

TABLES DES MATIÈRES

TABLES DES MATIÈRES :	i
LISTE DES TABLEAUX :	ii
LISTE DES FIGURES :	iii
LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS	iv
I. INTRODUCTION :	1
II. MATERIELS ET MÉTHODES :	4
A-PARTIE CHIMIQUE :	4
1-)Extraction :	4
2-)Criblage phytochimique :	4
B-) PARTIE PHARMACOLOGIQUE :	6
1-) Animaux d'expérimentation:	6
2-) Étude de l'activité anti-sécrétoire de l'extrait RSNUF-18 :	6
3-) Étude de l'activité de l'extrait RSNUF-18 sur la motilité intestinale :	7
4-) Étude du mécanisme d'action de l'extrait RSNUF-18 :	7
C-) EXPRESSION ET ANALYSE DES RÉSULTATS :	8
III-) RÉSULTATS :	9
A-) PARTIE CHIMIQUE :	9
1-)Rendement de l'extraction :	9
2-) Résultats du criblage phytochimique :	9
B-) PARTIE PHARMACOLOGIQUE :	10
1-) Effet de l'extrait RSNUF18 sur la diarrhée provoquée par MgSO ₄	10
2-) Effet de l'extrait RSNUF-18 sur la motilité intestinale :	10
3-) Mécanisme d'action de l'extrait RSNUF-18.....	11
DISCUSSION :	13
CONLUSION :	15
BIBLIOGRAPHIE :	16

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Tests et réactifs utilisés pour déterminer les principales familles chimiques présentes dans l'extrait RSNUF-18	5
Tableau II. Composition de la solution de Tyrode en mM.....	7
Tableau III. Les familles chimiques présentes dans l'extrait RSNUF-18.....	9

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Variation du volume du fluide intestinal provoqué par le MgSO ₄ administré par voie orale, chez les témoins et les cochons d'Inde traités avec l'extrait RSNUF-18 administré <i>per os</i> à la dose de 100, 200 et 400 mg/kg.....	10
Figure 2. Relâchement de la contraction maximale de l'iléon isolé de cochon d'Inde provoquée par l'Acétylcholine à 10 ⁻³ M en fonction de la concentration de l'extrait RSNUF-18 dans le bain.....	11
Figure 3. Variation de la contraction de l'iléon isolé de cochon d'Inde provoquée par l'Acétylcholine en absence et en présence de l'extrait RSNUF-18 aux concentrations de 0,25 ; 0,5 et 0,75 mg/ml dans le bain	12

LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS

Ach	: Acétylcholine.
Al	: alii
CE50	: Concentration donnant 50 % d'effet.
°C	: Degré Celsius.
E.D	: Eau distillée.
e.s.m	: Ecart type réduit.
G	: Gramme.
Kg	: Kilogramme.
LPGPC	: Laboratoire de pharmacologie générale, de pharmacocinétique et de cosmétologie.
MgSO ₄	: Sulfate de Magnésium.
ml	: Millilitre.
mn	: Minute.
mM	: Millimole.
M	: Mole.
mg/kg	: Milligramme par kilogramme.
µl	: Microlitre.
ml/kg	: Millilitre par kilogramme.
N	: Nombre d'animaux.
P	: Seuil de signification.
%	: Pourcentage.
NaCl	: Chlorure de sodium.
H ₂ SO ₄	: Acide sulfurique.
FeCl ₃	: Chlorure de fer.
HCl	: Acide chlorhydrique
UV	: Ultra violet.

INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

La diarrhée est l'une des maladies qui causent beaucoup de mortalité dans les pays sous-développés. Selon l'estimation de l'OMS 525000 enfants de moins de cinq ans meurent chaque année (SINI *et al.*, 2011). Elle est caractérisée par une émission de selles trop fréquente, trop abondante et de consistance anormale qui peut passer de très molle à liquide. En pratique clinique on parle de diarrhée, lorsqu' il y a au moins trois selles très molles à liquide par jour (OMS., 2009).

Les maladies diarrhéiques constituent la deuxième cause de morbidité chez les enfants de moins de 5 ans en Afrique, au sud du Sahara et plus particulièrement en Côte d'Ivoire (KONE *et al.*, 2014). Les données de l'Enquête démographique et de santé de Madagascar (EDSMD) entre 2008–2009 indiquent une prévalence de 8 % en 2009 chez les enfants de moins de cinq ans (RAZAFIMAHATOMBO., 2012).

La diarrhée résulte d'un déséquilibre entre l'absorption et la sécrétion d'eau au niveau de la lumière intestinale. A l'état normal, 9 à 10 litres d'eau arrivent dans la lumière intestinale, chaque jour dont 1,5 à 2 litres proviennent de l'ingestion alimentaire et le reste provient de différentes sécrétions au niveau du tube digestif : la salive, sécrétions gastriques, pancréatiques et hépatiques. Plus de 90 % de ce fluide sont réabsorbés. Dans une crise de diarrhée, soit la sécrétion est trop élevée, soit la réabsorption est inhibée (VELÁZQUEZ *et al.*, 2012).

différentes maladie peuvent entraîner la diarrhée, et selon son origine elle peut être classée en diarrhée osmotique, diarrhée sécrétoire et diarrhée motrice (SHARMA *et al.*, 2010). La diarrhée osmotique est due à la rétention d'eau dans la lumière intestinale, conséquence de la présence de substances osmotiquement actives dans la lumière intestinale, par exemple, le lactose et le saccharose. Ces molécules peuvent être responsables de diarrhée osmotique lorsqu' elles sont prises en quantité importante dans une période de temps courte. Il peut s'agir aussi de produits indigestes comme le lactose et le fructose (GALVEZ, *et al.*, 1993)

Quant à la diarrhée sécrétoire, elle est due à l'hypersécrétion d'eau et d'électrolytes par les entérocytes vers la lumière intestinale. En général, ce type de diarrhée est provoqué par des agents pathogènes tels que *Escherichia coli*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*, le virus comme *Rotavirus*. Ces agents pathogènes sécrètent des toxines qui irritent la paroi intestinale, à l'origine de l'hypersécrétion (AKTER *et al.*, 2013).

