

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES	i
LISTE DES TABLEAUX.....	ii
LISTE DES FIGURES	iii
LISTE DES SIGLES ET DES ABREVIATIONS	iv
I. INTRODUCTION.....	1
II. MATERIELS ET METHODES.....	4
A. PARTIE CHIMIQUE.....	4
1. Extraction.....	4
2. Criblage phytochimique	4
B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE	6
1. Animaux d'expérience.....	6
2. Etude de l'effet de l'extrait « RMN » sur la diurèse et sur le pH urinaire	6
3. Etude de l'effet de l'extrait « RMN » sur la natriurie et la kaliurie	8
4. Etude de la toxicité aigüe de l'extrait « RMN »	8
C. EXPRESSION ET ANALYSE DES RESULTATS.....	8
III. RESULTATS	9
A. PARTIE PHYTOCHIMIQUE	9
1. Rendement de l'extraction.....	9
2. Résultats du criblage phytochimique.....	9
B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE	10
1. Effet de l'extrait « RMN » sur la diurèse.....	10
2. Effet de l'extrait « RMN » sur le pH urinaire	10
3. Effet de l'extrait « RMN » sur la natriurie.....	11
4. Effet de l'extrait « RMN » sur la kaliurie.....	12
5. Rapport de Na^+/K^+ urinaire.....	12
6. Résultats de l'étude de la toxicité aigüe.....	13
IV. DISCUSSION.....	14
V. CONCLUSION.....	16
BIBLIOGRAPHIE	17

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Tests utilisés pour déterminer les principales familles chimiques présentes dans l'extrait "RMN"	5
Tableau II. Différentes familles chimiques présentes dans l'extrait "RMN"	9
Tableau III. Rapport Na+/K+ urinaire.....	12

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Cage à métabolisme pour recueillir les urines émises des rats	7
Figure 2. Volume d'urine de 24 h émise par les rats témoins et traités avec l'extrait « RMN » aux doses de 25, 50 et 75 mg/kg, administré par voie orale, après une surcharge de solution physiologique (NaCl 0,9%)	10
Figure 3. pH urinaire de 24 heures chez les rats traités par l'extrait RMN aux doses de 25, 50 et 75 mg/kg par rapport au lot témoin	11
Figure 4. Natriurie de 24 heures des rats traités avec l'extrait « RMN » aux doses de 25, 50 et 75 mg/kg, administré par voie orale , et des rats du lot témoin	11
Figure 5. Kaliurie de 24 heures des animaux traités avec « RMN », administré par voie orale, aux doses de 25, 50 et 75 mg/kg et chez les animaux du lot témoin	12

LISTE DES SIGLES ET DES ABREVIATIONS

ATP-ase : adénosine tri-phosphatase

°C : degré Celsius

Cl- : chlore

coll. : collaborateur

e.s.m : écart type standard moyenne

E.U.V : excretion urinaire volumétrique

g : gramme

h : heure

H+ : hydrogène

K+ : potassium

n : effectif (nombre des rats utilisés)

Na+ : sodium

NaCl : chlorure de sodium

\bar{m} : moyenne

mg/Kg : milligramme par kilogramme

ml/Kg : millilitre par kilogramme

mmol : millimole

P : seuil de signification

pH : potentiel d'hydrogène

r : rendement

t : test Student

% : pourcent

< : inférieur

> : supérieur

± : plus ou moins

INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

Les diurétiques sont parmi les médicaments fréquemment prescrits pour traiter les maladies d'une rétention hydrosodée et d'une hypervolémie comme le cas de l'hypertension artérielle (HTA) (RICHARD C. et coll., 2015). La tension artérielle est la principale porte d'entrée des maladies cardiovasculaire et des atteintes rénales (KEARNEY P.M. et coll., 2004).

L'HTA représente un véritable problème de santé publique. Elle tue actuellement 9,4 millions de personnes par an (OMS, 2013). Au niveau mondial en 2014, la prévalence de l'hypertension artérielle chez les adultes de 18 ans et plus était d'environ 22% (OMS, 2014). C'est dans le pays Africain que cette prévalence est la plus élevée puisqu'elle touche 46% de la population, et c'est dans l'Amérique qu'elle est la plus faible de 35% (OMS, 2011). A Madagascar, en milieu urbain d'Antananarivo, la prévalence de l'hypertension artérielle est de 28,05% (RABARIJAONA L.M.P.H., 2009).

Lorsqu'une rétention d'excès de fluide a lieu, la prescription de diurétique est nécessaire pour maintenir le volume et la composition de fluide du corps en augmentant l'excrétion de sodium et le volume de l'urine (KALRO O.P. et AGGARWAL A., 2012 ; KALABHARATHI H.L. et coll., 2015). Les composés diurétiques sont indiqués dans le traitement des œdèmes (GARABED E., 1997), de l'hypertension artérielle (MEIER P. et BURNIER M., 2002), du diabète insipide néphrogénique (BALANESCU S. et RUTISHAUSER J., 2010), de l'insuffisance rénale (SAUDAN P. et ZELLWEGER M., 2001), de l'insuffisance cardiaque (RICHARD C. et coll., 2015), de glaucome mais aussi dans le cas de détoxification de l'organisme (BRATER D.C, 1998 ; MAURIZI B.J. et ZAOUI P., 2004). Ils sont utilisés aussi devant la prise en charge de l'hyperkaliémie, de l'hypercalcémie et de l'hyperaldostéronisme (BRATER DC, 1998).

Les diurétiques agissent au niveau du rein (SHREE DEVI M.S., 2011) pour assurer l'équilibre hydro-électrolytique de l'organisme (BRATER D.C., 1998 ; LIAM P., 2003) et éliminer les déchets issus du métabolisme. Ils sont classés généralement en trois catégories : les diurétiques proximaux (mannitol et inhibiteur de l'anhydrase carbonique), les diurétiques de l'anse et les diurétiques distaux (thiazidiques et les diurétiques épargnant le potassium) (SAUDAN P. et ZELLWEGER M., 2001). Ils diffèrent par leurs mécanismes d'actions et leurs sites d'action (PUSCHETT J.B., 1994).

Les diurétiques osmotiques font parties des diurétiques proximaux, comme le mannitol (ODLIND B., 1984). Ces substances ont le caractéristique d'être filtrées librement au niveau du glomérule, d'être très faiblement réabsorbées au niveau des tubules et de ne pas être métabolisées. Ces agents augmentent le flux urinaire avec relativement peu d'augmentation de l'excrétion d'électrolytes. Ils sont utilisés soit dans les situations nécessitant la déshydratation cellulaire comme l'œdème cérébral, soit dans la prophylaxie de l'insuffisance rénale aigue (KRZESINSKI J.M., 1996 ; FERRARI P. et FREY F.J., 2000).

