

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	I
LISTE DES TABLEAUX	II
LISTE DES FIGURES	III
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS	IV
I. INTRODUCTION	1
II. MATERIELS ET METHODES	4
A) ETUDE PHYTOCHIMIQUE	4
1° Préparation de l'extrait	4
2° Criblage phytochimique	4
B) TESTS BIOLOGIQUES	6
1° Préparation des animaux.....	6
2° Tests pharmacologiques	6
a) Étude de l'effet de l'extrait 004H chez la souris face à la peur du vide.....	6
b) Étude de l'effet de l'extrait 004H sur l'évitement de la zone centrale claire des souris placées dans un espace ouvert.....	8
c) Étude de l'effet de l'extrait 004H sur le comportement enfouisseur des souris	9
III. RESULTATS	11
A) PARTIE CHIMIQUE.....	11
1. Rendement de l'extraction	11
2. Résultats du criblage phytochimique	11
B) PARTIE BIOLOGIQUE.....	12
1° Effet de l'extrait 004H sur la peur du vide des souris	12
2° Effet de l'extrait 004H sur l'évitement de la zone central claire de l'espace ouvert.....	13
3° Effet de l'extrait 004H sur le comportement enfouisseur des souris.....	14
IV. DISCUSSION	15
V. CONCLUSION	18
BIBLIOGRAPHIES	19

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Méthode utilisée lors du criblage phytochimique (IGAN C. 1982).5

Tableau II: Les grandes familles chimiques présentes dans l'extrait 004H 11

Rapport-gratuit.com 
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Dispositif montrant une souris placée dans le labyrinthe en croix pour le test de la peur du vide	7
Figure 2: Souris placée dans le dispositif de l'espace ouvert pendant le test sur l'évitement de la zone central claire.	9
Figure 3: Dispositif expérimental contenant 20 billes placées sur la litière avant le test d'enfouissement.....	10
Figure 4: Une souris qui enfouie une bille pendant le test d'enfouissement.....	10
Figure 5: Effet de l'extrait 004H administré par voie orale sur la durée de passage dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevée comparé au témoin (Moyenne \pm e.t.; n=3 ; p<0,05).....	12
Figure 6: Effet de l'extrait 004H administré par voie orale sur la durée de passage dans la zone centrale claire comparé au témoin (Moyenne \pm e.t.; n=3 ; p<0,05).....	13
Figure 7: Effet de l'extrait 004H administré par voie orale sur le nombre de billes enfouies sous la litière par les souris, comparé avec le lot témoin (Moyenne \pm e .t. ; n=3 ; p<0,05).....	14

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ACTH : Adreno Cortico Tropin Hormone

ATV : Aire tegmentaire ventrale

°C: Degré Celsius

Cl: Ion chlorure

cm: Centimètre

CRF: Corticotrophin Releasing Factor

e.t.: Ecart type

g : Gramme

GABA : Acide Gamma Amino Butyrique

ISRS : Inhibiteurs Sélectifs de la Recapture de la Sérotonine

ISRN : Inhibiteurs Sélectifs de la recapture de la Noradrénaline

\bar{m} : Moyenne

mg/kg : Milligrammes par kilos

ml/kg : Millilitres par kilos

n : Nombre des souris par lot

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

p : Degré de signification

% : Pourcent



INTRODUCTION



I. INTRODUCTION

Les troubles anxieux constituent le problème de santé mentale le plus fréquent dans le monde. Chaque année environ 8 à 15 % de la population adulte est atteinte de ce problème, et une personne sur quatre présente un trouble anxieux au cours de sa vie. Le trouble anxieux affecte le plus souvent les femmes âgées de 20 à 30 ans. Au cours de l'année 2011, près de 45 millions de boîtes de médicaments anxiolytiques ont été prescrites dans le monde (American Psychiatric Association, 2011).

L'anxiété est une réaction physiologique de l'organisme à chaque fois qu'on traverse une situation inhabituelle ou lorsqu'on ne se sent pas en sécurité (HODGE et coll., 2002). C'est un sentiment d'inquiétude, d'insécurité, de trouble physique ou psychique, d'attente d'un danger indéterminé qui se traduit par des troubles du corps et de la conscience avec une sensation de malaise intérieure, l'impression de perdre la raison ou de mourir. L'anxiété peut aussi provoquer des problèmes cardiovasculaires (palpitations), respiratoires (dyspnée), digestifs (spasmes gastriques ou intestinale) et génito-urinaires (douleur pelvienne, inhibition sexuelle). Des signes neurologiques apparaissent également, comme des vertiges, maux de tête, troubles du sommeil, difficultés de concentration, problèmes de mémoire, une dépersonnalisation, sensation d'irréalité... (BESANÇON G., 1993).