Par ailleurs, la diarrhée motrice est la conséquence de l'accélération du transit intestinal. Celle-ci est provoquée par l'acétylcholine, la sérotonine ou l'histamine. Elle diminue le temps de contact entre le contenu intestinal et les entérocytes. Dans ce cas, ces derniers n'ont pas assez de temps

pour réabsorber le contenu intestinal (AHMADU et al., 2007). Enfin, la diarrhée peut aussi être provoquée par des médicaments, ou par une baisse de la réabsorption d'eau et des électrolytes (RAHAN., 2013).

Selon sa durée, la diarrhée peut être classée en diarrhée aigüe et chronique. La diarrhée est dite aigüe lorsqu'elle dure moins d'une semaine. En général, ce type de diarrhée est d'origine médicamenteuse ou infectieuse. Par contre, elle est dite chronique lorsqu'elle dure plus de deux semaines, ce type de diarrhée est dû aux troubles fonctionnels intestinaux (THOMSON et al., 2003).

La diarrhée provoque une perte excessive d'eau et d'électrolytes, à l'origine de troubles physiologiques. Il est donc indispensable de contrôler la diarrhée, en prescrivant des anti-diarrhéiques qui ralentissent le transit intestinal ou qui inhibent la sécrétion. Par exemple le lopéramide (Imodium©) diminue le péristaltisme intestinal, augmentant ainsi le temps de résorption du contenu intestinal. Les anti-sécrétoires comme l'acotorphan (Tiorphan ©) inhibent l'enképhalinase intestinale, or cette hormone assure la réabsorption d'eau au niveau de la paroi intestinale (HAO., 2010).

Par ailleurs, les adsorbants comme le kaolin sont aussi utilisés comme anti-diarrhéiques. Ce sont des substances inertes et non résorbées, mais qui adsorbent les gaz, les bactéries, les virus et les toxines. Ils tapissent également la paroi intestinale, la protégeant ainsi contre l'agression des agents irritants (OMS, 1990).

Enfin, dans le cas de diarrhée d'origine infectieuse, on prescrit des anti-infectieux intestinaux qui sont des antibiotiques intestinaux. Ils exercent un effet bactériostatique ou bactéricide dans la lumière intestinale comme la tétracycline qui a un effet bactériostatique ; par contre les fluoroquinolones comme pefloxacine, ofloxacine sont des bactéricides (GUILLOT et al., 1989).

Dans la médecine traditionnelle, de nombreuses plantes médicinales sont utilisées pour traiter la diarrhée comme la racine de *Dodonaea viscosa* (RAJAMANICKAM et al., 2010), les feuilles de *Moringa oleifera* (MIRSAN et al., 2014). A Madagascar les gens utilisent le décocté des feuilles de *Psidium goyava* (goavy) (MYRTACEAE), de *Rourea Orientalis* (Kitsongo) (CONNARACEAE), de *Terminalia catappa* ou (badamera) (COMBRETACEAE), de *Phylmantus casticum* (sanira) (EUPHORBIACEAE) contre la diarrhée (RAKOTOBE et al., 1993).

Notre étude a porté sur l'extrait des feuilles d'une plante utilisées dans la prise en charge de la diarrhée. Nous avons effectué des enquêtes ethnopharmacologiques à Ambositra, Fianarantsoa, où la population locale utilise cette plante lorsque les symptômes suivants sont présents : maux

de ventre suivis d'une émission de selles molles, voire liquides. En analysant ces informations, nous pensons que cette plante pourrait être un anti diarrhéique. Pour étudier, l'activité anti-diarrhéique de l'extrait RSNUF-18 des tests *in vivo* et *in vitro* ont été effectués. Le test *in vivo* par la méthode *d'enteropooling* et des tests *in vitro* sur l'iléon isolé de cochon d'Inde contracté par l'acétylcholine.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

II. MATÉRIELS ET MÉTHODES

A. PARTIE CHIMIQUE

1-) Méthode d'extraction

Les feuilles de la plante utilisée dans ce travail ont été récoltée dans la région d'AMORON'IMANIA au mois de septembre 2017. Elle a été séchée à l'ombre, dans une salle aérée, à la température ambiante pendant un mois. Deux cent grammes du matériel sec ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique à marteau (Brook Crompton série 2000[®]). La poudre obtenue a été macérée dans 1,5 d'un mélange éthanol- eau (60 : 40) pendant 72 h. Le macérât a été agité pendant 10 mn une fois par jour. Ensuite, il a été filtré sur du coton hydrophile. Le filtrat obtenu a été évaporé à sec à l'aide d'un distillateur à la température de 80° C, puis dans un bain marie à la température de 100° C. L'extrait obtenu a été codé RSNUF-18, et pesé pour déterminer le rendement selon la formule :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{masse de l'extrait}}{\text{masse de la plante sèche}} \times 100$$

2. Criblage phytochimique

Ce test a pour but d'identifier les familles chimiques présentes dans l'extrait. Des réactifs spécifiques ont été utilisés. Chaque réactif réagit avec la famille correspondante soit en formant un précipité ou soit en provoquant un changement de coloration (FONG *et al.* 1977) (Tableau I).

Tableau I. Tests et réactifs utilisés pour déterminer les principales familles chimiques présentes dans l'extrait RSNUF-18 (FONG *et al.*, 1977).

Familles chimiques	Tests	Réactifs	Observations
ANTHOCYANES	BATH-SMITH	HCl à froid	Coloration rouge
LEUCOANTHOCYANES		HCl concentré + bain marie	Coloration rouge violacée
SAPONINES	MOUSSE	HCl + Agitation	Persistance d'une mousse (3cm d'épaisseur) après 30mn
SUCRES RÉDUCTEURS		Liqueur de Fehling+ Bain-marie	Précipitation rouge brique
POLYSACCHARIDES		+ 3 Volumes d'éthanol	Trouble
COUMARINES		NaOH 10%	Fluorescence à l'UV
ALCALOÏDES		DRAGENDORFF, MAYER, WAGNER	Précipitation
TANINS		Gélatine + NaCl	Précipitation verte
		Gélatine + FeCl ₃ Méthanol	Précipitation Bleue
COMPOSÉS PHÉNOLIQUES		Gélatine 1%	Précipitation
FLAVONOÏDES	WIL-STATER	Ruban de Mg + HCl concentré	Coloration rouge
STÉROÏDES ET TRITERPÈNES	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

B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE

L'activité de l'extrait RSNUF-18 a été étudiée sur une diarrhée expérimentale provoquée par le sulfate de magnésium, administré par voie orale chez le cochon d'Inde (SIREERATAWONG *et al.*, 2012), tandis que son effet sur la motilité intestinale a été étudié *in vitro* sur l'iléon isolé de cochon d'Inde, en utilisant l'acétylcholine comme agent contracturant.