Les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique agissent au niveau du tube contourné proximal en inhibant la synthèse de l'acide carbonique (MAREN T.H., 1977). Ils réduisent l'apport d'ion H^+ nécessaires aux échanges des ions Na^+ . Ils entraînent ainsi une diurèse alcaline et une hypokaliémie comme l'Acétazolamide (DIAMOX®) (MATERSON B.J., 1983 ; IMBS J.L. et coll., 1986). Leur indication principale est le glaucome en réduisant la pression intraoculaire mais ils peuvent être utilisés pour traiter les patients cédémateux avec l'acalose métabolique (PREISIG P.A. et coll., 1987).

Les diurétiques de l'anse inhibent le cotransport sodium-potassium-2chloride ($Na^+/K^+/2Cl^-$) au niveau de la branche ascendante de l'anse de Henlé (LIAM P., 2003 ; KHATIB R., 2008). Ce sont des composés plus puissants et plus efficaces qui augmentent de façon très marquée l'excrétion urinaire de sodium, comme le Furosémide (LASILIX®) (MEIER P. et BURNIER M., 2002). Ils sont utilisés dans le traitement d'urgence de l'œdème pulmonaire en raison de son action rapide (KRZESINSKI J.M., 1996) et dans la prise en charge de l'insuffisance rénale aigue (TATAW J. et SAUDAN P., 2011).

Les diurétiques thiazidiques tels que l'hydrochlorothiazide (ESIDREX®) et l'indapamide (FLUDEX®) inhibent la réabsorption de sodium et de chlore au niveau du tube contourné distal du néphron (KHATIB R., 2008). Leurs principales indications sont l'hypertension artérielle, les états cédémateux et l'hypercalciurie (SAUDAN P. et ZELLWEGER M., 2001).

Les diurétiques épargnant le potassium inhibent la réabsorption de sodium au niveau de l'extrémité distale du tube contourné distal et du tube collecteur (ODLIND B., 1984 ; BRATER D.C., 1998). D'une part, il y a les antagonistes de l'aldostérone comme le Spironolactone (ALDACTONE®) qui inhibent d'une manière compétitive l'action de l'aldostérone. Ils augmentent ainsi la quantité d'eau, le sodium éliminée et la quantité de potassium réabsorbée (ZEIDEL M.L., 1993 ; PITT B., 1999).

D'autre part, l'Amiloride (MODAMIDE®) bloque directement les canaux sodiques (TEIWES J. et TOTO R.D., 2007). Ces substances sont indiquées dans le traitement de l'œdème accompagné de l'hyperaldostéronisme, l'ascite cirrhotique et décompensation cardiaque (KRZESINSKI J.M., 1996).

Ces principaux diurétiques inhibent tous la réabsorption tubulaire de sodium (natriurétique). Par ailleurs, les inhibiteurs de la vasopressine constituent une nouvelle classe de diurétique diminuant la réabsorption d'eau libre au niveau du tube collecteur. Ce sont les diurétiques aquarétiques comme Tolvaptan, utilisé en cas d'insuffisance cardiaque (TORRES V.E. et coll., 2012 ; RICHARD C. et coll., 2015).

En raison des effets secondaires liés à la drogue synthétique, la majorité de la population ont recourt à la plante médicinale pour se soigner (HULLATI K. et coll., 2014). C'est ainsi que 80% de la population dans le monde comptent toujours sur la phytothérapie (HAQ I., 2004). Plusieurs plantes médicinales sont employées avec succès dans le traitement d'une variété de maladies (SHINWARI Z.K., 2010), dont la plus part d'entre eux possèdent une activité diurétique (CACERES A. et coll., 1987). Citons l'*Orthosiphon stamineus* (LAMIACEAE), *Hieracium pilosella* (ASTERACEAE), *Sambucus nigra* (CAPRIFOLIACEAE) qui sont utilisé en France (BEAUX D. et coll., 1999), la racine de *Taraxacum officinalis* (ASTERACEAE) utilisée en Allemand, France et Chine (SCHUTZ K. et coll., 2006) et la décoction d'*Euphorbia hirta* (EUPHORBIACEAE) utilisée en Afrique et en Australie (JOHNSON P.B. et coll., 1999). Dans la médecine traditionnelle Malagasy, plusieurs plantes sont utilisées pour soigner les maladies de l'appareil urinaire en tant que diurétiques comme *Cymbopogon citratus* (POACEAE) (Veromanitra) (RIVIERE C. et coll., 2005), *Zeamays* (POACEAE) (Katsaka) (PERNET R. et MEYER G., 1957) et *Mystroxylon aethiopicum* (CELASTRACEAE) (Fanazava) (DEJARDIN J. et coll., 1973).

D'après les enquêtes ethnobotaniques que nous avions effectuées à Ambohidratrimo (région Analamanga), la racine ou la plante entière à partir de laquelle l'extrait codé « RMN » a été obtenue, est utilisée par les personnes âgées (homme et femme) pour soigner les problèmes rénaux (infection urinaire avec difficulté à la miction) et pour détoxifier le corps. Ce qui nous a amenée à penser que cette plante pourrait avoir une activité diurétique. Afin de vérifier cette hypothèse, l'effet de l'extrait RMN a été étudié chez le rat en l'administrant par voie orale. Le volume urinaire, la natriurie, la kaliurie ainsi que le pH des urines récoltées en 24 heures ont été mesurés.

**MATERIELS
ET
METHODES**

II. MATERIELS ET METHODES

A. PARTIE CHIMIQUE

1. Extraction

Les racines de la plante ont été récoltées dans la région d'Analamanga, District d'Ambohidratrimo, commune Anosiala au mois de novembre 2016. Elles ont été nettoyées, découpées et séchées à l'ombre dans un endroit aéré pendant trois mois. Une fois séchées, elles ont été broyées à l'aide d'un mortier et pilon. Ensuite, trois cent grammes de la poudre ont été macérés à froid dans un mélange éthanol-eau (80 :20) à la température ambiante pendant trois jours. Le macérât a été ensuite filtré avec le papier Wattman et le filtrat a été évaporé à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (BÜCHI ®), à la température 70°C.

L'extrait obtenu a été pesé et codé « RMN », et le rendement (r) a été calculé selon la formule :

$$r \text{ (en \%)} = \frac{\text{Masse de l'extrait sec obtenu}}{\text{Masse de la poudre macérée}} \times 100$$

2. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique a été réalisé dans le but de détecter les différentes familles chimiques dans l'extrait RMN. Des réactifs spécifiques ont été utilisés, ils réagissent avec la famille chimique correspondante, par la formation de précipité ou changement de couleur ou présence de mousse après agitation (Tableau I) (FONG H.H.S. et coll., 1977).

Pour quantifier la proportion relative des différentes familles chimiques présentes dans l'extrait, les signes suivants ont été utilisés:

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

Tableau I. Tests utilisés pour déterminer les principales familles chimiques présentes dans l'extrait "RMN" (FONG H.H.S. et coll., 1977).