L'anxiété passagère justifiée par des causes réelles est considérée comme normale et sans conséquence, mais sa fréquence ou sa persistance pathologique entraîne un trouble anxieux. La cause de ce trouble n'est autre qu'un déséquilibre au niveau du système GABA, un système inhibiteur et le système noradrénergique, le système sérotoninergique qui sont des excitateurs cérébraux (GOLAPA et coll., 2006). Il existe deux types de neurotransmetteurs : les neurotransmetteurs excitateurs et les neurotransmetteurs inhibiteurs. La sérotonine, la noradrénaline, la dopamine sont des neurotransmetteurs excitateurs qui accélèrent la propagation de l'influx nerveux, elles se trouvent en quantité élevée lors d'un trouble anxieux. Tandis que le GABA qui est en déficit fonctionnel, fait partie des neurotransmetteurs inhibiteurs, il ralentit la transmission du message nerveux et évite une hyperactivité neuronale. Le GABA provoque l'ouverture du canal chlorure, ce qui entraîne une hyperpolarisation de la membrane d'où l'inhibition de l'activité cellulaire.

Lors d'un stress ou face à une situation anxiogène, l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien est activé chez tous les animaux. Il en résulte une libération accrue de CRF hypothalamique suivie par celle d'ACTH hypophysaire et de corticostérone à partir des glandes surrénales. La

corticostérone exerce un rétrocontrôle négatif sur l'hippocampe, l'hypothalamus et l'hypophyse. D'autres systèmes neuronaux sont perturbés, la fixation des GABA avec ses récepteurs diminue, les neurones sérotoninergiques libèrent de la sérotonine dans la zone synaptique, de la noradrénaline stockée dans les granules de stockage est libérée par les neurones adrénergiques post-ganglionnaires, ce qui explique l'origine de l'anxiété. Cette trouble se traduit par la peur, l'évitement, l'enfouissement des objets considérés comme dangereux...

Les anxiolytiques sont utilisés pour réduire ou supprimer l'anxiété, ils appartiennent à la famille des tranquillisants mineurs ou sédatifs, c'est-à-dire des calmants. Un produit anxiolytique agit soit en favorisant l'effet du GABA sur ses récepteurs (WHITE S. et NEUMAN R., 1980), ou soit encore en inhibant le recaptage de la noradrénaline et surtout les sérotonines par les terminaisons neuronales pour qu'il y a moins de neurone stimulé (HOYER et coll., 2002).

Les principaux groupes d'anxiolytiques utilisés pour traiter les troubles anxieux sont les Benzodiazépines, les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine (ISRS) tel que la Fluoxétine (Prozac®), la Paroxétine (Déroxat®), la Bupirone (Buspar®) et les inhibiteurs de la recapture de la noradrénaline (ISRN) comme la Venlafaxine (Effexor®) (BOURIN M. et BAKER G. B., 1996).

Par contre, les Benzodiazépines, comme Alprazolam (Xanax®), Bromazépam (Lexomil®), Clorazépate (Tranxène®), Diazépam (Valium®)...agissent en potentialisant l'activité du GABA en ouvrant le canal chlorure. (LANGEN B. et coll., 2005).

Selon l'OMS en 2007, 70% de la population mondiale ont recours à la médecine traditionnelle pour résoudre leurs problèmes de santé. D'après les enquêtes et les données de la littérature, nombreuses sont les plantes utilisées dans le monde pour traiter les troubles anxieux: la passiflore ou *Passiflora incarnata* L. (PASSIFLORACEAE) qui est traditionnellement utilisée dans le traitement des états anxieux ; dans les troubles émotifs et les troubles du comportement chez l'enfant, la racine de jatamansi ou *Nardostachys jatamansi*, les rhizomes du kawa ou *Piper methysticum* Forst (PIPERACEAE), les organes souterrains de la valériane ou *Valeriana Officinalis* (VALERIANACEAE), les parties aériennes du coquelicot ou *Papaver rhoes* L.(PAPAVERACEAE), les fleurs et feuilles des orangers ou *Citrus aurantium* var. amara Risso (RUTACEAE)...(BEZANGER et coll., 1980).