1. Animaux d'expérimentation

Des cochons d'Inde mâles et femelles pesant entre 300 et 350 g ont été utilisés. Ils ont été élevés dans l'animalerie du Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie (LPGPC) sous un cycle de lumière et d'obscurité 12/12 heures à la température ambiante. Ces animaux ont été nourris avec des feuilles fraîches de graminées et ont été mis à jeun pendant 18 heures avant toutes les manipulations.

2. Étude de l'action de RSNUF-18 sur la diarrhée provoquée par le sulfate de magnésium

Le but de ce test est d'étudier l'activité de l'extrait RSNUF-18 sur la diarrhée sécrétoire provoquée par le MgSO₄ (LIU *et al.*, 2014).

Des cochons d'Inde mis à jeun pendant 18 heures ont été utilisés dans ce test. Ils ont été divisés en quatre lots : un lot témoin et trois lots traités avec l'extrait. Les animaux du lot témoin ont reçu 10 ml/kg d'eau distillée par voie orale, et les animaux des trois lots traités ont reçu par voie orale l'extrait, aux doses de 100, 200 et 400 mg/kg, dans 10 ml/kg d'eau distillée (TADESSE *et al.* 2011).

Puis 45 minutes après l'administration de l'eau distillée et de l'extrait, 2 g/kg de MgSO₄ dissous dans 10 ml/kg d'eau distillée ont été administrés par voie orale, chez tous les animaux (MIGUEL *et al.*, 2002). Puis après 30 minutes, les animaux ont été anesthésiés par inhalation d'éther diéthylique, et une laparotomie a été effectuée. L'intestin grêle a été repéré, puis une ligature a été effectuée au niveau du pylore et de la jonction iléo coecale. Ensuite, l'intestin grêle a été prélevé et le fluide contenu dans cette portion a été recueilli, puis centrifugé à 3000 tours par minute, pendant 10 minutes. Le surnageant a ensuite été récupéré, puis son volume a été mesuré (YADAV, 2015).

3. Étude de l'activité de l'extrait RSNUF-18 sur la motilité intestinale.

Des cochons d'Inde de deux sexes ont été utilisés. Ils ont été mis à jeun pendant 18 heures avant l'expérience. Ces animaux ont été anesthésiés par inhalation d'éther diéthylique, puis exsanguinés en coupant les deux carotides. Ensuite, une laparotomie a été effectuée et l'iléon a été prélevé. Cet organe a tout de suite été plongé dans une boîte de Pétri contenant une solution de Tyrode (Tableau II), aérée avec de l'air à l'aide d'un aérateur électrique (KOKO-108), à la température ambiante (GANDHIMATHI *et al.*, 2009).

Tableau II. Composition de la solution de Tyrode (mmole/l) (KITCHEN, 1984)

Molécules	NaCl	KCl	MgCl ₂	Na ₂ HPO ₄	CaCl ₂	NaHCO ₃	Glucose
Concentration	136,75	2,68	1,05	0,35	2,37	11,90	5,55

Ensuite, les mésentères ont été enlevés, puis l'iléon a été coupé en morceaux de 1,5 cm de long. Un morceau de l'iléon a été monté dans une cuve à organe isolé contenant 20 ml de solution de Tyrode, maintenue à la température de 37° C, et aérée de l'air (GONG *et al.*, 2017). Une des extrémités de l'iléon a été fixée au fond de la cuve à l'aide d'un fil inextensible, et l'autre a été reliée à un capteur isométrique (Statham Gould[©]) sous une tension de 1,5 g (GUTIERREZ *et al.*, 2013).

La préparation a ensuite été laissée se stabiliser pendant 45 min. Pendant cette période, la préparation a été rincée toutes les 15 min. après cette stabilisation, de l'acétylcholine a été injectée dans le bain à la concentration finale de 10⁻⁵ M pour tester la viabilité de l'iléon et pour le sensibiliser (SARALAYA *et al.*, 2010). Puis, l'organe a été rincé et laissé se stabiliser de nouveau pendant 30 min. Pendant cette période, il a été rincé toutes les 15 minutes. Après cette période, l'acétylcholine a été injectée dans le bain, d'une manière cumulative à partir de 10⁻⁹ M, jusqu'à l'obtention de la contraction maximale. Au plateau de la contraction, l'extrait RSNUF-18 a été injecté dans le bain d'une manière cumulative, jusqu'au relâchement total de l'organe (BOYINA *et al.*, 2014).

4. Étude du mécanisme d'action de l'extrait RSNUF-18

Une portion d'iléon isolé de cochon d'Inde débarrassé de ses mésentères a été montée dans une cuve à organe isolé contenant une solution de Tyrode maintenue à la température de 37° C et aérée avec de l'air. La préparation a été laissée se stabiliser pendant 45 minutes. Pendant cette période la solution de survie a été renouvelée toutes les 15 minutes. Puis, l'acétylcholine a été injectée dans le bain à la concentration finale dans le bain de 10⁻⁵ M pour

s'assurer de la viabilité de l'organe et pour le sensibiliser (OH *et al.*, 2011). Ensuite, l'organe a été rincé et laissé se stabiliser de nouveau pendant 30 min pendant lesquelles, il a été rincé toutes les 15 minutes. Après cette période, l'acétylcholine a été injectée dans le bain d'une façon cumulative à partir de 10^{-9} M, jusqu'à l'obtention de la contraction maximale. Puis l'organe a été rincé de nouveau. Après, il a été incubé dans un bain contenant l'extrait RSNUF-18 à la concentration de 0,25 mg/ml pendant 10 minutes. Puis de l'acétylcholine a été injecté dans le bain d'une manière cumulative jusqu'à l'obtention de la contraction maximale. Ensuite il a été rincé et laissé se stabiliser de nouveau pendant 45 minutes. Pendant cette période, il a été rincé 3 fois.

