

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	i
LISTE DES FIGURES	ii
LISTE DES TABLEAUX	iii
LISTE DES SIGNES ET ABREVIATIONS	iv
I. INTRODUCTION	1
II. MATERIELS ET METHODES	7
A. PARTIE CHIMIQUE	7
1. Préparation de l'extrait	7
2. Criblage phytochimique	7
B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE	9
1. Animaux d'expérimentation	9
2. Etude de l'activité mucoprotectrice de l'extrait A13	9
3. Etude de l'activité de l'extrait A13 sur la sécrétion acide	10
4. Etude de l'activité de l'extrait A13 sur l'acidité gastrique	10
C. EXPRESSION ET ANALYSES DES RESULTATS	11
III. RESULTATS	12
A. PARTIE CHIMIQUE	12
5. Rendement de l'extraction	12
6. Résultats du criblage phytochimique	12
B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE	13
7. Activité mucoprotectrice de l'extrait A13	13
8. Effet de l'extrait A13 sur la sécrétion d'acide	14
9. Effet de l'extrait A13 sur l'acidité gastrique	15
IV. DISCUSSION	17
V. CONCLUSION	20
BIBLIOGRAPHIE	21

LISTE DES FIGURES

Figure 1. <i>Helicobacter pylori</i>	3
Figure 2. Photographie d'un pH-mètre utilisé pour mesurer l'acidité du contenu gastrique. .	11
Figure 3. Lésions provoquées par l'indométacine administrée par voie orale pendant 5 jours à la dose de 30 mg/kg chez le lot témoin (a) et chez les lots traités avec l'extrait A13 par voie orale aux doses de 300 (b) et 600 mg/kg (c).	13
Figure 4. Variation de la surface des lésions provoquées par l'indométacine chez les rats du lot témoin et chez les rats traités avec l'extrait A13 administré par voie orale aux doses de 300 et de 600 mg/kg ($\bar{x} \pm \text{e.s.m.}$; $n = 5$; $P < 0,05$).	14
Figure 5. Variation du pH du contenu gastrique des animaux après la ligature de pylore chez le lot témoinet chez les lots traités avec l'extrait aux doses de 300 mg/kg et 600 mg/kg ($\bar{x} \pm \text{e.s.m.}$; $n = 5$; $P < 0,05$).....	15
Figure 6. pH du contenu gastrique, de l'extrait seul, du mélange du contenu gastrique et de l'extrait et du contenu gastrique des animaux traités avec l'extrait A13 à la dose de 600 mg/kg après la ligature du pylore ($\bar{x} \pm \text{e.s.m.}$; $n = 3$; $P > 0,05$).	16

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Les tests utilisés pour identifier les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait A13 (FONG H. H. S. et coll., 1977)..... 8

Tableau II. Les familles chimiques présentes dans l'extrait A13..... 12

LISTE DES SIGNES ET ABREVIATIONS

Ach	: Acétylcholine
AMPc	: Adénosine Monophosphate cyclique
Al(OH)₃	: Hydroxyde d'Aluminium
coll.	: Collaborateur
COX	: CycloOXygénase
ECL	: Cellule EnteroChromaffine
e.s.m	: Ecart-type standard à la moyenne
FeCl₃	: Chlorure de fer
g	: Gramme
h	: Heure
H⁺	: Ion hydrogène
HCl	: Acide Chlorhydrique
HC0₃⁻	: Bicarbonate
Hp	: <i>Helicobacter pylori</i>
H₂SO₄	: Acide sulfurique
K⁺	: Ion potassique
IPP	: Inhibiteur de la Pompe à Proton
LPGPC	: Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie
mg/ml	: Milligramme par millilitre
mg/kg	: Milligramme par kilogramme
min	: Minute

mm²	: Millimètre carré
n	: Nombre d'animaux utilisés
NaCl	: Chlorure de sodium
NaOH	: Hydroxyde de sodium
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
P	: Degré de signification
pH	: Potentiel d'hydrogène
PGE	: Prostaglandine
RCCK₂	: Récepteur Cholécystokinine de type 2
RH₂	: Récepteur Histaminique de type 2
RM₁	: Récepteur Muscarinique de type 1
RM₃	: Récepteur Muscarinique de type 3
UV	: Ultra-Violet
°C	: Degré Celsius
\bar{x}	: Moyenne
<	: Inférieur à
>	: Supérieur à
%	: Pourcentage
±	: Plus ou moins

~ v ~

INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

L'ulcère gastroduodénal est une lésion ou plaie au niveau de la muqueuse interne de l'estomac et du duodénum qui s'étend jusqu'à la musculature (BURRI E. et MEYER R., 2011). Il sévit aussi bien dans les pays riches que dans ceux en voie de développement où il constitue un réel problème de santé publique. L'ulcère gastrique est moins fréquent que l'ulcère duodénal (GERARD P. R. et THIEFFEN G., 2002). Cette maladie a été reconnue infectieuse avec la découverte de *Campilobacter pyloridis* ou *Hélicobacter pilori* (BURRI E. et MEYER R., 2011). Cinquante % de patients atteints d'ulcère gastrique sont infectés par l'*Hélicobacter pilori* (HUNT R. H. et coll., 2011).

Sa prévalence dépend du statut socio-économique. Elle est estimée entre 20 – 30 % en Europe de l'Ouest et en Amérique du Nord. Pour la Suisse, elle est estimée à environ 6,5 – 9,7% chez les enfants et les Adolescents, et à 11,9 % chez les adultes (BURRI E. et MEYER R., 2011), en France, l'ulcère gastrique est de 2 % contre 5 à 10 % pour l'ulcère duodénal. L'incidence de l'ulcère gastroduodénal est faible pour les personnes âgées de moins de 40 ans et augmente avec l'âge avec un pic entre 55 et 65 ans (LAMARE L., 2005). Au Maroc, 39,2 % de personnes dans la tranche d'âge de 31 à 40 ans sont atteints de l'ulcère gastroduodénal (ESSADIK A. et coll., 2013). En 1996, la maladie épigastrique touche environ 5 % de la population Malagasy (CASSEL-BERAUD A. M. et coll., 1996).

L'ulcère gastrique survient au moment où il y a un déséquilibre entre les facteurs de défenses et les facteurs agresseurs de la muqueuse gastrique, où les barrières de défenses viennent à céder. Ainsi la muqueuse gastrique est soumise à une attaque protéolytique de la pepsine ou l'attaque de l'acide chlorhydrique ou encore de l'*Hélicobacter pilori* (GALMICHE J. P., BRULEY DES VARANNES S., 1992).

Les principaux facteurs protecteurs de la muqueuse sont: l'intégrité anatomique de la muqueuse, l'intégrité de la vascularisation pariétale, la sécrétion de mucus par les cellules mucigènes et la sécrétion de bicarbonate. L'intégrité anatomique de la muqueuse évite la rétrodiffusion des ions H^+ de la lumière gastrique vers l'espace intracellulaire de la muqueuse. Tandis que l'intégrité de la vascularisation pariétale maintient l'équilibre entre la protection et l'agression. Enfin, le bicarbonate neutralise l'acide gastrique (PIEDOUX, 2014). Les cellules de la paroi gastrique sécrètent le mucus et le bicarbonate (MOORE N. et coll., 2006). Suite à la stimulation de la prostaglandine, les cellules à mucus qu'on appelle 'mucocytes' au niveau du collet produisent un mucus alcalin. Le mucus est un gel insoluble dans lequel le

bicarbonate est sécrété, il tapisse toute la surface de la muqueuse pour éviter le contact direct entre le suc gastrique et les cellules de la paroi gastrique. Les ions HCO_3^- présents dans la matrice du gel neutralisent l'acide qui se diffuse à partir de la lumière gastrique (SILBERNAGL S. et LANG F., 2015).