À Madagascar, de nombreuses plantes sont conseillées par les tradipraticiens dans le cas de troubles comportementaux, d'une peur persistante, ou lors d'un trouble psychique chez les enfants ou « *zaza taitaitra* ». Comme la décoction des feuilles et des tiges de cactus ou *Cactus Opuntia* (CACTEAE) ; de « ramitampina, ramatsatso » ou *Phothos scandens* L. (ARACEES); la décoction des feuilles de « *Voakanga* » ou *Voacanga thouarsii* (APOCYNACEAE) ; le tamarinier « madilo » ou *Tamarindus indica* L. (CESALPINIACEES)... (RABESA A. et coll., 1986).

D'après les enquêtes ethnobotaniques que nous avons effectuées dans la région d'Andasibe lors de nos voyages d'études, la tige de la plante codée 004H est indiquée pour traiter une peur indéterminée chez l'enfant ou « *zaza taitaitra* ». Cette maladie se manifeste par des agitations diurnes ou nocturnes, suivies d'une fièvre et d'une fatigue chez l'enfant. Cette indication signifie qu'elle agirait sur l'état mental de l'enfant. En comparant les signes des troubles anxieux avec les manifestations de cette maladie appelée « *zaza taitaitra* », il est probable qu'il s'agit d'une anxiété, ce qui nous a incités à étudier les effets anxiolytiques de cette plante.

Plusieurs tests sont disponibles pour évaluer l'effet anxiolytique d'un produit. D'une façon générale, ces tests consistent à confronter l'animal à une situation nouvelle qui leur est anxiogène et provoque des réponses comportementales non conditionnées (HATA T. et coll., 2001). Les études de l'activité anxiolytique de l'extrait 004H ont été effectuées *in vivo* chez les souris en utilisant le labyrinthe en croix surélevé ou « *elevated plus maze* » ; le test de l'espace ouvert ou « *open field* » et enfin le test d'enfouissement ou « *Marble burying* »



MATERIELS

ET

METHODES



II. MATERIELS ET METHODES

A) ETUDE PHYTOCHIMIQUE

1° Préparation de l'extrait

Les tiges de la plante codée 004H appartenant à la famille des RUTACEAE ont été récoltées dans la région d'Analamanga au mois de Novembre 2014. Après séchage à l'ombre dans une salle aérée pendant 3 semaines, elles ont été broyées à l'aide d'un broyeur à marteau et réduites en poudre.

La poudre a été macérée dans un mélange Ethanol-eau (60 :40) pendant 72 heures à la température ambiante. Le macérât a ensuite été filtré sur un papier filtre de marque WATMAN®, et le filtrat a été évaporé à sec sous vide à la température de 80°C à l'aide d'un ROTAVAPOR de marque EVAPOTEC. L'extrait sec ainsi obtenu a été pesé puis le rendement de l'extraction a été calculé suivant la formule :

$$R(\%) = \frac{\text{Poids de l'extrait hydroalcoolique}}{\text{Poids de la poudre initiale à macérer}} \times 100$$

2° Criblage phytochimique

Un criblage phytochimique a été effectué sur l'extrait 004H pour déterminer les familles chimiques qu'il contient. Ce criblage est basé sur une réaction de précipitation (ou formation de complexes insolubles), ou une réaction de coloration (ou formation de complexes colorés), en utilisant des réactifs spécifiques pour chaque famille chimique (Tableau I) (IGAN C. 1982).

Pour quantifier les familles chimiques présentes dans l'extrait, la convention suivante a été utilisée :

- (-) absence
- (+) présence à teneur très faible
- (++) présence à teneur moyenne
- (+++) présence à forte teneur

Tableau I: Méthode utilisée lors du criblage phytochimique (IGAN C. 1982).

