. Biochem. Behav., **47**: 1- 4.

YADAV A. V., KAWALE L. A., NADE V. S. (2008).

Effect of *Morus alba* L. (mulberry) leaves on anxiety in mice.

Indian. J. Pharmacol., **40**: 36 – 37.

YAN Z. (2002).

Regulation of gabaergic inhibition by serotonin signaling in prefrontal cortex: molecular mechanisms and fonctionnal implications.

Mol. Neurobiol., **26** (2-3): 203 - 216.

ZHANG X., STEINHOFF B., STOTT G., ZHANG G. (1998).

Réglementation des médicaments à base de plantes. La situation dans le monde.

Ed WHO/TRM, Organisation mondiale de la Santé, Genève, **1**: 1 – 2.

WEBOGRAPHIES

SMITH P. (2010).

GABA & Serotonin Deficiency Anxiety.

Balancing Brain Chemistry.

<http://www.balancingbrainchemistry.co.uk/peter-smith/26/GABA-Deficient-Anxiety.html>.

(Consulté le 15 Novembre 2016).

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/2003/fs134/fr/>. (Consulté le 15 Novembre 2016).

ETUDE DE L'ACTIVITE ANXIOLYTIQUE DE L'EXTRAIT NAS20 CHEZ LA SOURIS

Auteur : RASOLOHARINJATOVO SANDIE MARIA

Adresse : LOT II A 140 TER ANTANINANDRO
AMPANDRANA

Contact : +261 349778679

E-mail : srasoloharinjatovo@yahoo.com

Année : 2015-2016

Rapporteur : RANDRIANAVONY Patricia

Laboratoire : Laboratoire de Pharmacologie Générale,
de Pharmacocinétique et de Cosmétologie

B.P. : 8351

E-mail : frandimbi@gmail.com

Domaine des Sciences et technologies

UNIVERSITÉ D'ANTANANARIVO

RESUME

L'objet de la recherche consistait à étudier l'activité anxiolytique de l'extrait NAS20 chez les souris. Les souris ont été placées dans deux conditions anxiogènes en utilisant le labyrinthe en croix surélevé et la planche à trous. L'administration de l'extrait NAS20 par voie orale augmente le temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe de $3,33 \pm 1,28$ secondes contre $15,67 \pm 2,18$ et $23,33 \pm 1,67$ secondes chez les souris traitées avec l'extrait aux doses respectivement de 250mg/kg et de 500 mg/kg ($p < 0,05$). Le nombre de trous explorés par les souris diminue de $24 \pm 0,77$ trous à $14,33 \pm 0,90$ trous et $11,33 \pm 0,64$ trous chez les souris traitées avec l'extrait, aux doses respectives de 250 mg/kg et de 500 mg/kg. Ces résultats montrent que l'extrait NAS20 possède une activité anxiolytique, ce qui pourrait être due à la présence des alcaloïdes ou des triterpènes.

ABSTRACT

The purpose of the tests was to examine the anxiolytic effect of the NAS20 extract in mice. The mice have been exposed to two anxiety-inducing environment by using the elevated cross-maze and the hole board. The injection of the NAS20 extract orally increases the time spent in open arms of the maze around 3.33 ± 1.28 versus 15.67 ± 2.18 and 23.33 ± 1.67 seconds for mice treated with the extract at some doses respectively of 250 mg/kg and of 500 mg/kg ($p < 0,05$). The number of holes explored by mice decreases from 24 ± 0.77 holes to 14.33 ± 0.90 holes and 11.33 ± 0.64 holes for mice treated with the extract at some doses respectively of 250 mg/kg and of 500 mg/kg. Such outcomes show the sedative properties of the NAS20 extract, which may result from the presence of alkaloids or triterpenes.

Keywords: Anxiolytic, mice, Hole board, Evaluated Cross Maze