Par contre les facteurs agresseurs sont nombreux, ils peuvent être internes ou des facteurs agresseurs externes. Les facteurs agresseurs internes sont constitués principalement de pepsine et d'acide chlorhydrique. Ils jouent un rôle important dans la digestion: l'acide chlorhydrique transforme le bol alimentaire en chyme, et favorise la transformation du pepsinogène en pepsine (SILBERNAGL S. et DESPOPOULOS A., 1998), il tue aussi les bactéries qui pénètrent dans l'estomac (MARIEB N. E., 2008). L'acidité gastrique peut aussi endommager la paroi gastrique à pH très acide et c'est le premier facteur qui agresse la paroi de l'estomac. La pepsine joue un rôle primordial dans la digestion des protéines, mais aussi dans l'agression de la muqueuse gastrique car elle digère la muqueuse gastrique pouvant conduire à une atteinte tissulaire, lorsque celle-ci est dénudée (MIGNON M. et POSPAL D., 1996). Sécrétés en quantité importante, ou lorsque les facteurs protecteurs sont faibles, ces deux facteurs provoquent de l'ulcère au niveau de la paroi gastrique (PIEDOUX, 2014).

Une fois libérée, l'Acétylcholine se fixe sur le récepteur muscarinique de type 3 (RM_3) situé au niveau de la membrane de la cellule pariétale et provoque la libération des ions H^+ dans la lumière gastrique (SUNIL K. et coll., 2012). Elle se fixe aussi sur les cellules G de l'antrum qui sécrètent la gastrine, et au niveau des récepteurs muscarinique de type 1 (RM_1) de la membrane des cellules ECL (Entero Chromaffins Like) qui sécrètent l'histamine. Ainsi, le nerf vague déclenche indirectement des influences paracrines (histamine) et endocrines (gastrine) sur la sécrétion de l'acide gastrique (SILBERNAGL S. et DESPOPOULOS A., 1998).

A part les facteurs intrinsèques, des facteurs extrinsèques endommagent aussi la muqueuse gastrique comme l'*Helicobacter pylori* (Hp). C'est une bactérie Gram négatif, spiralée et flagellée (HUNT R. H. et coll., 2011). Ce microorganisme mobile est doté de flagelles lui permettant de s'enfoncer sous la couche de mucus (PIEDOUX, 2014) (**Figure 1**).



Figure 1. *Helicobacter pylori*

Elle produit de l'uréase à une quantité importante qui lui permet de transformer l'urée en ammoniaque et en bicarbonate neutralisant l'acidité gastrique, ce qui lui permet de survivre dans l'estomac malgré l'acidité gastrique (SILBERNAGL S. et LANG F., 2015). En plus, elle fragilise la muqueuse par la sécrétion de toxines et de cytokines à l'origine de l'inflammation persistante de la muqueuse gastrique (LAMARQUE D. et coll., 2003).

A forte dose, les Anti Inflammatoires Non Stéroïdiens comme l'Acide Acétylsalicylique font partie des agents agresseurs extrinsèques non associés à une infection à *Helicobacter pylori* de la muqueuse gastrique. Leur action repose sur leur capacité à inhiber la cyclooxygénase (COX 2) responsable de la synthèse de prostaglandines, à partir de l'acide arachidonique dans l'épithélium gastrique (CARMINE S. et coll., 2013). La diminution de la synthèse de prostaglandines freine aussi la sécrétion de bicarbonate HCO_3^- et de mucus. Quant aux acides Acétylsalicyliques, ils lèsent localement l'épithélium par une diffusion non ionique dans la cellule.

Le tabac, le stress et l'alcool aggravent la survenue de l'ulcère gastrique (BURRI E. et MEYER R., 2011). Le tabac diminue le flux sanguin gastrique et augmente en même temps la sécrétion d'HCl. Il provoque une complication de l'ulcère en diminuant la vitesse de cicatrisation spontanée des lésions au niveau de la paroi gastrique, favorisant ainsi les récives (GIMENZ F. et coll., 2000). Le stress augmente la sécrétion d'HCl en stimulant le nerf vague et la gastrine qui vont activer la pompe à proton (RAYNAUD B. et NETEMBERG G., 1996). L'abus d'alcool est aussi un des facteurs exogènes qui peut agresser la muqueuse gastrique. L'alcool active la libération d'histamine qui va provoquer la congestion des vaisseaux sanguins, et diminue la sécrétion de mucus et de bicarbonate

(JYOTI G. et coll., 2012) et diminue aussi la vitesse de cicatrisation des lésions au niveau de la muqueuse gastrique (RAYNAUD B. et NETEMBERG G., 1996).

Les moyens thérapeutiques consistent à augmenter les moyens de défense, ou à diminuer l'attaque des agresseurs (BURRI E. et MEYER R., 2011). Ils visent à atténuer les facteurs corrosifs en diminuant la concentration d'ions H^+ par les antisécrétoires et par les antiacides, ou ils renforcent l'action protectrice des agents protecteurs de la muqueuse par les analogues de prostaglandines (PGE) et par les topiques protecteurs. Ils visent à éliminer l'*Helicobacter pylori* par l'antibiothérapie et enfin accélèrent la cicatrisation des lésions ulcéreuses (PIEDOUX, 2014).

Les antisécrétoires agissent directement sur la sécrétion d'ions H^+ , ce sont les inhibiteurs de la pompe à proton (IPP) comme L'OMEPRAZOL (Mopral[®]), et les antihistaminiques (anti- H_2) comme la CIMETIDINE (BHAVE A. L. et coll., 2006). Il est possible que l'antagoniste compétitif de l'acétylcholine au récepteur muscarinique (RM_1) au niveau de la membrane des cellules Enterochromaffine like inhibe la sécrétion de l'histamine, comme le cas de la PYRENZEPINE (MANDAL S. et coll., 1998).

Tandis que les antiacides sont des médicaments qui n'ont pas de cibles pharmacologiques, ils ont une action locale, en neutralisant l'acide sécrété dans la lumière gastrique et les sels biliaires, comme l'hydroxyde d'aluminium ($Al(OH)_3$). Ils neutralisent l'acidité gastrique Ils sont utilisés pour soulager de manière transitoire les sensations de brûlure gastro-œsophagienne peu sévère (HALPHEN M. et RAMBAUD I. C., 1985).

Les topiques protecteurs sont utilisés comme pansements gastriques à action locale pour protéger la muqueuse ulcérée, comme le sucralfate, un disaccharide sulfaté combiné à l'hydroxyde d'aluminium. Ils forment un emplâtre qui adhère au revêtement de la muqueuse gastrique et peuvent suppléer ou augmenter l'action des substances protectrices naturellement produites au niveau de l'estomac par stimulation de la synthèse de prostaglandines (REID J. L. et coll., 1992).