Familles chimiques	Tests	Réactifs	Observation
ALCALOÏDES		DRAGENDORFF	Précipitation
TANINS		Gélatine + NaCl	Précipitation verte
		Gélatine + FeCl ₃ MeOH	Précipitation Bleue
COMPOSES PHENOLIQUES		Gélatine 1%	Précipitation
STEROIDES ET TRITERPENES	LIEBERMAN BURCHARD	Anhydride acétique + H ₂ (SO ₄)	Coloration violet
	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	Coloration rouge
POLYSACCHARIDES		+ 3V éthanol	Trouble
SUCRE REDUCTEURS		Liqueur de Fehling	Bain-marie : précipitation rouge brique
SUCRES RARES	PESEZ	Xanthydrol	Coloration rouge
COUMARINES		NaOH 10%	Fluorescence à l'UV
SAPONINES	MOUSSE	Agitation + HCl	Persistance d'une mousse (3cm d'épaisseur) 30mn après l'agitation

B) TESTS BIOLOGIQUES

Le but de ce travail est d'étudier l'effet de l'extrait 004H chez la souris. Trois tests ont été utilisés: le test dans le labyrinthe en croix surélevé pour étudier l'effet de l'extrait 004H sur la peur du vide de l'animal représenté par les bras ouverts du labyrinthe (HANDLEY S. et MITHANI S., 1984); puis le test dans l'espace ouvert pour étudier son effet sur l'évitement de la zone centrale claire (HALL C. S. , 1930) et enfin le test d'enfouissement pour étudier l'effet de l'extrait sur le comportement enfouisseur des souris (PINEL J. et TREIT D., 1978).

1° Préparation des animaux

Des souris Swiss mâles âgés de 7 à 9 semaines, élevées dans l'animalerie du Laboratoire de Pharmacologie Générale et de Pharmacocinétique de la Faculté de Sciences, pesant entre 18 à 27g ont été utilisées. Elles ont été mis à jeun 12 heures avant l'expérience, mais ont eu un accès libre à l'eau (HELLION-IBARROLA M. et coll., 2006). Elles ont été réparties en quatre lots composé de trois souris par lot : un lot témoin, un lot de référence et deux lots traités avec l'extrait à dose différente. Le lot témoin a reçu de l'eau distillée, le lot de référence du Diazépam[®] à la dose de 2mg/kg, et les 2 lots restants ont reçu respectivement l'extrait 004H à la dose de 150 et 300 mg/kg. L'extrait 004H et le produit de référence ont été dissouts dans l'eau distillée et ont été administrés par voie orale, dans un volume de 10 ml/kg (KIRBY L.G. et LUCKI I., 1997).

Trente minute après l'administration de ces produits, les souris ont été placées une à une dans le dispositif expérimental et leurs comportements ont été observés pendant 5 minutes.

2° Tests pharmacologiques

a) Étude de l'effet de l'extrait 004H chez la souris face à la peur du vide

Le labyrinthe en croix surélevé a été choisi pour mesurer l'anxiété chez les rongeurs (LISTER, 1987). Il est fabriqué en bois, constitué de quatre bras dont deux bras fermés (35×5×15cm) croisé à deux bras ouverts (35×5cm) qui se situe à 40 cm de haut au-dessus du sol (HATA T. et coll., 2001 ; TAMBOUR S. et coll., 2005) (figure 1). Les deux bras ouverts du labyrinthe représentent le vide ainsi que la hauteur du dispositif sont des facteurs anxiogènes pour les souris, alors que les bras fermés leur représentent la sécurité (CRUZ. et coll., 1994). Une souris anxieuse passera moins de temps dans les bras ouverts (LISTER, 1987).

Trente minutes après l'administration des différents produits, la durée de passage des animaux dans les bras ouverts du labyrinthe ont été enregistrés pendant 5 minutes. L'animal a été considéré comme ayant effectué une entrée dans un bras lorsque ses quatre pattes ont pénétrées dans cette partie (DURASAMI R. et coll., 2008).