Familles chimiques	Tests	Réactifs utilisés	Observations	Composés présents
Alcaloïdes	Draggendorf	(NO ₂) ₂ BI/IK	Précipitation	Alcaloïdes
	Mayer	HgCl ₂ /IK		
	Wagner	Acide picrique (I ₂ /IK)		
Tanins et polyphenols	Gélatine-sel	Gélatine 1%	Précipitation	Tanins catéchiques
		Gélatine salée	Précipitation	Tanins pyrogalliques
		FeCl ₃	Bleu-vert ou précipitation	Composés phénoliques
Flavonoïdes	WilStater	HCl + tournure de magnésium	Virage rouge	Flavone
Leucoanthocyanes	Bate Smith	HCL concentré + KOH	Intensification de couleur	Leucoanthocyanes
Saponines	Mousse	Agitation dans un tube à essai avec de l'eau distillée	Persistance de mousse 3cm après 30mn de repos	Saponines
Stéroïdes et Terpénoïdes	Badjet	KOH + acide Picrique	coloration orange	Stéroïdes
	Kedde	KOH + réactif de Kedde	coloration violette	Glycosides Cardiotoniques
	Libermann-Burchard	Anhydre acétique + H ₂ SO ₄	Anneau rouge	Stérols
Glycosides	Killer-Killiani	FeCl ₃ 10% + acide acétique glacial	coloration verdâtre	Triterpénoïdes
			Anneau rouge	Désoxyoses
Quinones		NH ₄ OH	Coloration rouge violacée	Quinones

B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE

L'objectif de ce test a été d'étudier l'activité diurétique de l'extrait RMN administré par voie orale chez les rats. Le volume d'urine émise en 24 heures, le pH urinaire, la natriurie et la kaliurie ont été mesurés (KAU S.T. et coll., 1984).

1. Animaux d'expérience

Des rats de race Wistar, mâles âgés de 3 mois et pesant de 200 à 300g ont été utilisés. Ces animaux proviennent de l'Animalerie du Laboratoire PHARMACODYNAMIE de la Faculté des Sciences d'ANTANANARIVO. Les animaux ont été élevés dans des cages à température ambiante avec un cycle de 12 h de lumière et 12 h d'obscurité. Ils ont été nourris avec de la provende, et ont eu accès libre à de l'eau.

2. Etude de l'effet de l'extrait « RMN » sur la diurèse et sur le pH urinaire

L'étude de l'effet de l'extrait « RMN » sur la diurèse consiste à comparer le volume de l'urine émise en 24 heures par les animaux des lots traités avec l'extrait à celui des animaux du lot témoin.

Avant l'expérimentation, les animaux ont été placés dans une cage à métabolisme individuelle pendant 24 heures pour les habituer aux conditions expérimentales (SHENOY J.P. et coll., 2011). Après cette période d'adaptation, ils ont été mis à jeun 18 heures avant les tests (LIPSCHITZ et coll., 1943). Les animaux ont été divisés en 4 lots comprenant chacun 5 rats. Le premier lot a servi de témoin et les animaux des 3 autres lots ont été traités avec l'extrait « RMN ». Le produit a été dissous dans de l'eau distillée (REBUELTA M. et coll., 1981).

Au début de l'expérience, tous les animaux ont reçu une surcharge de solution physiologique (Nacl 0,9%) par voie orale à raison de 5ml/100g de poids corporel (BENJUMEA D. et coll., 2005 ; SHENOY J.P. et coll., 2011). Trente minutes après, les animaux du lot témoin ont reçu de l'eau distillée, tandis que les animaux des 3 autres lots ont respectivement reçu l'extrait « RMN » aux doses de 25, 50 et 75 mg/kg. L'eau et l'extrait ont été administrés par voie orale à 10ml/kg (HEINZ K. et DIELH, 2010). Ensuite, les rats ont été placés individuellement dans des cages à métabolisme (figure 1) pendant 24 heures. Puis, leur urine émise pendant ce temps a été recueillie et le volume ainsi que le pH de cette urine ont été mesurés.

L'activité diurétique de l'extrait a été exprimée par l'excrétion urinaire volumétrique (EUV en %) (KAU S. T. et coll., 1984) suivant la formule :

$$\text{EUV} = \frac{\text{VE}}{\text{VA}} \times 100$$

Avec VE : Volume urinaire (ml)

VA : Volume de surcharge hydrique (ml)

La valeur de l'excrétion urinaire volumétrique suivante a été utilisée pour étudier l'activité diurétique de l'extrait « RMN » :

- EUV < 80 % : Activité antidiurétique
- 80 % < EUV < 100 % : Pas d'activité diurétique
- 100 % < EUV < 130 % : Activité faible diurétique
- 130 % < EUV < 150 % : Activité moyenne diurétique
- 150 % < EUV : Forte activité diurétique

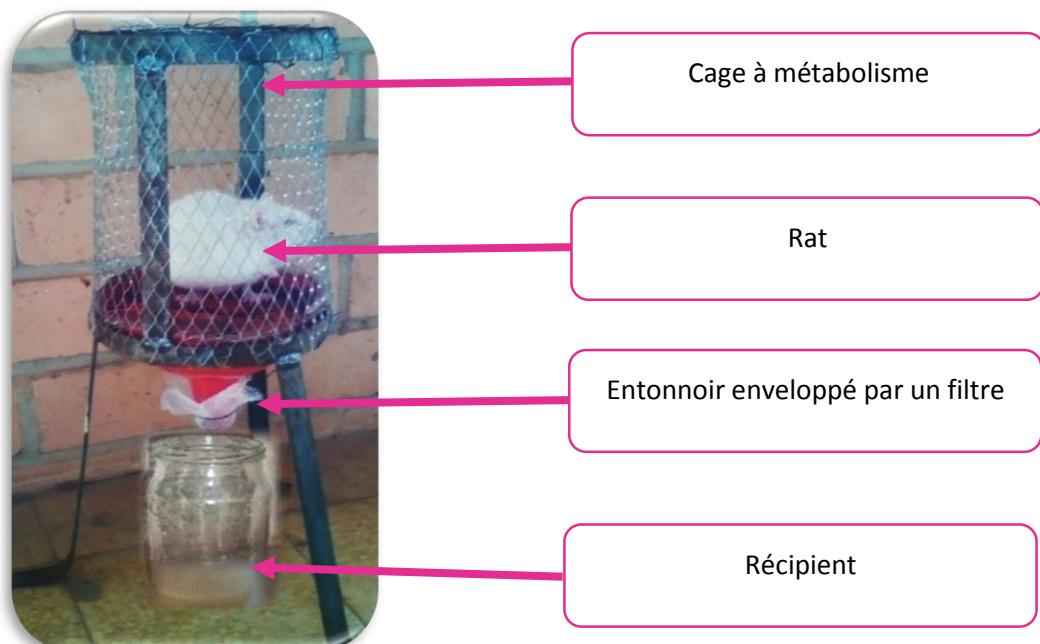


Figure 1. Cage à métabolisme pour recueillir les urines émises des rats

3. Etude de l'effet de l'extrait « RMN » sur la natriurie et la kaliurie

Les concentrations des ions sodium et potassium dans l'urine recueillie en 24 heures ont été dosées au Laboratoire de Formation et de recherche en Biologie Médicale (LBM) de la Faculté de Médecine à Faravohitra d'Antananarivo. Le dosage a été réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre de flamme (HENRY R. J. et coll., 1974).