Enfin, les analogues de prostaglandines (PGE) comme le MISOPROSTOL (Cytotec[®]) augmentent la sécrétion de bicarbonate qui réduit l'acidité gastrique, et de mucus qui protège la muqueuse de l'estomac et ils améliorent aussi le flux sanguin au niveau de la muqueuse gastrique (COLLEN M. J. et BENJAMIN S. B., 1991).

L'éradication de *l'Helicobacter pylori* permet une guérison à long terme des ulcères gastriques (RAZAFIMAHEFA S. H. et coll., 2012). Les antibiotiques comme l'AMOXICILLINE associés à un anti sécrétoire comme les inhibiteurs de la pompe à proton (PANTOPRAZOLE, OMEPRAZOLE) sont utilisées comme antiulcéreux (PIEDOUX, 2014).

La plupart des espèces végétales possède des vertus thérapeutiques (MADHU C. et coll., 2012). Autrefois, les hommes se sont soignés uniquement avec les plantes. Elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme (ISERIN P. et coll., 2001). Plusieurs de ces plantes médicinales présentent un effet antiulcéreux comme *Astemisca absinthium* (absinthe) de la famille des ASTERACEAE en Europe, à la côte Est des Etats-Unis et en Asie ; *Elletazia cardamomum* (cardamome) de la famille des ZINGEBERACEAE en Inde du Sud, en Asie du Sud et en Amérique Central (ISERIN P. et coll., 2001).

En Afrique, l'art de guérir par les plantes est connu et pratiqué depuis longtemps (ISERIN P. et coll., 2001). Plus de 80 % de la population Africaine ont recours à la médecine traditionnelle et aux plantes médicinales pour ses soins de santé primaire. Le manque de médicaments essentiels, l'insuffisance des infrastructures pour les soins de santé, le coût élevé des médicaments et les habitudes socioculturels de la population l'expliquent. *Hubertia ambavilla* connu sous le nom d'Ambaville de la famille des ASTERACEAE est une plante endémique de l'île de la Réunion utilisée comme antiulcéreux (BRILLANT S. et coll., 2000).

A Madagascar, de nombreuses plantes sont utilisées contre les maux d'estomac comme *Agauria salicifolia* (angavondrano) (ERICACEAE), *Pothos chapelieri* (ramatsatso) (ARALIACEAE), *Daniella insifolia* (voamasonomby ou tsivazavazaha) (LILIACEAE), *Mystroxylon aethiopicum* (fanazava ou montso) (CELASTRACEAE) (DEBRAY M. et coll., 1971) mais en général, elles n'ont pas fait l'objet d'études pharmacologiques approfondies (NILSEN J. R. A., 2004).

Ce qui nous a incités à étudier l'activité d'une plante utilisée par la population dans la région de Tuléar contre l'ulcère gastrique. Aucune étude scientifique n'a été effectuée sur cette plante dans le traitement de l'ulcère gastrique. Lors des enquêtes ethnobotaniques que nous avons effectuées, le décocté de cette plante est utilisé pour traiter la douleur épigastrique (manindrona), la sensation de brûlure épigastrique (mamaivay), le ballonnement (miziriziry), la sensation de réplétion postprandiale et la sensation anoréxique. En analysant ces données la plante pourrait protéger la muqueuse gastrique contre les agents agresseurs ou diminue l'effet des facteurs agresseurs. L'activité de cette plante a été étudiée *in-vivo* chez le rat.

L'indométacine a été utilisée pour étudier sa propriété mucoprotectrice; et la méthode SHAY a été employée pour étudier son activité sur la sécrétion acide au niveau de l'estomac.

MATERIELS

ET

METHODES

II. MATERIELS ET METHODES

A. PARTIE CHIMIQUE

1. Préparation de l'extrait

Les feuilles ont été récoltées dans la région de Tuléar. Elles ont été séchées dans une salle bien aérée, à l'abri de la lumière et de l'humidité, à la température ambiante. Deux cent cinquante grammes des feuilles ainsi séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur à marteau au Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie. La poudre obtenue a été macérée dans un mélange d'éthanol - eau (60 : 40) pendant 3 jours. Le macérât a été filtré et évaporé à la température de 75 °C à l'aide d'un distillateur. L'extrait a été codé A13 et pesé pour calculer le rendement de l'extraction selon la formule :

$$\text{Rendement} = \frac{\text{poids de l'extrait}}{\text{poids de la poudre végétale}} \times 100$$

2. Criblage phytochimique

Un criblage phytochimique a été effectué pour déterminer les familles chimiques contenues dans l'extrait A13. Ce test est basé sur l'utilisation des réactifs spécifiques pour chaque famille chimique. La présence d'une famille chimique correspondante provoque une réaction de précipitation ou de coloration (FONG H. H. S. et coll., 1977) (**Tableau I**).

Les signes suivants ont été utilisés afin de quantifier la proportion relative des différentes familles chimiques.

- : Absence de la famille recherchée
 - +
 - ++
 - +++
- : Présence en faible teneur
- : Présence en teneur moyenne
- : Présence en forte teneur

Tableau I. Les tests utilisés pour identifier les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait A13 (FONG H. H. S. et coll., 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
STEROÏDES 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 (3 cm d'épaisseur) après 30 mn

B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE

L'activité de l'extrait a été étudiée *in vivo* chez le rat. Sa propriété a été étudiée contre la lésion provoquée par l'indométacine, tandis que sa propriété sur l'acidité du contenu gastrique a été évaluée en utilisant la méthode de SHAY (SHAY H. et coll., 1945).

1. Animaux d'expérimentation

Des rats de souche WISTAR sans distinction de sexe, âgés de 9 à 12 mois, pesant entre 180 et 250 g ont été utilisés. Ils ont été élevés dans le Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie (LPGPC) de la Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo. Ces animaux ont été nourris avec de la provende LFL 1420. Ils ont été exposés à un cycle de lumière et d'obscurité de 12/12 heures à la température d'environ 27 °C. Les animaux ont été mis à jeun pendant 24 heures avant les manipulations, mais ils ont eu un accès libre à l'eau.

2. Etude de l'activité mucoprotectrice de l'extrait A13

L'activité de l'extrait sur la protection de la muqueuse gastrique a été étudiée en comparant la muqueuse gastrique des animaux traités avec celle des animaux témoins, après l'administration répétée de l'indométacine par voie orale (KHARE S. et coll., 2008).

Des rats ont été mis à jeun pendant 24 heures avant la manipulation et ont été répartis en 3 lots: un lot témoin a reçu de l'eau distillée et deux lots ont reçus de l'extrait aux doses de 300 et 600 mg/kg, par voie orale. Après une heure, 30 mg/kg d'indométacine ont été administrés par voie orale. Cette manipulation a été répétée chaque jour pendant 5 jours à la même heure (KHARE S. et coll., 2008). Tous les produits ont été administrés par voie orale dans un volume de 10 ml/kg (DIELT H. et HEINZ K., 2010). Au 6^{ème} jour, les rats ont été sacrifiés et une laparotomie a été effectuée (KHARE S. et coll., 2008). Leur estomac a été prélevé, puis incisé suivant la grande courbure, rincé et étalé sur une surface plane. La surface des lésions au niveau de la muqueuse a été mesurée par planimétrie directe à l'aide d'un papier millimétré transparent. Le papier a été placé sur la surface de l'estomac et le contour des lésions a été tracé à l'aide d'un crayon à pointe fine. La surface des lésions a été déterminée en comptant le nombre des carreaux dans le contenu (NTSAYO F., 2011).