La même manipulation a été refaite en pré incubant l'organe dans un bain contenant RSNUF-18 aux concentrations de 0,5 puis 0,75 mg/ml. L'amplitude des contractions provoquées par l'acétylcholine en absence et en présence de l'extrait RSNUF-18 a été mesurée puis transformée en pourcentage par rapport à la contraction maximale provoquée par l'acétylcholine seule. Ces amplitudes ont ensuite été rapportées sur une échelle semi logarithmique en fonction de la concentration en acétylcholine dans le bain, puis la CE₅₀ de l'acétylcholine a été déterminée graphiquement à partir de cette courbe (MOTGHARE *et al.*, 2017).

C-EXPRESSION ET ANALYSE DES RÉSULTATS

Les résultats ont été exprimés sous forme moyenne avec écart type réduit ($\bar{m} \pm \sigma$). Ces moyennes ont été comparé entre elles en utilisant le test 't' de Student. Une valeur de $P < 0,05$ a été considérée comme significative.

RÉSULTATS

Rapport-gratuit.com 
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

III. RÉSULTATS

A. PARTIE CHIMIQUE

1. Rendement de l'extraction

Après l'évaporation à sec du filtrat obtenu à partir de 200 g de poudre de la plante, 15 g d'extrait pâteux très amère ont été obtenus, ce qui correspond à un rendement de 7,5 %.

2. Résultats du criblage phytochimique

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait RSNUF-18 révèle la présence d'alcaloïdes, de tanins et de composés phénoliques en forte teneur, tandis que les anthocyanes, les polysaccharides et les triterpènes sont présents en teneur moyenne, et enfin, les sucres réducteurs et les flavonoïdes sont présents en faible teneur (Tableau III).

Tableau III. Résultats du criblage phytochimique effectué sur l'extrait RSNUF-18.

Familles chimiques	Teneur
Alcaloïdes	+++
Tanins	+++
Composés Phénoliques	+++
Anthocyanes	++
Polysaccharides	++
Triterpènes	++
Sucres réducteurs	+
Flavonoïdes	+
Stéroïdes	+

+++ : Forte teneur

++ : Teneur moyenne

+ : Faible teneur

B. PARTIE PHARMACOLOGIE

1. Effet de l'extrait RSNUF18 sur la diarrhée provoquée par MgSO₄

L'administration de sulfate de magnésium (MgSO₄), par voie orale, chez les cochons d'Inde provoque une accumulation de fluide dans la lumière intestinale. Cependant, le volume de fluide dans la lumière intestinale des animaux traités avec l'extrait est inférieur à celui des animaux du lot témoin. Ce volume diminue en augmentant la dose de l'extrait administrée. Le volume du fluide intestinal des animaux du lot témoin est égal à $4,83 \pm 0,17$ ml contre $3,23 \pm 0,09$, $2,3 \pm 0,11$ et $1,26 \pm 0,12$ ml chez les animaux traités avec l'extrait aux doses de 100, 200 et 400 mg /kg (P<0,05) (figure 1). Cela montre que l'extrait RSNUF18 possède une activité anti sécrétoire.

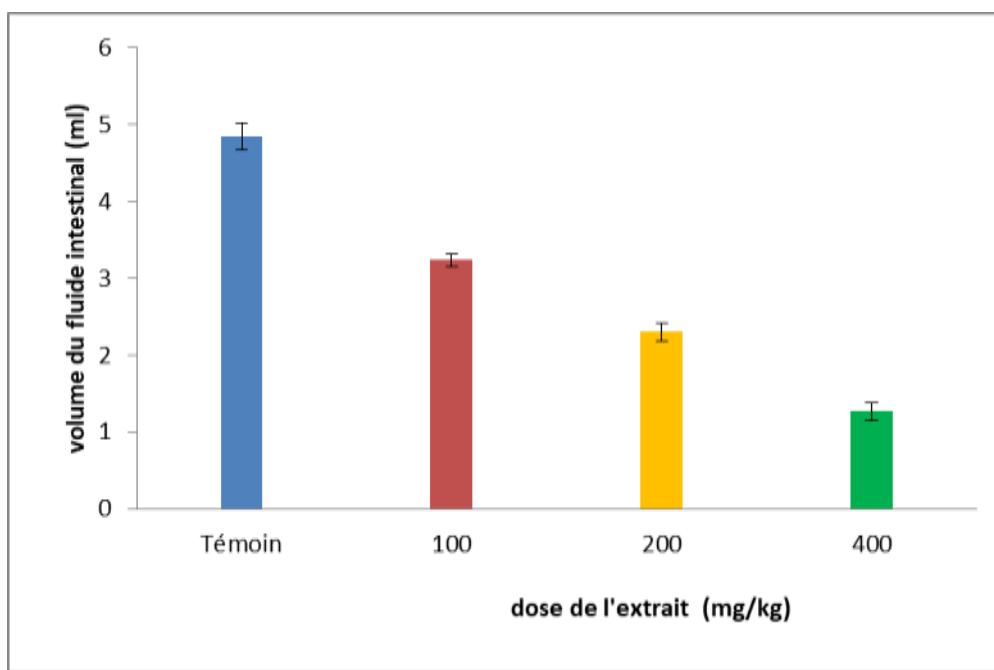


Figure 1. Variation du volume du fluide intestinal provoqué par 2 ml de MgSO₄ administré par voie orale chez les cochons d'Inde témoins et traités avec l'extrait, administré par voie orale, aux doses de (■) 100, (■) 200, (■) 400 mg/ml ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$; n=3, P<0,05).

2. Effet de l'extrait sur la motilité intestinale

L'injection d'acétylcholine dans le bain contracte l'iléon. L'amplitude de cette contraction augmente avec sa concentration dans le bain. A des concentrations croissantes, allant de 10^{-9} à 10^{-3} M, l'amplitude passe de 20,84 à 100 %. La détermination graphique de la CE₅₀ de l'acétylcholine donne une valeur de $2 \cdot 10^{-6}$ M. En injectant l'extrait dans le bain, l'iléon isolé

se relâche en présence d'une concentration croissante de l'extrait dans le bain. La CE₅₀ de l'extrait est égale à 0,5 mg/ml. D'après ces résultats, l'extrait RSNUF18, relâche l'iléon contracté avec l'acétylcholine, et diminue la motilité intestinale.