4. Etude de la toxicité aigüe de l'extrait « RMN »

Ce test a été effectué afin d'étudier les éventuels effets toxiques de l'extrait. Des souris (SWISS) mâles et femelles, âgées de 10 semaines, pesant en moyenne 25g ont été utilisées. Les animaux ont été répartis en 4 lots composés de 5 souris chacun. L'administration a été faite après 12 heures de jeunés.

Les 3 lots ont reçu par voie orale de l'extrait « RMN » aux doses de 500, 1000 et 2000 mg/kg. Un lot témoin a reçu par la même voie de l'eau distillée (10 ml/kg). Après l'administration des produits, les signes de toxicité ont été observés durant les deux premières heures, et dans un intervalle de 30 minutes pendant 6 heures. La mortalité des animaux a été notée à la fin de 24 heures et une fois quotidiennement jusqu'aux 14^{èmes} jours (SANOGO R. et coll., 2009 ; ASIF M. et coll., 2013).

C. EXPRESSION ET ANALYSE DES RESULTATS

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm écart type réduit ($\bar{m} \pm e.s.m$). Les moyennes ont été comparées entre elles en utilisant le test 't' de Student avec un degré de signification $P < 0,05$ (SCHWARTZ D., 1969).

RESULTATS

III. RESULTATS

A. PARTIE PHYTOCHIMIQUE

1. Rendement de l'extraction

Après évaporation à sec du filtrat hydro alcoolique obtenu avec 300 g de poudre de racine, 17g d'extrait ont été obtenus, soit un rendement de 5,66%.

2. Résultats du criblage phytochimique

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait « RMN » révèle la présence d'une forte teneur en tanins, d'une teneur moyenne en polyphénols et en alcaloïdes, et d'une faible teneur pour la quinones (Tableau II).

Tableau II. Différentes familles chimiques présentes dans l'extrait "RMN"

FAMILLES CHIMIQUES	TENEUR
TANINS	+++
POLYPHENOLS	++
ALCALOÏDES	++
QUINONES	+
FLAVONOÏDES	-
SAPONINES	-
STEROIDES ET TERPENOÏDES	-

+++ : Forte teneur

++ : Teneur moyenne

+ : Faible teneur

- : Absence

B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE

1. Effet de l'extrait « RMN » sur la diurèse

L'administration de l'extrait « RMN » par voie orale augmente la diurèse de 24h des rats traités par rapport au lot témoin ayant reçu de l'eau distillée. Cette diurèse augmente avec la dose de l'extrait administrée. Chez les animaux du lot témoin, le volume de l'urine émise en 24 h est égal à $3,73 \pm 0,51$ ml, contre $5,56 \pm 0,6$, $8,23 \pm 0,41$ et $11,73 \pm 0,75$ ml pour les animaux des lots traités avec l'extrait « RMN » aux doses respectives de 25,50 et de 75 mg/kg ($P<0,05$) (Figure 2).

Le calcul de l'excrétion urinaire volumétrique (EUV) donne une valeur égale à 146,88% avec la dose de 75 mg/kg de l'extrait. L'extrait RMN possède une activité diurétique moyenne.

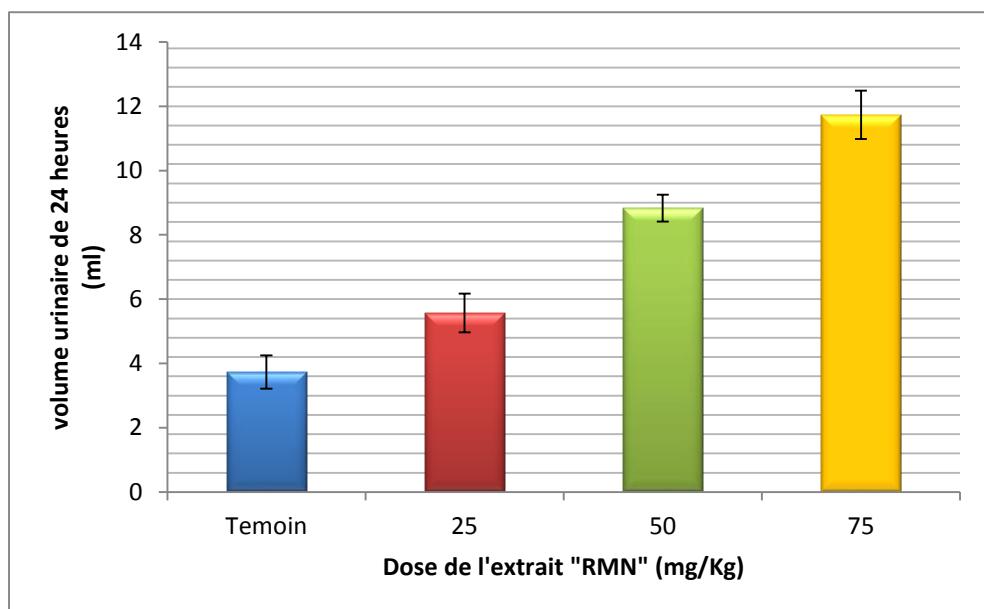


Figure 2. Volume d'urine de 24 h émise par les rats témoins (■) et traités avec l'extrait « RMN » aux doses de 25 (■), 50 (■) et 75 (■) mg/kg, administré par voie orale, après une surcharge de solution physiologique (Nacl 0,9%) ($\bar{m} \pm$ e.s.m., n=5 ; $p< 0,05$).

2. Effet de l'extrait « RMN » sur le pH urinaire

L'administration par voie orale de l'extrait « RMN » chez les rats augmente légèrement le pH urinaire mais non significatif. Chez les animaux du lot témoin, le pH de l'urine est égal à $6,13 \pm 0,20$ contre $6,56 \pm 0,30$; $6,90 \pm 0,52$ et $7,37 \pm 0,31$ chez les animaux des lots traités avec l'extrait RMN aux doses respectives de 25, 50 et 75 mg/kg (NS) (figure 3).