3. Etude de l'activité de l'extrait A13 sur la sécrétion acide

L'activité de l'extrait sur la sécrétion d'acide a été étudiée chez le rat en comparant le pH du contenu des animaux témoins et traités avec l'extrait suite à la ligature du pylore (SHAY H. et coll., 1945).

Des rats mis à jeun pendant 24 heures avant la manipulation ont été répartis en 3 lots: un lot témoin a reçu de l'eau distillée (10 ml/kg) et deux lots traités avec l'extrait aux doses respectives de 300 et 600mg/kg. L'extrait a été administré par voie orale dans un volume de 10 ml/kg (DIELT H. et HEINZ K., 2010). Deux heures après, les animaux ont été anesthésiés par inhalation d'éther diéthylique et une laparotomie a été effectuée, le pylore a ensuite été ligaturé (SHAY et coll., 1945). L'abdomen a été fermé par des points de suture à l'aide d'un fil à coudre en coton. Puis, les animaux ont été laissées se rétablir dans des cages individuelles. Pendant la période post opératoire, les animaux ont été privés de nourritures.

Quatre heures après la ligature du pylore, les rats ont été euthanasiés et leur estomac a été prélevé. Le contenu gastrique a été récupéré dans un tube à essai et centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 minutes, ensuite le surnageant a été récupéré et son pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre (PIERRON[®]).

4. Etude de l'activité de l'extrait A13 sur l'acidité gastrique

L'effet de l'extrait codé A13 sur l'acidité gastrique a été étudié sur sa capacité à neutraliser l'acidité du contenu gastrique provoquée par la ligature du pylore. Quatre tubes à essai ont été utilisés: le contenu gastrique des animaux témoins ayant reçu uniquement de l'eau a été versé dans le 1^{er} tube, tandis que l'extrait A13 seul a été mis dans le 2nd tube et le suc gastrique des animaux témoins, mélangé avec l'extrait A13 a été versé dans le 3^{ème} tube. Enfin, le contenu gastrique des animaux traités avec l'extrait, à la dose de 600 mg/kg a été mis dans le 4^{ème} tube à essai. Puis le pH du contenu de chaque tube a été mesuré et comparé (**Figure 2**).



Figure 2. Photographie d'un pH-mètre utilisé pour mesurer l'acidité du contenu gastrique.

C. EXPRESSION ET ANALYSES DES RESULTATS

Les résultats obtenus ont été exprimés sous forme de moyenne \pm écart-type réduit ($\bar{X} \pm \text{e.s.m.}$). Le test paramétrique « t » de Student a été utilisé pour comparer les moyennes avec un degré de signification de $P < 0,05$.

RESULTATS

III. RESULTATS

A. PARTIE CHIMIQUE

5. Rendement de l'extraction

L'évaporation à sec du filtrat obtenu avec 250 g de poudre donne 63 g d'extrait, ce qui correspond à un rendement de 25,2 %.

6. Résultats du criblage phytochimique

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait révèle la présence de stéroïdes et de triterpènes en forte teneur, une teneur moyenne en tanins, leucoanthocyanes, sucres réducteurs et polysaccharides. Les Anthocyanes et les flavonoïdes sont présents en faible teneur (Tableau II).

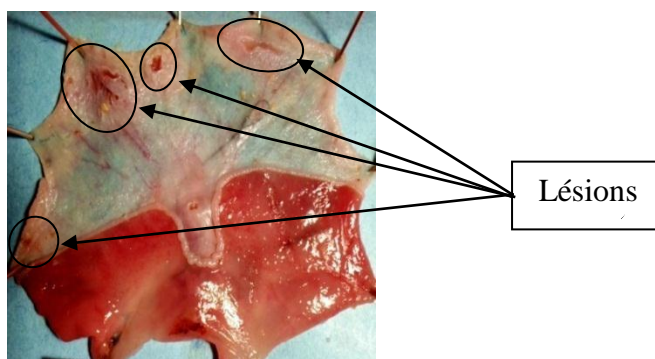
Tableau II. Les familles chimiques présentes dans l'extrait A13

FAMILLES CHIMIQUES	TENEUR RELATIVE
STEROÏDES	+++
TRITERPENES	+++
TANINS	++
LEUCOANTHOCYANES	++
SUCRES REDUCTEUR	++
POLYSACCHARIDES	++
FLAVONOÏDES	+
ANTHOCYANES	+

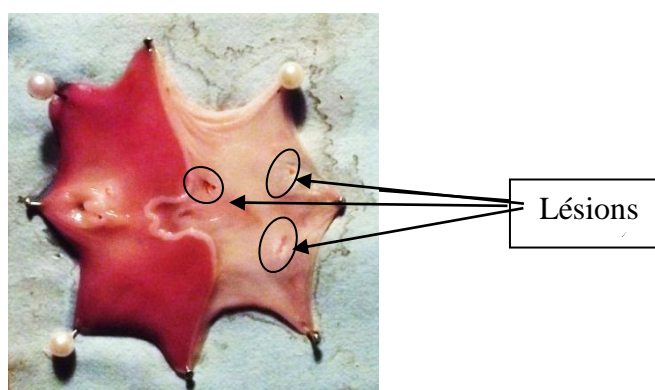
B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE

7. Activité mucoprotectrice de l'extrait A13

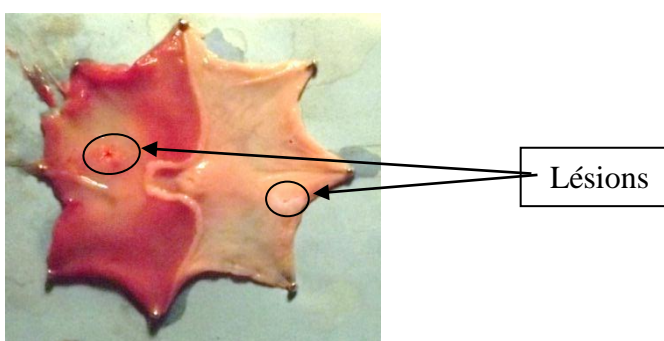
L'administration d'indométacine chez les rats provoque des lésions au niveau de la paroi gastrique (**Figure 3**).



(a) Témoin



(b) Lésion à dose de 300 mg/kg



(c) Lésion à dose de 600 mg/kg

Figure 3. Lésions provoquées par l'indométacine administrée par voie orale pendant 5 jours à la dose de 30 mg/kg chez le lot témoin (a) et chez les lots traités avec l'extrait A13 par voie orale aux doses de 300 (b) et 600 mg/kg (c).

La surface des lésions observée au niveau de l'estomac des animaux traités avec l'extrait est inférieure à celle du lot témoin, et elle diminue en fonction de la dose de l'extrait administrée. Chez le lot témoin elle est égale à $6,2 \pm 0,5 \text{ mm}^2$ contre $4,13 \pm 0,11 \text{ mm}^2$ et $3,44 \pm 0,21 \text{ mm}^2$ chez les rats traités avec l'extrait A13 aux doses de 300 et 600 mg/kg respectivement ($P < 0,05$) (**Figure 4**).