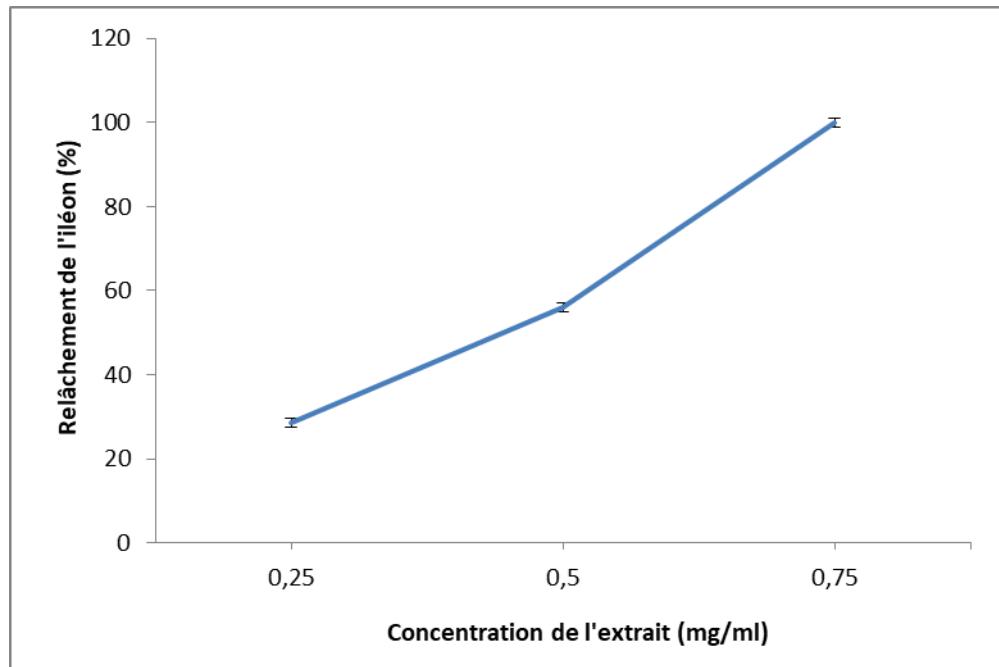


Figure 2. Variation de la contraction de l'iléon isolé de cochon d'Inde provoqué par l'acétylcholine en présence de l'extrait injecté dans le bain de façon cumulative ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$; n = 3, P < 0,05).

3. Mécanisme d'action de l'extrait RSNUF-18

En pré incubant l'iléon isolé de cochon d'inde dans le bain contenant de l'extrait RSNUF-18, l'effet de l'acétylcholine diminue, l'amplitude de la contraction maximale diminue et sa CE₅₀ augmente. L'amplitude maximale de 100 % en absence de l'extrait passe à $83,39 \pm 3,5$, $45,94 \pm 1,54$ et $25,5 \pm 0,77$ % en présence de RSNUF-18 aux concentrations de 0,25, 0,5 et 0,75mg/ml dans le bain (P<0,05). En plus, la CE₅₀ de l'acétylcholine passe de 2×10^{-6} M , en absence de l'extrait, à 3×10^{-6} M 4×10^{-5} et 6×10^{-5} M en présence de l'extrait aux concentrations de 0,25, 0,5 et 0,75mg/ml dans le bain (P < 0,05) (figure 3). Ces résultats montrent que l'extrait inhibe l'action de l'acétylcholine d'une façon non compétitive.