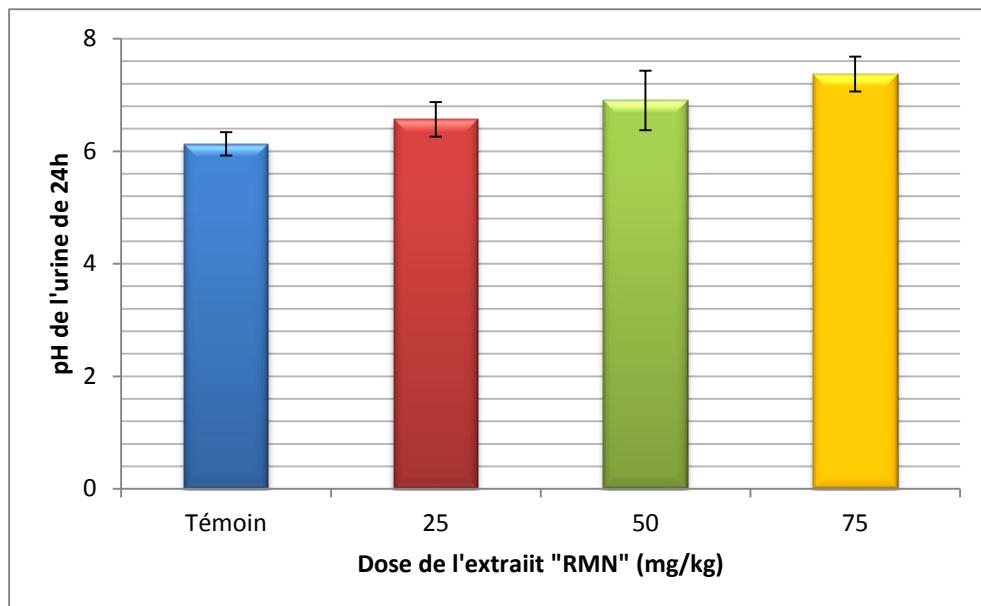


Figure 3. pH urinaire de 24 heures chez les rats traités par l'extrait RMN aux doses de 25 (■), 50 (■) et 75 (■) mg/kg par rapport au lot témoin (■) ($\bar{m} \pm$ e.s.m ; n=5 ; p>0,05).

3. Effet de l'extrait « RMN » sur la natriurie

L'administration par voie orale de l'extrait « RMN » chez les rats augmente leur natriurie. Chez les animaux du lot témoin, elle est égale à $70,70 \pm 7,59$ mmol/l contre $95,80 \pm 5,50$, $113,83 \pm 6,29$ et $129,76 \pm 4,37$ mmol/l chez les animaux traités avec RMN aux doses respectives de 25, 50 et 75 mg/kg (p<0,05) (Figure 4).

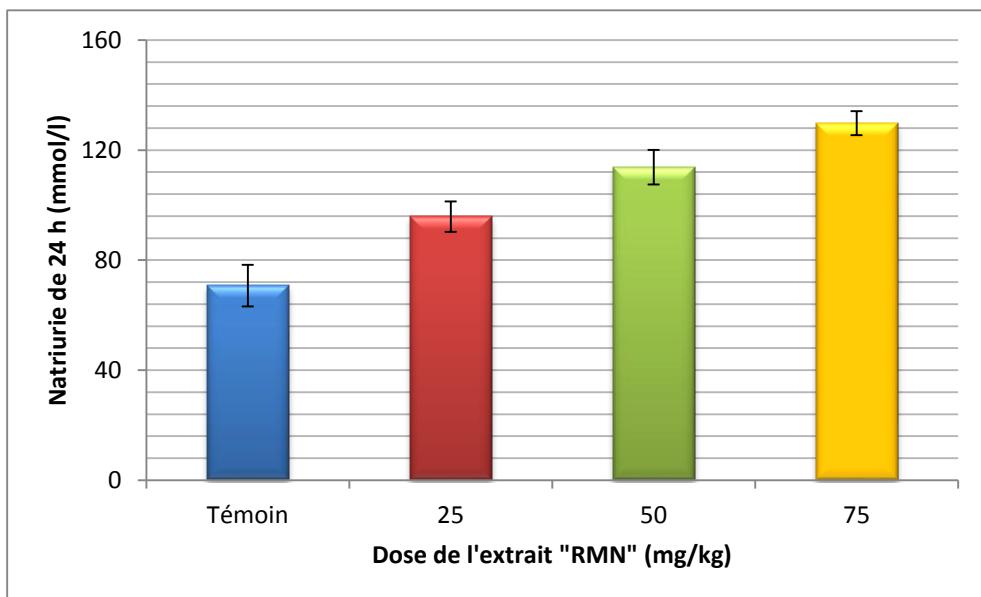


Figure 4. Natriurie de 24 heures des rats traités avec l'extrait « RMN » aux doses de 25 (■), 50 (■) et 75 (■) mg/kg administré par voie orale, et le lot témoin (■) ($\bar{m} \pm$ e.s.m., n=5 ; p < 0,05).

4. Effet de l'extrait « RMN » sur la kaliurie

L'administration par voie orale de l'extrait « RMN » chez le rat diminue la kaliurie.

Chez le lot témoin, la kaliurie est égale à $75,7 \pm 5,19$ mmol/l contre $68,6 \pm 2,26$; $62,96 \pm 3,01$ et $59,3 \pm 3,23$ mmol/l chez les animaux traités avec l'extrait aux doses de 25, 50 et 75 mg/kg ($p < 0,05$) (Figure 5).

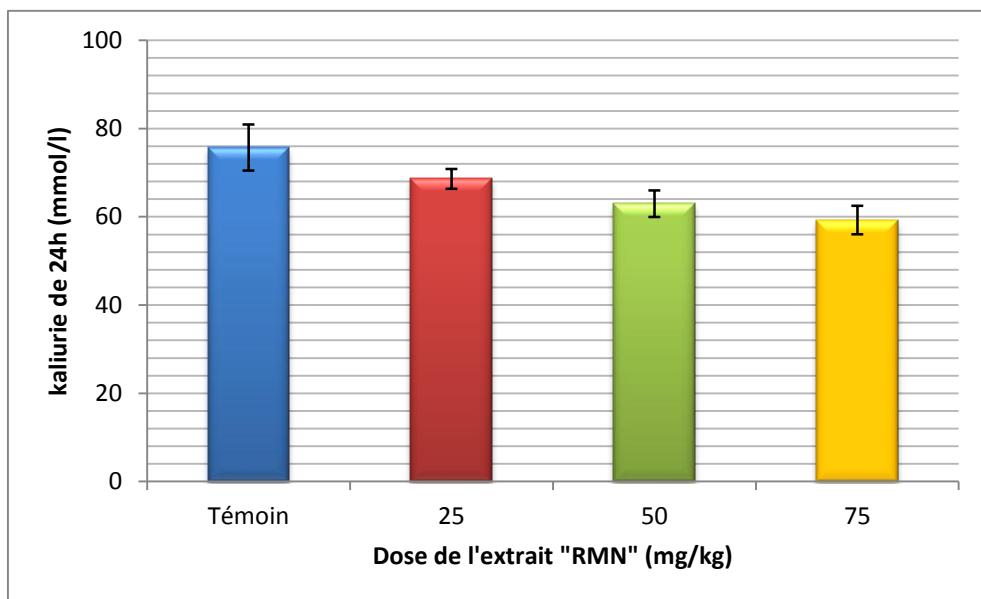


Figure 5. Kaliurie de 24 heures des animaux traités avec « RMN » administré par voie orale aux doses de 25 (■), 50 (□) et 75 (○) mg/kg et chez le lot témoin (■) ($\bar{m} \pm$ e.s.m, $n=5$, $p < 0,05$)

5. Rapport de Na^+/K^+ urinaire

Le rapport Na^+/K^+ urinaire des rats traités avec l'extrait « RMN » est rapporté sur le tableau III.