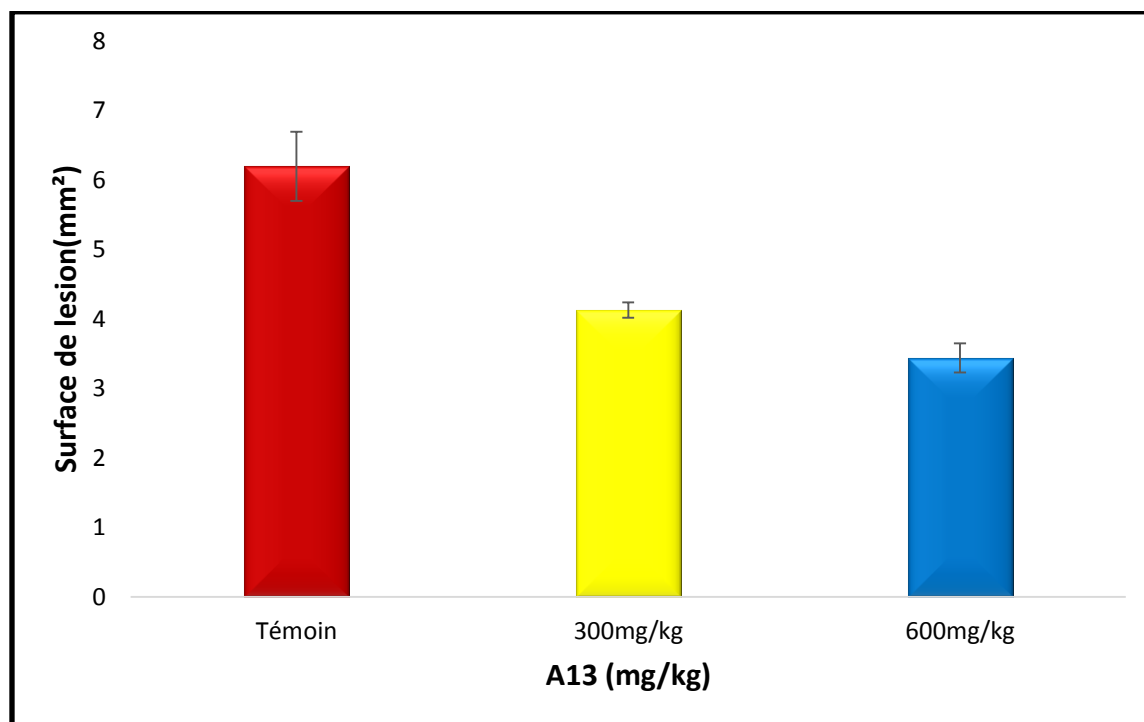


Figure 4. Variation de la surface des lésions provoquées par l'indométacine chez les rats du lot témoin ■ et chez les rats traités avec l'extrait A13 administré par voie orale aux doses de 300 ■ et de 600 mg/kg ($\bar{x} \pm \text{e.s.m.}$; $n = 5$; $P < 0,05$). ■

8. Effet de l'extrait A13 sur la sécrétion d'acide

La ligature du pylore provoque une libération accrue d'acide dans l'estomac. Le contenu gastrique des animaux du lot témoin est plus acide que le contenu gastrique des animaux des lots traités avec l'extrait A13. Chez les animaux traités avec l'extrait, le pH augmente en fonction de la dose administrée. Chez le lot témoin, le pH du contenu gastrique est égal à $1,79 \pm 0,03$ contre $2,21 \pm 0,02$ et $3,36 \pm 0,18$ chez les animaux traités avec l'extrait aux doses respectives de 300 et 600 mg/kg ($P < 0,05$) (**Figure 5**).

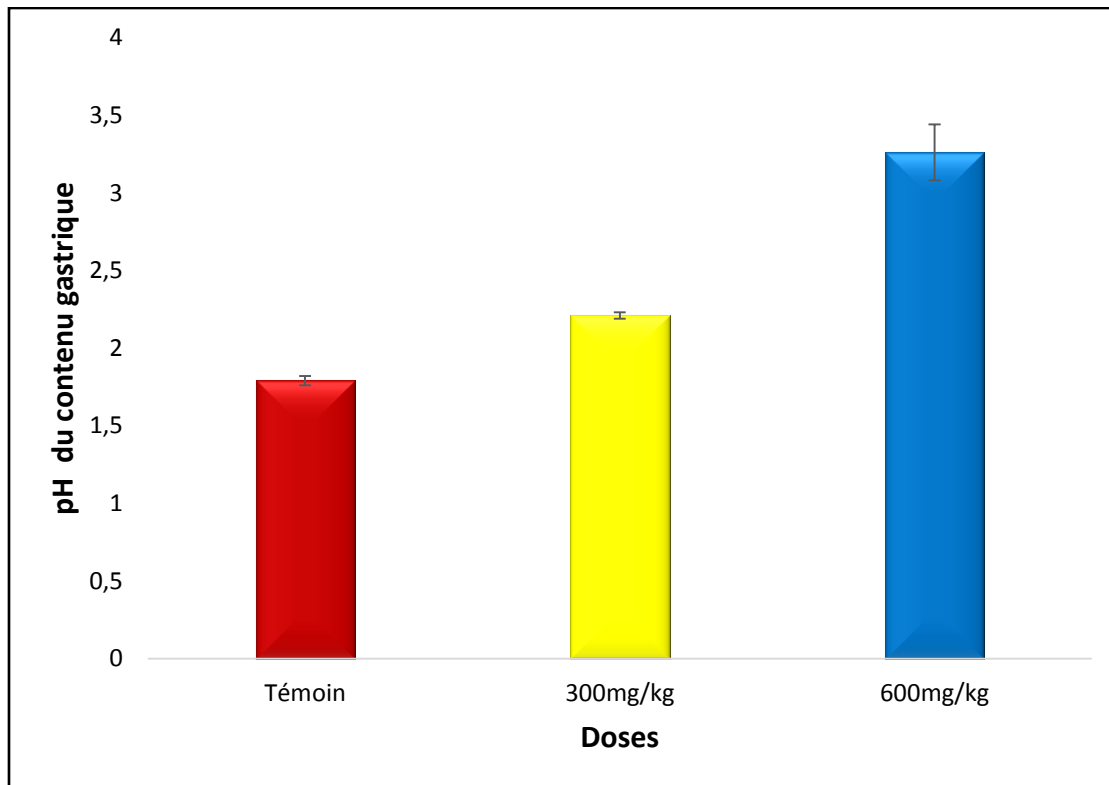


Figure 5. Variation du pH du contenu gastrique des animaux après la ligature de pylore chez le lot témoin ■ et chez les lots traités avec l'extrait aux doses de 300 mg/kg ■ et 600 mg/kg ■ ($\bar{x} \pm \text{e.s.m.}$; $n = 5$; $P < 0,05$)

9. Effet de l'extrait A13 sur l'acidité gastrique

Le pH de l'extrait est égal à 5,83 et celui du témoin est égal à $1,73 \pm 0,03$. En mélangeant l'extrait A13 avec le contenu gastrique des animaux témoins ayant subi une ligature du pylore, le pH augmente à $3,36 \pm 0,04$. La comparaison du pH du mélange avec celui des animaux traités avec l'extrait à la dose de 600 mg/kg dont le pH est égal à $3,26 \pm 0,183$ montre que la différence n'est pas significative ($P > 0,05$) (**Figure 6**).