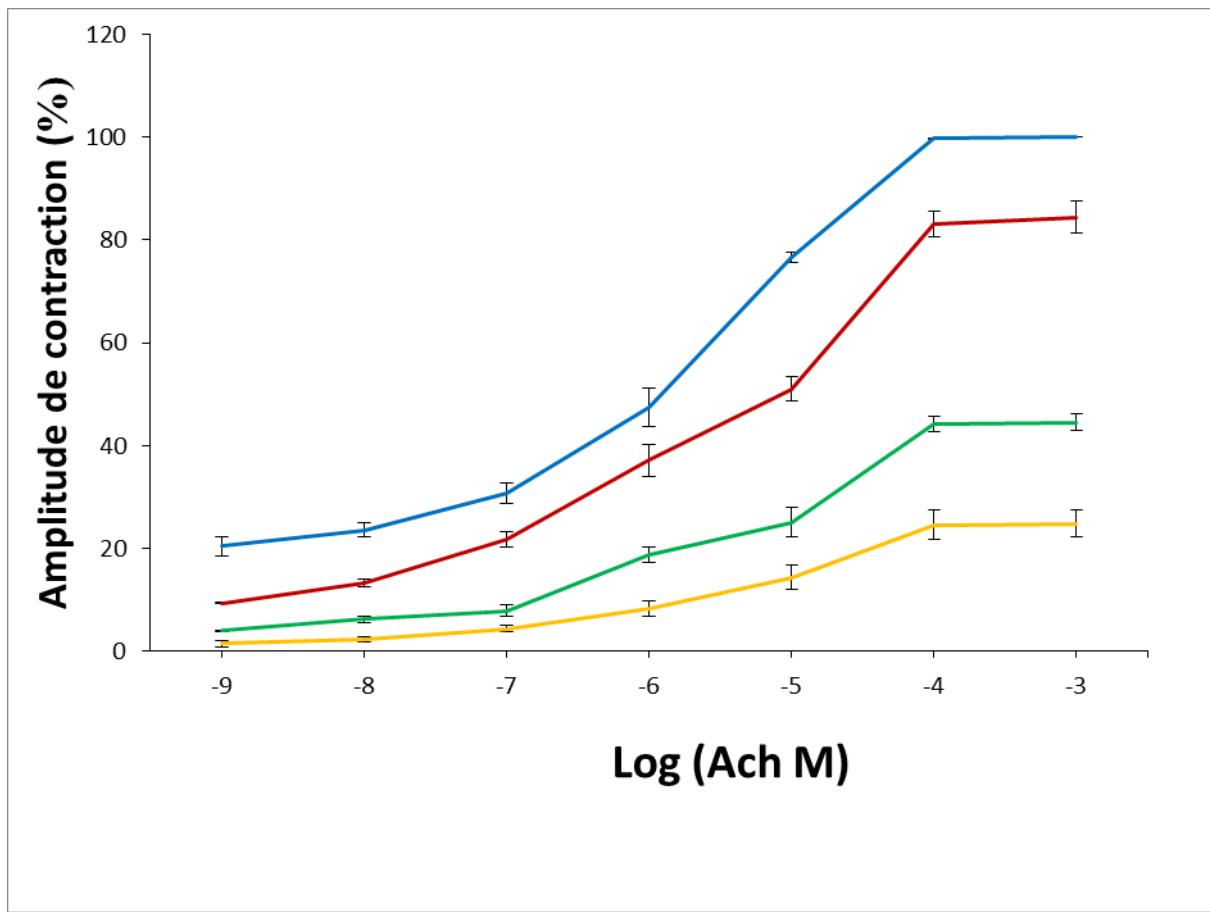


Figure 3. Variation de l'amplitude de la contraction de l'iléon isolé de cochon d'inde provoquée par l'acétylcholine, injectée dans le bain de façon cumulative, en absence et en présence de l'extrait RSNUF-18 à (■) 0,25, (■) 0,5 et (■) 0,75mg/ml ($\bar{m} \pm \sigma$; n = 3, P < 0,05).

DISCUSSION

IV. DISCUSSION

Notre objectif a été d'étudier l'effet de l'extrait RSNUF-18 sur la diarrhée. Nos résultats montrent que cet extrait diminue la sécrétion et la motilité intestinales.

Le MgSO₄ est une substance, non absorbable par les entérocytes. Son administration par voie orale attire l'eau dans la lumière intestinale et entraîne une accumulation de fluide dans cette lumière intestinale, provoquant ainsi une diarrhée osmotique (SADRAEI *et al.*, 2018). Or, l'extrait RSNUF-18 diminue le volume du fluide dans la lumière intestinale provoquée par le sulfate de magnésium. Cela pourrait être dû à la diminution de la sécrétion d'eau et d'électrolytes vers la lumière intestinale. Il se peut que cela soit dû à la fermeture des aquaporines au niveau des entérocytes (RAO *et al.*, 2012) provoquée par les tanins présents dans l'extrait. Ces molécules dénaturent les protéines, en formant un complexe tannates protéiques, et ferment les canaux au niveau de la membrane cellulaire. Ce complexe recouvre aussi la muqueuse intestinale, la rendant plus résistante ce qui diminue la sécrétion vers la lumière intestinale (EMUDAINOHWO *et al.*, 2015). Les flavonoïdes diminuent la aussi la sécrétion intestinale en inhibant le cyclo-oxygenase, l'enzyme qui transforme l'acide arachidonique en prostaglandine, un médiateur inflammatoire qui provoque une diarrhée sécrétrice. C'est le cas des flavonoïdes de *Justicia hypocarteriformis* (GHAYUR *et al.*, 2007). Comme l'extrait RSNUF-18 contient des flavonoïdes, il est fort possible que des molécules de cette famille pourraient inhiber la sécrétion d'eau expliquant son action sur la diarrhée provoquée par le MgSO₄.

Les résultats obtenus lors des tests *in vitro* montrent que l'extrait relâche l'iléon contracté par l'acétylcholine. Ce relâchement diminue la motilité intestinale, et augmente le temps de contact entre le contenu intestinal et les entérocytes, ce qui donne le temps aux électrolytes et l'eau de se réabsorber (DIAZ *et al.*, 2014). Mais puisque l'extrait diminue l'effet maximal de l'acétylcholine et augmente la valeur de sa CE50, nous avançons une hypothèse qu'une molécule présente dans RSNUF-18 diminue la contraction en se fixant à un récepteur différent des récepteurs cholinergiques comme les récepteurs adrénnergiques de type α₂ existant dans le muscle lisse intestinal. La stimulation de ce récepteur provoque le relâchement de l'iléon isolé. Il se pourrait que les flavonoïdes soient les responsables de cette activité en se fixant sur ces récepteurs (DEGU *et al.*, 2016). Par ailleurs, la dénaturation des récepteurs cholinergiques par les tanins pourrait aussi expliquer le fait que l'acétylcholine ne pourrait plus se fixer sur ses récepteurs, diminuant ainsi son action contracturant.

L'activité anti-diarrhéique de l'extrait RSNUF-18 pourrait donc être due à la présence des tanins et/ou des flavonoïdes. Le mécanisme d'action de l'extrait pourrait être associé à deux effets : l'un sur la sécrétion d'eau et des électrolytes et l'autre sur la motilité intestinale. Pour préciser son mécanisme d'action, l'isolement du ou des principes actifs de cet extrait est indispensable.

CONCLUSION

CONCLUSION

Les résultats obtenus à partir des tests *in vivo* et *in vitro* chez les cochons d'Inde montrent que l'extrait RSNUF-18 a une activité anti diarrhéique. Il inhibe la sécrétion et diminue la motilité de l'iléon isolé du cochon d'Inde contracté par l'acétylcholine. Ces activités pourraient être dues à la présence des tanins, ou des flavonoïdes dans l'extrait.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- AHMADU A .A., ZEZI A. U., YARO A. H. (2007).
Activité des anti diarrhéique des extraits de feuilles de *Daniellia Oliveri* Hutch et Dalz (FABACEAE) et *Ficus Sycomorus* (MORACEAE).
Afr. J. Trad. Complement. Altern. Med., **4** (4): 524 - 528.
- AKTER S., SARKER A., HOSSAIN S. (2013).
Antidiarrhoeal activity of rind of *Punica granatum*.
Int. Cur. Pharm. J., **2**(5): 101-104.
- BOYINA R. , KOSANAM S., THIRUMALA R. T. (2014).
Evaluation of anti-diarrheal activity of aqueous extract of *Trigonella foenum- Graecum*.
Int. J. Pharma. Res., **4** (3): 130 - 133.
- DEGU A., ENGIDAWORK E., SHIBESHI W. (2016).
Evaluation de l'activité anti-diarrhéique de l'extrait de feuilles de *Croton macrostachyus* Hocsht.(EUPHORBIACEAE)chez les souris.
B. M. C. Altern. Med., (16): 379 - 384.
- DIAZ A., VARGAS-PEREZ I., AGUILAR-CRUZ L., CALVA-RADRIGUEZ R., TREVINO S., VENEGAS B., CONTRERAS-MORA I. R.(2014).
Un mélange de camomille et d'anis étoilé a des activités anti-motilité et anti-diarrhéiques chez la souris.
Bras. Farmacogn., **24** (4) : 1- 8.
- EMUDAINOHWO J. O. T., ERHIRHIE E. O., MOKE E. G. (2015).
Anti-diarreal activity of the aqueous leaf extract of *Ageratum conyzoides* in Wistar Rats
J. Appl. Sci., **19** (2): 169 – 175.
- FONG H.H.S., TIN-WA M., FARNSWORTH N.R. (1977).
“Phytochemical screening plants”.
Rev. Pharmacol., University of Illinois (Chicago), 275 – 277.