Les résultats obtenus montrent que le rapport Na^+/K^+ s'augmente avec les doses.

Tableau III. Rapport Na^+/K^+ urinaire

Traitements	Rapport Na^+/K^+ (mmol/l)
Témoin	0,93
RMN à 25mg/kg	1,39
RMN à 50mg/kg	1,8
RMN à 75mg/kg	2,18

6. Résultat de l'étude de la toxicité aigüe

L'étude de la toxicité aigüe chez les souris a montré que l'extrait brut de « RMN » ne provoque pas de la mortalité aux doses de 500mg/kg à 2000mg/kg durant les 14 jours. Tous les animaux ne présentent aucun signe évident de la toxicité ou des comportements anormaux qui conduit à la pathologie dans les heures d'observations. Cependant, les souris ayant reçu la dernière dose ont montré de la somnolence et la diminution de l'activité spontanée après l'administration de l'extrait. En outre, tous les animaux qui ont reçu l'extrait urinaient beaucoup pendant les 24 heures par rapport aux animaux du lot témoin, mais ne présentent pas de signe de diarrhée. Par ailleurs, les souris retrouvent leur état physiologique normal après 4 heures de l'administration des produits.

DISCUSSION

IV. DISCUSSION

La présente étude porte sur l'activité diurétique de l'extrait « RMN » chez les rats. Après l'administration de l'extrait « RMN » par voie orale, la diurèse, la natriurie, la kaliurie et le pH urinaire ont été mesurés et comparés à ceux du lot témoin. Les résultats obtenus avec les différents tests montrent que RMN augmente la diurèse, le pH de l'urine, la natriurie mais diminue la kaliurie.

L'administration par voie orale de l'extrait RMN augmente le volume de l'urine émise en 24h par les rats traités. Cette augmentation traduirait le pouvoir diurétique de la plante comme chez le cas de la caféine (SAYNOK J., 1995). Dans une revue publiée en 2016, MARX B. et ses collaborateurs ont expliqués que l'augmentation de la diurèse par la caféine qui résulte de l'inhibition de la vasoconstriction de l'artéiole afférente augmentant le débit de filtration glomérulaire. Aussi, la caféine inhibe la réabsorption sodée au niveau du tube contourné proximale (MARX B. et coll., 2016).

En plus, l'augmentation de la diurèse est en relation avec l'augmentation de la natriurie, car l'eau retient le sodium avec elle. Ce mécanisme est dû à l'inhibition de la réabsorption de sodium dans le tubule rénale (VISHAL B., 2012). L'extrait « RMN » possède donc des effets diurétiques et natriurétiques.

Par ailleurs, à coté de cette augmentation de la natriurie, nos résultats montrent une baisse de la kaliurie. Ce qui est un évocateur d'une action directe sur la partie tardive du tube distal et du canal collecteur (GLITZER M.S. et STEELMAN S.L., 1966). Au niveau de ce segment, la réabsorption de sodium est active et se fait en échange avec l'ion potassium grâce à une pompe $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase dépendante. Celle-ci est sous le contrôle de l'aldostérone secrétée par la glande surrénale dont la synthèse est modulée par le système rénine angiotensine (BRATER D.C., 1998). Le blocage de cette pompe entraînera une rétention de potassium et une élimination accrue de sodium (VAZIR A. et COWIE M. R., 2016). Ainsi, nous pouvons penser que l'extrait « RMN » agit au niveau du tube distal en inhibant la réabsorption de sodium qui pourrait être à l'origine de la diminution de la kaliurie.

En outre, l'augmentation du rapport de la concentration des ions excrétés de sodium et de potassium indique que l'extrait augmente l'excrétion d'ion sodium jusqu'à une plus grande quantité que le potassium. C'est une qualité essentielle d'un bon diurétique (BOSE A. et coll., 2006).

En basant sur toutes ces observations dites, l'effet diurétique de l'extrait « RMN » serait semblable à celle des diurétiques épargneurs de potassium. Il inhiberait les canaux sodée comme amiloride ou s'opposerait à l'action de l'aldostérone comme spironolactone (ODLIND B.O., 1984 ; MOULIN B. et PERALDI M.N., 2016).

Le criblage phytochimique de l'extrait « RMN » a indiqué la présence de tanins, d'alcaloïdes, de polyphénols et de quinones. Cette activité diurétique pourrait être attribuée aux alcaloïdes et/ou aux tanins, comme chez le *Centratherum anthelminticus* (ASTERACEAE) (KOTI B.C. et PURNIMA A., 2008) et le *Rubus idaeus L* (ROSACEAE) (ZHANG Y. et coll., 2011), qui ont tous une propriété diurétique, natriurétique et épargneur potassique grâce à la présence de ces familles chimiques. Mais il est aussi possible que l'activité soit due à une manifestation cumulative d'effet de plusieurs principes actifs dans l'extrait (HALOUI M. et coll., 2000). Cependant, tout cela reste des hypothèses mais en perspective, il est nécessaire de confirmer la ou les molécules responsables de cette activité ainsi que leur mécanisme d'action.

Dans notre présent travail, l'étude de la toxicité aigüe de l'extrait « RMN » chez les souris nous a permis de constater que celui-ci ne tue pas les animaux même à la dose de 2000mg/kg. Cependant, des études toxicologiques approfondies restent à effectuer.

CONCLUSION

V. CONCLUSION

Nos résultats montrent que l'extrait « RMN » administrée par voie orale possède une activité diurétique chez le rat. C'est un natriurétique épargnant l'ion potassium. Cet effet pourrait être attribué aux tannins et/ou aux alcaloïdes qu'il contient.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

ASIF M., ATIF M., MALIK A.S.A., DAN Z.C., AHMAD I., AHMAD A. (2013).
Diuretic activity of *Trianthema portulacastrum* crude extract in Albino Rats.
Trop. J. Pharm. Res., **12**(6) : 967-972.

BALANESCU S., RUTISHAUSER J. (2010).
Diabète insipide: diagnostic différentiel et traitement.
Forum Med. Suisse, **10**(7) : 123-128.

BEAUX D., FLEURENTIN J., MORTIER F. (1999).
Effect of extracts of *Orthosiphon Stamineus* Benth, *Hieracium Pilosella* L., *Sambucus Nigra* L. and *Arctostaphylos uva-ursi* Spreng. in rats.
Phytother. Res., **13**(3): 222-225.

BENJUMEA D., ABDALA S., HERNANDEZ-LUIS F., PEREZ-PAZ P., HERRERA M.D. (2005).
Diuretic activity of *Artemisia thuscula*, an endemic canary species.
J. Ethnopharmacol., **100**: 205-209.

BOSE A., MONDAL S., GUPTA J.K. (2006).
Studies on diuretic and laxative activity of *Cleome rutidosperma* aerial parts.
Pharmacog. Magazine, **2**(7): 178-182.