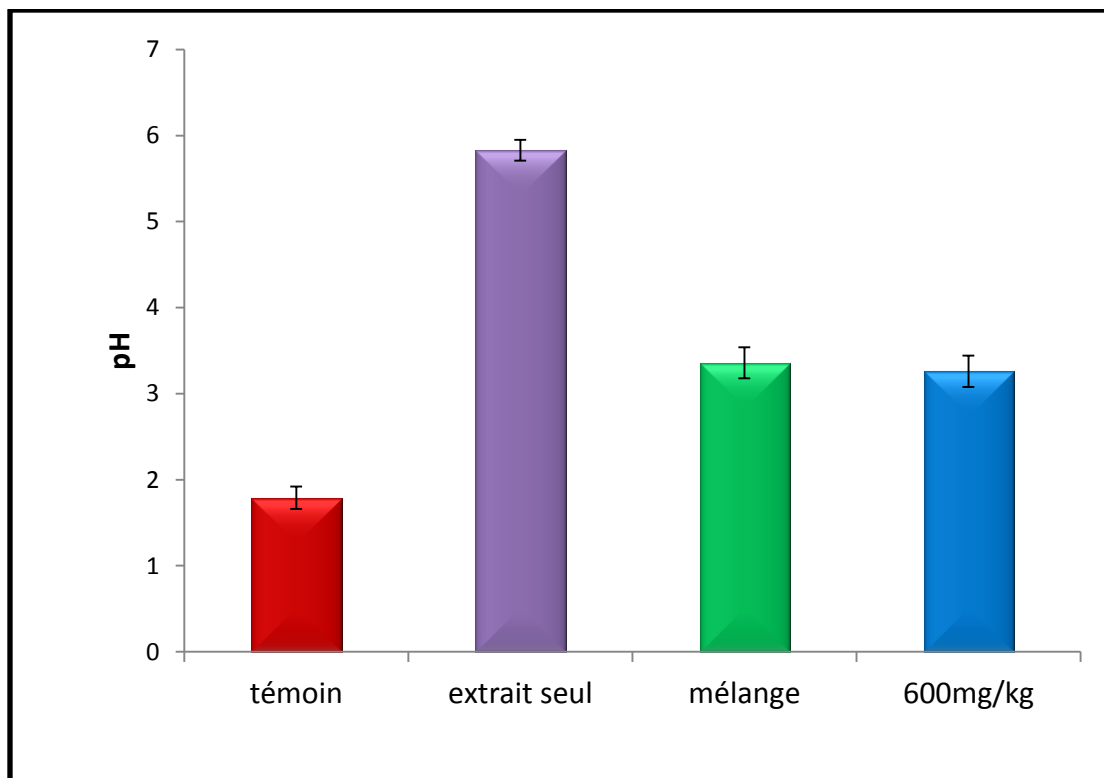


Figure 6. pH du contenu gastrique ■, de l'extrait seul ■, du mélange du contenu gastrique et de l'extrait ■ et du contenu gastrique des animaux traités avec l'extrait A13 à la dose de 600 mg/kg ■ après la ligature du pylore ($\bar{x} \pm \text{e.s.m.}$; $n = 3$; $P > 0,05$).

DISCUSSION

IV. DISCUSSION

L'activité de cet extrait a été étudiée *in vivo* chez le rat par son effet sur la protection de la paroi gastrique, sur la sécrétion acide au niveau de l'estomac ainsi que sur son effet sur l'acidité gastrique. Nos résultats montrent qu'il diminue la surface des lésions provoquées par l'indométacine administrée par voie orale, il diminue aussi l'acidité gastrique.

L'indométacine est très utilisée comme produit ulcérigène dans la recherche d'une activité mucoprotectrice d'un extrait (CARMINE S. et coll., 2013), parce qu'elle inhibe la cyclo-oxygénase, responsable de la synthèse des prostaglandines (LESUR G. et coll., 1993). Or ces dernières sont responsables de la sécrétion de mucus et de bicarbonate, tous les deux responsables de la protection de la muqueuse. L'inhibition de sa synthèse provoque des lésions au niveau de la muqueuse gastrique (BELLANGER J. et POITEREAU A. B., 1986).

L'administration de l'extrait A13 par voie orale chez les rats, diminue la surface des lésions au niveau de la muqueuse gastrique provoquées par l'indométacine de ces rats. Ce qui nous permet de déduire que l'extrait protège la paroi gastrique contre l'agression de l'indométacine. Ceci pourrait être dû à l'augmentation des facteurs protecteurs comme le mucus au niveau de la paroi gastrique. Pour augmenter la quantité de mucus, l'extrait devrait stimuler sa sécrétion en stimulant la synthèse des prostaglandines ou en se conduisant comme un analogue de prostaglandine. Il pourrait également activer la production de mucus en stimulant directement les cellules à mucus (PIEDOUX, 2014).

D'après BORELLI F. et IZZO A. en 2000, les leucoanthocyanes augmentent la synthèse de prostaglandines et les tanins précipitent les cellules de la muqueuse grâce à leur propriété astringente qui permet à la muqueuse de résister aux agents agresseurs endogènes. Puis, AL-HOWIRINY T. et ses collaborateurs en 2005 ont montré dans leurs travaux sur *Commiphora opobalsamum* que les flavonoïdes contenus dans cette plante peuvent diminuer les lésions provoquées par l'indométacine en augmentant la quantité de mucus dans l'estomac. Il a été démontré par PANDA V. et SONKAMBLE M. en 2012 dans l'étude sur *Opuntia ficus indica* que les polysaccharides contenus dans cette plante est à l'origine de son activité antiulcéreux. Cette famille chimique stimule la synthèse de prostaglandines (LENOIR L., 2011). Or cette famille chimique est présente dans l'extrait A13.

Ce qui nous permet de dire que l'activité mucoprotectrice de l'extrait A13 pourrait aussi résulter de la présence de ces familles chimiques, les leucoanthocyanes et les polysaccharides

qui stimulent la synthèse de PGE (COX₂), et les flavonoïdes qui stimulent les cellules à mucus.

Par ailleurs, BRODIE D. A. et KNAPP P. G. ont démontré en 1966 que la ligature de pylore est un puissant stimulus de la sécrétion acide gastrique par la stimulation mécanique du nerf pneumogastrique qui libère de l'Ach, et il entraîne aussi l'accumulation d'acide dans l'estomac. L'hypersécrétion d'acide gastrique est un des facteurs qui favorisent l'apparition de l'ulcère gastrique. Cette technique permet d'étudier l'activité anti sécrétoire d'un produit (KUMAR M. S. et coll., 2011).