GALVEZ J., ZARZUELO A., CRESPO M. E., LORNTE M.D., OCETE M A.,
JIMENEZ J. (1993).

Antidiarrhoeic activity of *Euphorbia hirta* extract and isolation of an active flavonoid constituent.

Planta Medica, **5**: 333 - 336.

GANDHIMATHI R., SARAVANA K. A., SENTHIL K. K., KUSUMA P. K.,
UMAMAHESWARI J. (2009).

Pharmacological studies of anti-diarrhoeal activity of *Guettarda speciosa* (L.) in experimental animals.

J. Pharm. Sci. Res., **1**(2): 61 -66.

GHAYUR M.N., KHAN H., GILANI A.H. (2007).

Antispasmodic, bronchodilator and vasodilatator activities of (+) – catechin, a naturally occurring flavonoid.

Arch. Pharm. Res., **30**: 970-975.

GONG X-P., SUN Y-Y., CHEN W., GUO X., GUAN J-K., LI D-Y., GUANG D. U. (2017).

Anti-diarrheal and anti-inflammatory activities of aqueous extract of the aerial part of *Rubia cordifolia*.

BMC Complement. Altern. Med., **17**: 18 - 20.

GUILLOT J., F., LAFONT J., P. (1989).

Antibiotiques et microflore intestinale.

Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., **8** (2), 439-452.

GUTIÉRREZ S. P., SANCHEZ M. A. Z., GONZALEZ C. P., GARCIA L. A. (2014).

Antidiarrhoeal activity of different plants used in traditional medicine.

J. Bio. Pharma., **52** (11): 1467 - 1470.

HAO R., VERA. D. M, RESURRECCION E. (2010).

Racecadotril in the treatment of acute diarrhea in children.

P. I. D. S. P. J., **11** (2): 9 – 25.

KITCHEN I. (1984).

Text book of in-vitro Practical Pharmacologie.

1st Ed. Blakweel Scientific Publications, oxford, 5 – 6.

KONE B., DOUMBIA M., SY I., DONGO K., AGBO-HOUENOU Y., HOUENOU P.

V, FAYOMI B., BONFOH B., TANNER M., CISSE G. (2014).

Étude des diarrhées en milieu périurbain à Abidjan par l'approche écosanté.

Les approches écosystémiques de la santé dans la francophonie (19): 1 – 8.

LIU C., ZHENG Y., XU W., WANG H., LIN N. (2014).

Rhubarb tannins extract inhibits the expression of aquaporins 2 and 3 in magnesium sulphate induced diarrhea model.

Bio. Med. Res. Int., 3: 619 – 645.

MIGUEL A. ZAVALA. S., SALUD P-G., CUAUHTEMOC P., REZ. G., DAVID SANCHEZ. S., LUCINA A-G. (2002).

Antidiarrhoeal Activity of Nonanal, an Aldehyde Isolated from *Artemisia ludoviciana*.

Pharma. Biol., **40**: 263–268.

MIRSAN A., SRIVASTAVA S., SRIVASTAVA M. (2014).

Evaluation of antidiarrheal potential of *Moringa oleifera* (Lam) leaves.

J. Pharmacol. Phytochem., **2** (5): 43 – 46.

MOTGHARE V. M., NANDESHWAR M. B., BAJAIT C. S., PIMPALKHUTESA, SONTAKKE S. D. (2017).

Chicken ileum: a better option for conducting isolated tissue experiments and bioassay

Ind. J. Pharm. Pharmacol., **4** (2): 110 – 113.

OH S.-W., RYU B.-H. (2011).

Experimental studies on the anti-diarrheal effect of *Anjang-san*.

J. Korea. Oriental Med., **32**(6): 54 – 56.

O M S (1990).

The rational use of drugs in the management of acute diarrhea in children.

Geneva : 493 – 498.

OMS (2009).

« La diarrhée ».

Document aide-mémoire N° 330 (Genève) : 29 -33.

RAHAN K., BARUA S., ISLAM F., SAYEED M. A., PARVIN S., ISLAM E. (2013).

Studies the anti-diarrheal properties of leaf extract of *Desmodium puchellum*.

Asian. Pac. J. Trop. Biomed., **3** (8): 639 – 643.

RAJAMANICKAM V., RAJASEKARAN A., ANANDARAJAGOPAL K., SRIDHARAN D., SELVAKUMAR K., RATHINARAJ B. S. (2010).

Antidiarrheal activity of *Dodonaea viscosa* root extract.

Int. J. Pharma. Bio. Sci., 1 (4) : 182-185.

RAKOTOBE A., RASOLOMANANA J. C., RANDRIANSOLO S. (1993).

Pharmacopée d'Abongo et du Boina.

Ed. CIDST (Antananarivo), 200 – 215.

RAO G. H. J., LAKSHMI P. (2012).

Antidiarrheal activity of *Ziziphus Jujuba* leaf extract in rats.

Int. J. Pharm. Bio. Sci., **3** (1): 532-537.

RAZAFIMAHAMATOMBO C. (2012).

Prise en charge de la diarrhée aiguë du nourrisson par les médecins dans la ville d'Antananarivo.

Thèse de Doctorat en Médecine Université d'Antananarivo, 1 – 6.

SADRAEI H., ASGGHARI G., JAMALI H. (2018).