BRATER D.C. (1998).
Diuretic therapy.
N. Engl. J. Med., **339**(6): 387-95.

CACERES A., GIRON L.M., MARTINEZ M.A. (1987).
Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala.
J. Ethnopharmacol., **19**(3) : 233-245.

DEJARDIN J., GUILLAUMET J.L., MANGENOT G. (1973).
Médecine et pharmacopée traditionnelle à Madagascar.
Ed. DEBRAY M., Candollea. Antananarivo, Madagascar, **28**: 70-82.

FERRARI P., FREY F.J. (2000).
Pharmacologic action of diuretic in the kidney.
Ther. Umsch., **57**(6): 345-350.

FONG H.H.S., TIN-WA M., BARNSWORTH N.R. (1977).
Phytochemical Screening.
Rev. College of Pharmacy, University of Illinois, Chicago (USA), 275-277.

GARABED EKNOYAN (1997).
A history of edema and its management.
Kidney Int. **51**(59): 118-126.

GLITZER M.S., STEELMAN S.L. (1966).
N-Amido-3,5 diamino-6-chloropyrazine carboxamide : an active diuretic in the carboxamide series.
Nature, **212**: 191-193.

HALOUI M., LOUEDEC L., MICHEL J.B., LYOUSSE B. (2000).
Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurea erythraea*.
J. Ethnopharmacol., **71**(3): 465-472.

HAQ I. (2004).
Safety of Medicinal Plants.
Pak. J. Med. Res., **43**(4): 203-210.

HEINZ K., DIELH (2010).
A good practice guide to the administration of substance and removal of blood, including rats and volume.
J. App. Toxicol., **21** : 15-23.

HENRY R.J., CANNON D.C., WINKELMAN J. W. (1974).
Chimie Clinique principes et techniques.
Ed. Harper & Row, New York, 79-80.

HULLATI K., MANJUNATHA J.R., KUPPASTH I.J. (2014).
Comparative study on diuretic effect of *Buchanania angustifolia Roxb.*, and *Buchanania lanzae Spreng.* Fruit extracts and fractions.
J. App. Pharm. Sci., **4**(8): 59-63.

IMBS J.L., GIESEN-CROUSE E.M., WELSCH M. (1986).
Pharmacologie des diurétiques.
Rev. Pract., **36**(55): 3223-3236.

JOHNSON P.B., ABDURAHAM E. M., TIAM E.A., ABDU-AGUYE L., HUSSAINI I.M. (1999).
Euphorbia Hirta Leaf extracts increase urine output and electrolytes in rats.
J. Ethnopharmacol., **65**(1): 63-69.

KALRO O.P., AGGARWAL A. (2012).
Rational use of diuretics and pathophysiology of edema.
Med. Update, **22**: 601-610.

KALABAHRATHI H.L., SHRUTHI S.L., VAIBHAVI P.S., PUSHPA V.H., SATISH A.M., MOHAMMAD S. (2015).
Diuretic activity of ethanolic root extract of *Mimosa pudica* in albino rats.
J. clin. diagnostic res., **9**(12): 5-7.

KAU S.T., KEDDIE J.R., ANDREWS D. (1984).
A method for screening diuretic agents in the rat.
J. Pharmacol. Neth., **11**: 67-75.

KEARNEY P.M., WHELTON M., REYNOLDS K., WHELTON P.K., HE J. (2004). Worldwide prevalence of hypertension: a systematic review.
J. Hypertens., **22**(1): 11-19.

KHATIB R. (2008). Diuretics in heart failure part 1: Pharmacology and mechanisms.
British J. of Cardiac Nursing **3**(7): 310-314.

KOTI B.C., PURNIMA A. (2008). Diuretic activity of extracts of *Centratherum anthelminticum*.
Int. J. of Green Pharmacy, **4**: 228-231.

KRZESINSKI J.M. (1996). Histoire et perspective du traitement par diurétique.
Rev. Med. Liège, **51**(1): 30-34.

LIAM P. (2003). Clinical use of diuretics.
Clin. Med., **3**(5): 517-520.

LIPSCHITZ W.L., HADIDIAN Z., KERPCSAR A. (1943). Bioassay of diuretics.
J. Pharmacol. Exp. Ther., **79**: 97-110.

MAREN T.H. (1977). Use of inhibitors in physiological studies of carbonic anhydrase.
Am. J. Physiol., **232**(4): 291-297.

MARX B., SCUVEE E., SCUVEE-MOREAU J., SEUTIN V., JOURET F. (2016). Mécanisme de l'effet diurétique de la caféine.
Médecine/sciences, **32**: 485-490.

MATERSON B.J. (1983). Insights into intrarenal sites and mechanisms of action of diuretic agents.
Am. Heart J., **106**: 188-208.

MAURIZI B.J., ZAOUI P. (2004). Insuffisance rénale chronique.
Corpus Médical, Faculté de Médecine, Grenoble, 1-6.

MEIER P., BURNIER M. (2002). Place des diurétiques de l'anse dans le traitement de l'hypertension artérielle.
Rev. Med. Suisse, **2**: 22291-98.

MOULIN B., PERALDI M.N. (2016). Néphrologie : les diurétiques.
Ed. Ellipses, 7^{ème} édition, France, chap. IV, itém 264 : 59-68.

- ODLIND B. (1984).
Site and mechanism of the action of diuretics.
Acta Pharmacol. Toxicol., **54**(1): 5-15.
- O.M.S. (2011).
Rapport sur la situation mondiale des maladies non transmissibles 2010.
Organisation Mondiale de la Santé, Genève, 1-11.
- O.M.S. (2013).
Panorama Mondial de l'hypertension: un « tueur silencieux » responsable d'une crise de santé publique mondiale.
Journée mondiale de la santé 2013, Genève, 5-39.
- O.M.S. (2014).
Rapport sur la situation mondiale des maladies non transmissibles.
Organisation Mondiale de la Santé, Genève, 3-12.
- PERNET R., MEYER G. (1957).
Pharmacopée de Madagascar.
Publication de l'Institut de recherche scientifique, Tananarivo, Tsimbazaza, **41** : 63-66.
- PITT B., ZANNAD F., REMME W.J. (1999).
The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure.
N. Engl. J. Med., **341**: 709-717.
- PREISIG P.A., TOTO R.D., ALPERN R.J. (1987).
Inhibiteurs de l'anhydrase carbonique.
Rev. Physiol., **10**: 136-59.
- PUSCHETT J.B. (1994).
Pharmacological classification and renal actions of diuretics.
J. Cardiol., **2**: 4-13.
- RABARIJAONA L.M.P.H., RAKOTOMALALA D.P., RAKOTONIRINA E.C.J., RAKOTOARIMANANA S., RANDRIANASOLO O. (2009).
Prévalence et sévérité de l'hypertension artérielle de l'adulte en milieu urbain à Antananarivo.
Revue d'Anesthésie-réanimation et de Médecine d'urgence, **1**(4) : 24-27.
- REBUELTA M., SAN ROMAN L., SERRANILLOS G.M. (1981).
Etude de l'effet diurétique de différentes préparations de *l'Ononis spinosa* L..
Pl. Med. Phytothér., **15**(2) : 99-108.
- RICHARD C., SAUDAN P., ERNANDEZ T. (2015).
Utilisation des diurétiques : ce que le praticien doit connaître.
Rev. Med. Suisse, **11** : 482-486.
- RIVIERE C., NICOLAS J.P., CARADEC M.L., DESIRE O., SCHMITT A. (2005).
Les plantes médicinales de la région Nord de Madagascar : une approche ethnopharmacologique.
Ed. J.D.M. Dossier spéci., *Madagascar*, **36** : p.46.