En ligaturant le pylore, le pH du contenu gastrique des rats traités avec l'extrait est supérieur à celui du lot témoin. Cette augmentation pourrait être due soit à l'inhibition de la sécrétion d'acide, soit à l'action antiacide de l'extrait ou les deux à la fois. Pour diminuer la sécrétion, l'extrait devrait inhiber la pompe à proton, ou inhiber l'acétylcholine parce que la sécrétion acide gastrique lors de la ligature de pylore provient de la stimulation du système parasympathique (SHAY H. et coll., 1945).

Il est possible que l'extrait inhibe la pompe à proton, comme le fait l'extrait d'*Aloe vera*. Cette activité a été attribuée aux polysaccharides (YUSUF S. et coll., 2004). Les flavonoïdes pourraient également être responsables de l'inhibition de la pompe à proton comme ceux présents dans *Thea sinensis*, *Glycyrrhiza glabra*, *Hypericum perforatum*, *Ginkgo* (BORELLI F. et IZZO A., 2000). De plus, les triterpènes contenus dans *Mohonia bealei* inhibent aussi la pompe à proton (SU-LI Z. et coll., 2014).

Or l'extrait A13 contient ces familles chimiques. Ce qui nous incite à émettre une hypothèse que son activité sur l'inhibition de la pompe à proton pourrait être due soit aux polysaccharides, aux flavonoïdes, ou aux triterpènes.

Par ailleurs, il a été rapporté que les tanins contenus dans *Dorstenia psylurus* provoquent la formation d'un film à la surface de la muqueuse gastrique par la polymérisation des glycoprotéines et retardent la diffusion des ions H⁺ (KANGUI A. G. et coll. 2011). La présence de tanins dans l'extrait A13 pourrait produire le même effet.

Une autre possibilité serait que l'extrait A13 est un antiacide. En le mélangeant directement avec le contenu gastrique, et les résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre le pH du mélange de l'extrait-suc gastrique et le contenu gastrique des animaux traités avec l'extrait A13. L'extrait neutralise l'acidité du contenu gastrique. Ce qui confère à l'extrait codé A13 un effet antiacide.

Plusieurs familles chimiques sont présentes dans l'extrait et nous ne pouvons pas déterminer avec précision son mécanisme d'action. Il se pourrait que plusieurs molécules agissent en synergie. Il n'est pas à écarter non plus, que l'activité antiulcéreuse soit due à une seule molécule, dont la famille d'appartenance serait à déterminer par des fractionnements bioguidés. Des études sur des molécules isolées pourraient préciser son mécanisme d'action.

CONCLUSION

V. CONCLUSION

L'extrait A13 augmente la protection de la paroi gastrique contre les agents agresseurs et diminue l'hyperacidité gastrique. Ces résultats nous permettent de dire que l'extrait A13 possède un effet mucoprotecteur, antisécrétoire et/ou antiacide. Ces propriétés nous permettent de conclure qu'il possède une activité antiulcéreuse. Nos résultats justifient l'utilisation de cette plante pour soulager les sensations de brûlure au niveau de l'estomac. Ces propriétés pourraient être dues à la présence des leucoanthocyanes, des tanins, des flavonoïdes des polysaccharides et des triterpènes dans l'extrait. Des travaux ultérieurs qui porteront sur la purification de cet extrait pourront préciser les mécanismes d'actions de ces molécules pures isolées de cet extrait.



BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

AL-HOWIRINY T., AL-SOHAIBANI M., AL-SAID M., AL-YAHYA M., EL-TAHIR K., SYED R. (2005).

Effect of *Commiphora opobalsamum*(L.) Engl. (Balessan) on experimental gastric ulcers and secretion in rats.

J. Ethnopharmacol., **98**: 287 – 294.

BELLANGER J., POITEREAU A. B. (1986).

Anti-inflammatoire et lésion digestive.

Ann. Gastro. Enterol. Hepatol., **25** (6) : 237 - 249.

BHAVE A. L., BHATT J. D., HEMAVATHI K. G. (2006).

Antiulcer effect of amlodipine and its interaction with H₂ blocker and proton pump inhibitor in pylorus ligated rats.

Ind. J. Pharmacol., **38**: 403 - 407.

BORELLI F., IZZO A. (2000).

The plant kingdom as a source of antiulcer remedies.

Phytother. Res., **14**: 581 - 591.

BRILLANT S., PIERIBATTESTI J. C., MORODON C. (2000).

Présentation de 2 plantes aromatiques et médicinales de la Réunion a fort potentiel de développement: Ambaville et fleur jaune.

Ethnopharm., **60** - 62.

BRODIE D. A., KNAPP P. G. (1966).

The mechanism of the inhibition of gastric secretion produced by esophageal ligation in the pylorus-ligated.

Gastroenterol., **50** (6): 787 - 795.

BURRI E., MEYER R. (2011).

Ulcères peptiques.

Abteilung für Gastroenterologie, Hepatologie und klinische Ernährung, Medizinische Universitätsklinik, Kantonsspital Liest.

Forum Med Suisse, **11** (49): 897 - 906.

CARMINE S., VERONICA D. S., FRANCESCO P., GIOVANNI M. (2013).

Review Mechanism of action of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug (NSAIDs) and Mezalazine in the Chemoprevention of colorectal Cancer.

Int. J. Mol. Sci., **14**: 17972 - 17985.

CASSEL-BERAUD A. M., PEGHINI M., MOUDEN J. C., RAJAONARISON P. (1996).

Prévalence de l'infection à l'*Helicobacter pylori* à Antananarivo, Madagascar.

Tribune libre, **1441**: 26 – 47.

COLLEN M. J., BENJAMIN S. B. (1991).

Pharmacology of peptic ulcer disease.

Hand. Exp. Pharm., **99**: 89 - 92.

DEBRAY M., JACQUEMIN H., RAZAFINDRAMBAO R. (1971).

Contribution à l'inventaire des plantes médicinales de Madagascar.

Travaux et Documents ORTOM, **1** (8): 150 - 152.

DIELT H., HEINZ K. (2010).

A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including rat and volume.

J. Appl. Toxicol., **21**: 15 - 23.

ESSADIK A., BENOMAR H., RAFIK I., HAMZA M., GUEMOURI L., KETTANI A, MAACHI F. (2013).

Epidemiological and clinical aspects of *Helicobacter pylori* infection through a Moroccan study.

Ed. Hegel, (Casablanca) **3**: 164 - 168.

FONG H. H. S., TIN-WA M., FARNSWORTH N. R. (1977).

Phytochemical Screening.

Rev. College of Pharmacy, University of Illinois, (Chicago), **275**: 6 - 7.

GALMICHE J. P., BRULEY DES VARANNES S. (1992).

Reflux gastro-œsophagien et œsophagite : physiopathologie, symptômes, diagnostic et traitement.

Ed. Mignon, Med. Gastroenterol., (Paris), 223 - 241.

GERARD P. R., THIEFFEN G. (2002).

Ulcère gastroduodénal, gastrite.

Rev. Prat., **52**: 781 - 787.

GIMENZ F., BRAZIER M., CALOP J., DINE T., TCHIAKPE L., CLAERBOUT J. F. (2000).

Traitement de l'ulcère gastroduodénal dans Pharmacie et Thérapeutique.

Ed. Masson, (Paris), **20**, 215-217.

HALPHEN M., RAMBAUD I.C. (1985).