Anti-diarrheal action of *Zataria multiflora* hydroalcoholic and hexane extracts in mice.

J. Herbmed. Pharmacol., **7** (1): 22 - 28.

SARALAYA M. G., PATEL P., PATEL M., ROY M. P., PATEL A. N. (2010).

Antidiarrheal activity of methanolic extract of *Moringa oleifera* Lam roots in Experimental Animal Models.

Int. J. Pharma Res., **2**, (2): 35 – 39.

SHARMA P., VIDYASAGAR G., SINGH S., GHULE S., KUMAR B. (2010).
Anti-diarrhoeal activity of leaves extract of *Celosia argentea* in experimentally induced diarrhea in rats.
J. Adv. Pharm. Technol. Res., **1** (1): 41 – 48.

SINI K R., RAJASEKARAN A., SANGEETHA P. T. 2011.
Anti-diarrheal activity of the leaves of *Clitoria ternatea* L.
Int.J.Pharma. Sci., **02** (01)

SIREERATAWONG S., KHONSUNG P., NANNA U., VANNASIRI S., LERTPRASETSUKE N., SINGHALAK T., SOONTHORNCHAREONNON N., JAIJOY K. (2012).

Activité anti-diarrhéique et toxicité de la recette de Samud Pid Samud.
Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med., **9** (4): 519 – 529.

TADESSE E., ENGIDAWORK E., NEDI T., MENGISTU G. (2017).
Evaluation of the anti-diarrheal activity of the aqueous stem extract of *Lantana Camara* Linn (VERBENACEAE) in mice.
BMC Complément. Altern. Med., **17**: 190 - 196.

VELÁZQUEZ C., CALZADA F., MIRANDELI BAUTISTA., GAYOSSO J. A (2012).
Management of Secretory Diarrhea.
5^{em} Ed CORCE 2º piso, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo México: 68 – 84.

THOMSON A. B. R., SHAFFE. E. A. (2003).
First principles of gastroenterology. The basis of disease and an approach to management.
Dig. Dis. Sci., (48): 1546 – 1599.

YADAV, S. DAS, GOSH S. K., YADAV N. P. (2007).
Antidiarrhoeal evaluation of traditionally used *Ziziphus oenoplia* (L) Mill root.
Afr. J. Biotech., **6** (25): 2988 – 2994.

ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ DE L'EXTRAIT RSNUF-18 SUR LA DIARRHÉE CHEZ LE COCHON D'INDE

Auteur : RASOLOFONIRINA Urbain François
Adresse : Lot IIV99 Ampandrana besarety
Contact : 0341905227
Email : urbainrasolofonirina18@gmail.com
Année : 2016-2017
Rapporteur : Pr. RANDRIANAVONY Patricia

Laboratoire : Laboratoire de Pharmacologie Générale de Pharmacocinétique et de Cosmétologie
B.P. : 8357
Email : frandimbi@gmail.com
Domaine des Sciences et Technologies
UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

RÉSUMÉ

L'activité de l'extrait RSNUF-18 sur la diarrhée a été évaluée chez le cochon d'Inde. Son activité anti-sécrétoire a été évaluée *in vivo* par la méthode d'enteropooling provoqué par le MgSO₄, administré par voie orale, et son activité sur la motilité intestinale a été évaluée *in vitro* en utilisant l'iléon isolé de cochon d'inde contractée avec l'acétylcholine. La solution de MgSO₄ provoque une accumulation de fluide dans la lumière intestinale. L'extrait RSNUF-18 diminue le volume du fluide intestinal qui est égal à $4,83 \pm 0,17$ ml chez les animaux témoins, contre $3,23 \pm 0,088$, $2,3 \pm 0,11$ et $1,26 \pm 0,12$ ml ($P<0,05$) chez les animaux traités avec l'extrait aux doses de 100, 200 et 400 mg/kg. *In vitro* l'extrait RSNUF-18 relâche l'iléon isolé contracté par l'acétylcholine, avec une CE₅₀ de 0,75 mg / ml. En préincubant l'iléon dans un bain contenant l'extrait aux concentrations de 0,25, 0,5 et 0,75 mg/ml, l'amplitude de la contraction maximale de 100 %, diminue à $83,4 \pm 3,47$, $46 \pm 1,54$ et à $25,5 \pm 0,77$ % ($P<0,05$), et la CE₅₀ passe de 2×10^{-6} M en absence de l'extrait à 3×10^{-6} à 4×10^{-5} et 6×10^{-5} M ($P<0,05$). Ces résultats montrent que l'extrait RSNUF-18 possède une activité anti-diarrhéique. Les tanins et les flavonoïdes pourraient être responsables de cet effet.

Mots clés : anti-motilité, anti-sécrétoire, diarrhée, MgSO₄ cochon d'Inde.

ABSTRACT

This work aimed to study the activity of the extract RSNUF-18 on experimental diarrhoea on guinea pig. Its anti secretory effect was studied on MgSO₄ induced enter pooling, and its effect on intestinal peristaltic was studied in vitro on guinea pig isolated ileum contracted with acetylcholine. In vivo tests results show reduction of enteropooling in guinea pig treated with the extract, from 4.83 ± 0.17 ml in control group, versus 3.23 ± 0.088 , 2.3 ± 0.11 and 1.26 ± 0.12 ml respectively in animals treated with the extract at 100, 200 et 400 mg/kg ($p<0.05$). In vitro, RSNUF-18 relaxes isolated ileum contracted with acetylcholine, with CE₅₀ of 0,5 mg/ml. It inhibits the effect of acetylcholine in a non-competitive manner. The maximal effect of acetylcholine reduces from 100% in the absence of the extract to 83.4 ± 3.47 , 46 ± 1.54 and 25.5 ± 0.77 % in the presence of the extract at 0.25, 0.5 and 0.75 mg/ml in the bath ($p<0.05$). Whereas, acetylcholine CE₅₀ in the absence of the extract is equal to 2×10^{-6} M, and 3×10^{-6} to 4×10^{-5} and 6×10^{-5} M, in the presence of the extract at the concentration of 0.25, 0.5 and 0.75 mg/ml in the bath. Tannins, or flavonoides present in the extract might be responsible for the anti diarrhoea activity of RSNUF-18.

Key words: anti motility, anti secretory, MgSO₄, guinea pig.