SANOGO R., KARADJI A.I., DEMBELE O., DIALLO D. (2009).
Activité diurétique et salidiurétique d'une recette utilisée en Médecine traditionnelle pour le traitement de l'hypertension artérielle.
Mali Medical, **24**(4): 1-6.

SAUDAN P., ZELLWEGER M. (2001).
Utilisation des diurétiques dans les insuffisances rénales aigues, chronique et dans le syndrome néphrotique.
Rev. Med. Suisse, **664**: 3181-3336.

SAYNOK J. (1995).
Pharmacological rationale for the clinical use of caffeine.
Drug, **49**: 37-50.

SCHUTZ K., CARLE R., SCHIEBER A. (2006).
Taraxacum. A review on its phytochemical and pharmacological profile.
J. Ethnopharmacol., **107**: 313-323.

SCHWARTZ D. (1969).
Méthodes statistiques à l'usage des Médecins et Biologistes.
3^{ème} Ed. Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 153-287.

SHENOY J.P., PAI P.G., SHOEB A., GOKUL P., KULKARNI A., KOTIAN M. (2011).
An evaluation of diuretic activity of *Morinda citrifolia* (Linn) (noni) fruit juice in normal rats.
Int. J. Pharm. Sci., **3**(2): 119-121.

SHINWARI Z.K. (2010).
Medicinal Plants research in Pakistan.
J. Med. Plants Res., **4**(3): 161-176.

SHREE-DEVI M.S. (2011).
Acute toxicity and diuretic activity of *Mangifera indica L.* bark extracts.
Int. J. of Pharma. & Bio. Sci., **2**(3): 141-146.

TATAW J., SAUDAN P. (2011).
Diuretics en acute renal injury: useful or harmful?
Rev. Med. Suisse, **7**(281): 501-504.

TEWES J., TOTO R.D. (2007).
Epithelial sodium channel inhibition in cardiovascular disease. A potential role for amiloride.
J. Hypertens., **20**(1): 109-117.

TORRES V.E., CHAPMAN A.B., DEVUEST O., GANSEVOORT R.T., GRANTHAM J.J., HIGASHIHARA E., PERRONE R.D., KRASA H.B., OUYANG J., CZERWIEC F.C. (2012).
Tolvaptan in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease.
N. Engl. J. Med., **367**: 2407-18.

VAZIR A., COWIE M.R. (2016).
Decongestion: diuretics and other therapies for hospitalized heart failure.
Indian Heart J., **68**: 561-568.

VISHAL B. (2012).
Study of medicinal plants in individual.
Int. J. Re. Pharm. Bio. Sci., **3**: 1432-1435.

ZEIDEL M.L. (1993).
Hormonal regulation of inner medullary collecting duct sodium transport.
J. Physiol. Renal. Physiol., **265**: 159-173.

ZHANG Y., ZHANG Z., YANG Y., XIAOYAN Z., GUAN D., WANG Y. (2011).
Diuretic activity of *Rubus idaeus L.* (ROSACEAE) in rats.
Trop. J. of Pharm. Res., **10**(3): 243-248.

ETUDE DE L'ACTIVITE DIURETIQUE DE L'EXTRAIT « RMN » CHEZ LE RAT

Auteur : RAMANANTSIALONINA Mirana Nantenaina
Adresse: III i 17 Ankadimbahoaka Soanierana (Tana 101)
Rapporteur: Docteur RAKOTOARISON Olivier

Laboratoire : laboratoire de pharmacodynamie
Domaine des Sciences et Technologies
UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

RESUME

L'objectif de ce travail était d'étudier l'activité diurétique de l'extrait « RMN » administré par voie orale chez le rat.

La diurèse, ainsi que la natriurie, la kaliurie, et le pH ont été mesurés. L'administration de l'extrait RMN (25, 50 et 75 mg/Kg) augmente respectivement la diurèse de $5,56 \pm 0,60$; $8,83 \pm 0,41$ et $11,73 \pm 0,75$ ml chez les traités, alors qu'elle est de $3,73 \pm 0,51$ ml chez les témoins ($P < 0,05$). Et il augmente aussi la natriurie de $70,70 \pm 7,59$ mmol/l pour le lot témoin à $95,80 \pm 5,50$; $113,83 \pm 6,29$ et $129,76 \pm 4,37$ mmol/l chez les lots traités aux doses respectives de 25, 50, 75 mg/kg ($P < 0,05$). Tandis que la kaliurie est égal à $75,70 \pm 5,19$ mmol/l chez le lot témoin contre $68,6 \pm 2,26$; $62,96 \pm 3,01$ et $59,3 \pm 3,23$ mmol/l chez les lots traités ($P < 0,05$). L'extrait n'est pas toxique aux doses testées. Il possède donc une activité diurétique, à la fois natriurétique et épargneur potassique. L'effet diurétique de l'extrait serait dû aux alcaloïdes et aux tanins.

Mots clés: diurétique, natriurétique, épargneur potassique, rat.

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the diuretic activity of extract “RMN” in the rat, administrated by oral route.

The diuresis, the natriuresis, the kaliuresis and the urinary pH had been measured. Administration of the extract RMN with different doses (25, 50 and 75 mg/Kg) increases the diuresis from 5.56 ± 0.60 ; 8.83 ± 0.41 and 11.73 ± 0.75 ml for the treated groups and 3.73 ± 0.51 ml for the control group ($P < 0.05$). The extract RMN also increases natriuria. Natiuria was 70.70 ± 7.59 mmol/l for the control animals versus 95.80 ± 5.50 ; 113.83 ± 6.29 and 129.76 ± 4.37 mmol/l for the animals treated with extract at doses 25, 50 and 75 mg/kg respectively ($P < 0.05$). While, the extract “RMN” decreased kaliuria. The kaliuria for the control animals is 75.70 ± 5.19 mmol/l versus 68.6 ± 2.26 ; 62.96 ± 3.01 and 59.3 ± 3.23 mmol/l for the animals treated with the extract at doses 25, 50, 75 mg/kg respectively ($P < 0.05$). In the toxicology study, extract wasn't toxic with the doses tested. The results show that the extract RMN possesses diuretic activity, it' is a natriuretic and sparing potassium. The diuretic effect of the extract would be due to alkaloids and the tannins.

Key words: diuretic, natriuretic, potassium-sparing, rat.