Le traitement idéal de la maladie ulcéreuse.

Rev. Med. Int., **6** (3): 241-243.

HUNT R. H., SIAO S. D., MEGRAUD F. (2011).

Helicobacter pylori in developing countries. World Gastroenterology Organization Global Guideline.

J. Gastrointestin. Liv. Dis., **20**: 299 - 304.

ISERIN P., MASSON M., EDITH J., FRANÇOISE Y., MOULARD, ZHA E. ROQUE R, ROQUE O., VICAN P., YBERT E., DELESALLE T., BIAUJEAUD M., BLOCH J. R., BOTREL A. (2001).

LAROUSSE, Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soins.

2^{ème} Ed. Larousse-Bordas, (Paris), 10 – 16.

JYOTI G., DINESH K., ANKIT G. (2012).

Evaluation of gastric anti-ulcer activity of metanolic extract of *Cayratia trifolia* in experimental.

Asian. Pac. J. Trop. Dis., **2**: 99 - 102.

KANGUI A.G., FOKUNANG C., NGAMENI B., NJIKI O., TEMBE E. (2011).

Effet cytoprotecteur de l'extrait aqueux des racines de *Dorstenia psilurus* sur l'ulcère gastrique chez les rats males de la souche wistar.

Health Sci. Dis., **12**: 10 - 11.

KHARE S., ASAD M., DHAMANIGI S. S., PRASAD V. S. (2008).

Antiulcéreux de l'huile de foie de morue chez les rats.

J. Ind. Pharmacol., **40**: 209 - 214.

KUMAR M. S., APARNA P., POOJITHA K., KARISHMA S. K., ASTALAKSHMI N. (2011).

A comparative study of *Michelia champaca* linn flower and leaves for anti-ulcer activity.

Int. J. Pharm. Sci. Res., **2** (6): 1554 - 1558.

LAMARE L. (2005).

La Collection Hippocrate *Épreuves Classantes Nationales* HEPATO-GASTRO-ENTEROLOGIE.

Ulcère gastrique et ulcère duodénal-Gastrite.

Institut la Conférence Hippocrate, (Paris), 2 - 4.

LAMARQUE D., TRAN VAN NHIEU J., BREBAN M. (2003).

Quelles sont les modifications gastriques induites par l'infections aigue et chronique par l'*Helicobacter pylori*?

Gastroentérol. Clin. Biol., **27**: 391 - 400.

LENOIR L. (2011).

Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation chronique chez les rats.

Mémoire de Doctorat, Ecole Doctorale des Science de la vie et de la Santee, Université d'Auvergne, 69 – 73.

LESUR G., LEVY P., BERNARDES P. (1993).

Les ulcères gastroduodénaux chroniques : physiopathologie, clinique.

EMC: Gastro entéro.9-021-B-10: 1 - 9.

MADHU C., HINDU K., SUDEEPTHI C. D., MANEELA P., REDDY K. V., SREE B. B. (2012).

Antiulcer activity of aqueous extract of *Aegle marmelos* leaves on rats.

Asian J. Phar. Res., **4** (2): 132 - 135.

MANDAL S., ROY R. K., DAS A. N., ADITYA G. N., CHATTOPADHYAY R. N., LAHIRY H. L. (1998).

Potential of gastric antiulcer effect of famotidine by calcium channel blockers in rats.

Ind. J. Pharmacol., **30**: 3 - 390.

MARIEB N. E. (2008).

Biologie humaine. Principe d'anatomie et de physiologie.

8è Ed. Renouveau Pédagogique Inc., (Paris), 500 - 518.

MIGNON M., POSPAL D. (1996).

Rôle de la sécrétion acide dans la pathogénie de la maladie ulcéreuse duodénale.

Gastroentérol. Clin. Biol., **20**: 14 - 21.

MOORE N., MOLIMARD M., FOURRIER-REGLAT A., LATRY K., HARAMBURU F., MIREMONT-SALAME G., TITIER K. (2006).

Pharmacologie générale, Pharmacologie de la sécrétion gastrique.edition Jacques.

DANGOUMAU, Bordeaux, chap. **14**, 293 - 295.

NILSEN J. R. A. (2004).

Etude ethnopharmacologique de l'activité antiulcéreuse de l'extrait hydroalcoolique de *stenochlaenatenui folia* (BLECHNACEAE) chez la souris.

Mémoire D.E.A en pharmacologie, Université d'Antananarivo : 3 - 31.

NTSAYO F. (2011).

Effet antiulcérogénique de l'extrait aqueux des écorces d'*Anthocleista schweihurthei* (LOGAMINACIACEAE) chez les rats.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Professeur de l'Enseignement secondaire de grade II (Di. P. E. S. II), 52-54.

PANDA V., SONKAMBLE M. (2012).

Antiulcer activity of *Ipomoea batatas* tubers (Sweet potato).

Funct. Foods. Health. Dis., **2** (3): 48-61.

PIEDOUX (2014).

Pharmacologie digestive. Les antiulcéreux, antisécrétoires et antiacides.

Ed. Masson, (Paris), 1- 12.

RAYNAUD B., NETENBERG G. (1996).

Les ulcères gastroduodénaux en réanimation.

La Presse Médicale., **25**: 1448 - 1449.

RAZAFIMAHEFA S. H., RABENJANAHARY T. H., RAKOTOARIVELO R. A., RAKOTOZAFINDRABE R. A. L., ZERBIB F., RAMANAMPAMONJY R. M., RAJAONA R. H. (2012).

Infection à *Helicobacter pylori* : revue de la littérature et réalités à Madagascar.

Rev. Méd. Madag., **2** (2): 125 - 131.

REID J. L., LEE E., WHITING B. (1992).

Drugs and gastrointestinal disease. Lectures notes on clinical pharmacology.

Blackwell. Scientific. Pub., 179 - 185.

SHAY H., KOMAROV S. A., FELS S. S., MARANZE D., GRUENSTEIN M., SIPLET H. (1945).

A simple method for uniform production of gastric ulceration in the rat.

J. Gastroenterol., **5**: 43 - 61.

SILBERNAGL S., LANG F. (2015).

Atlas de poche Physiopathologie.

3^{ème} Ed Flammarion M/S, 144 - 146.

SILBERNAGL S., DESPOPOULOS A. (1998).

Atlas de poche de physiologie.

Nutrition et Digestion.

2^{ème} Ed Flammarion M/S, 57-59.

SU-LI Z., HUI LI, XIN HE, RUN-QI Z., YU-HE SUN, CHUN-FENG Z., CHONG-ZHI W., CHUN-SU Y. (2014).

Alkaloids from *Mahoniabealeiposses* anti-H⁺/K⁺-ATPase and anti-gastrin effects on pyloric ligation-induced gastric ulcer in rats.

J. Ethnopharmacol., **21**: 1356–1363.

SUNIL K., ARMANDEEP K., ROBIN S., RAMICA S. (2012).

Pepti ulcer: a revewon etiology and pathogenesis.

Int. Res. J. Pharm., **3** (6): 34 - 38.

YUSUF S., AGUNU A., DIANAM. (2004).

The effect of Aloe vera A. Berger (LILIACEAE) on gastric acid secretion and acute gastric mucosal injury in rats.

J. Ethnopharmacol., **93**: 33 - 37