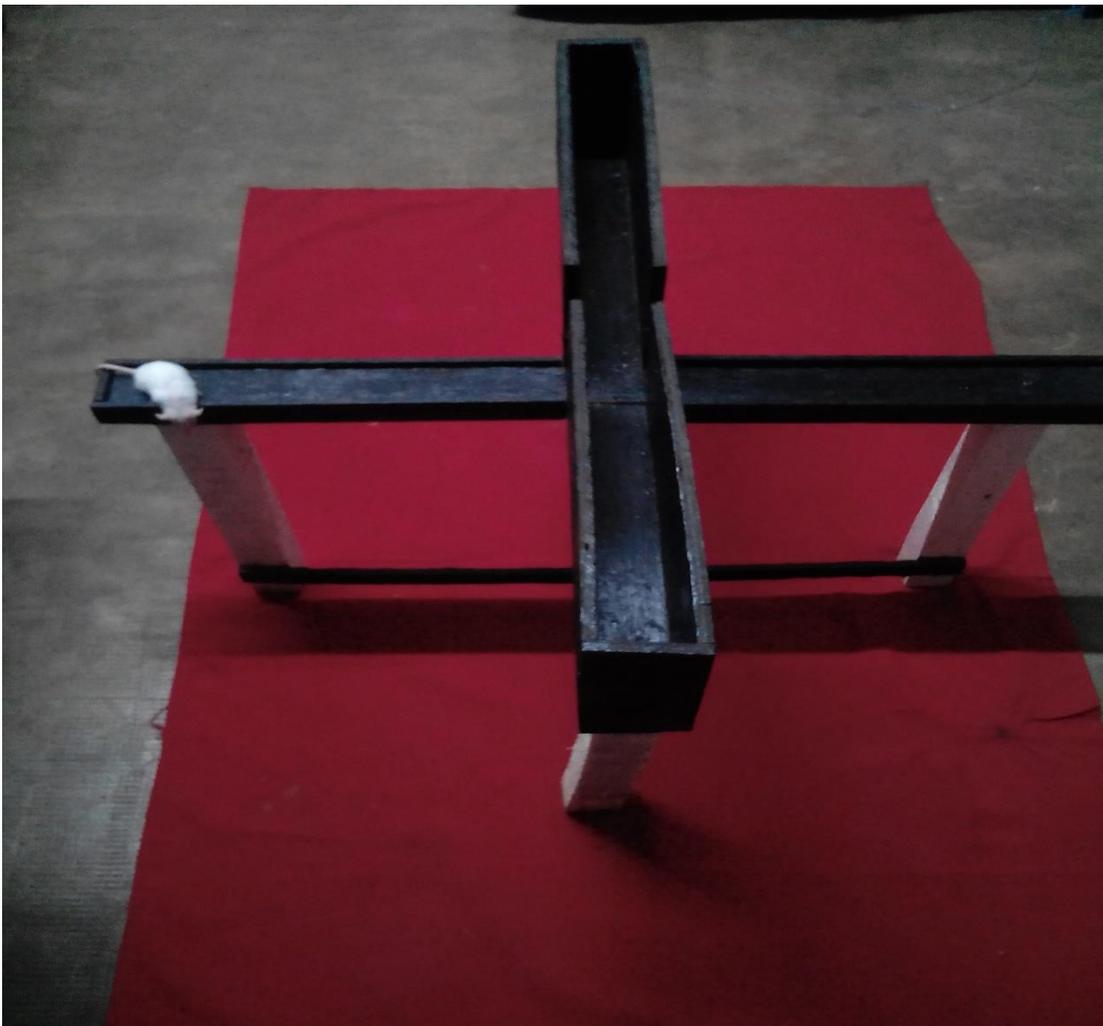


Figure 1: Dispositif montrant une souris placée dans le labyrinthe en croix pour le test de la peur du vide

b) Étude de l'effet de l'extrait 004H sur l'évitement de la zone centrale claire des souris placées dans un espace ouvert

L'espace ouvert et clair est anxiogène pour la souris (HALL C.S., 1930). Ce test crée un conflit entre l'envie naturelle d'explorer des souris et ses évitements des espaces ouverts en plus il s'agit d'une zone claire (PELLOW et coll. 1985).

Le dispositif expérimental est une enceinte transparente de (30x30cmx30cm), avec une zone centrale claire et une zone périphérique sombre qui représente une zone de refuge pour les animaux (figure 2). Une souris anxieuse évite le centre du dispositif, et reste près des murs (FLORIO C. et coll., 1998). Le temps de passage dans la zone centrale permet de mesurer le niveau de l'anxiété de l'animal (BOURIN M. et HASCOET M., 2003).

Trente minutes après l'administration des différents produits, la souris a été laissée au centre du dispositif pendant 5 minutes. La souris a été considérée faire une exploration lorsqu'elle passe dans la zone centrale. La durée de son passage dans cette zone centrale a été enregistrée.

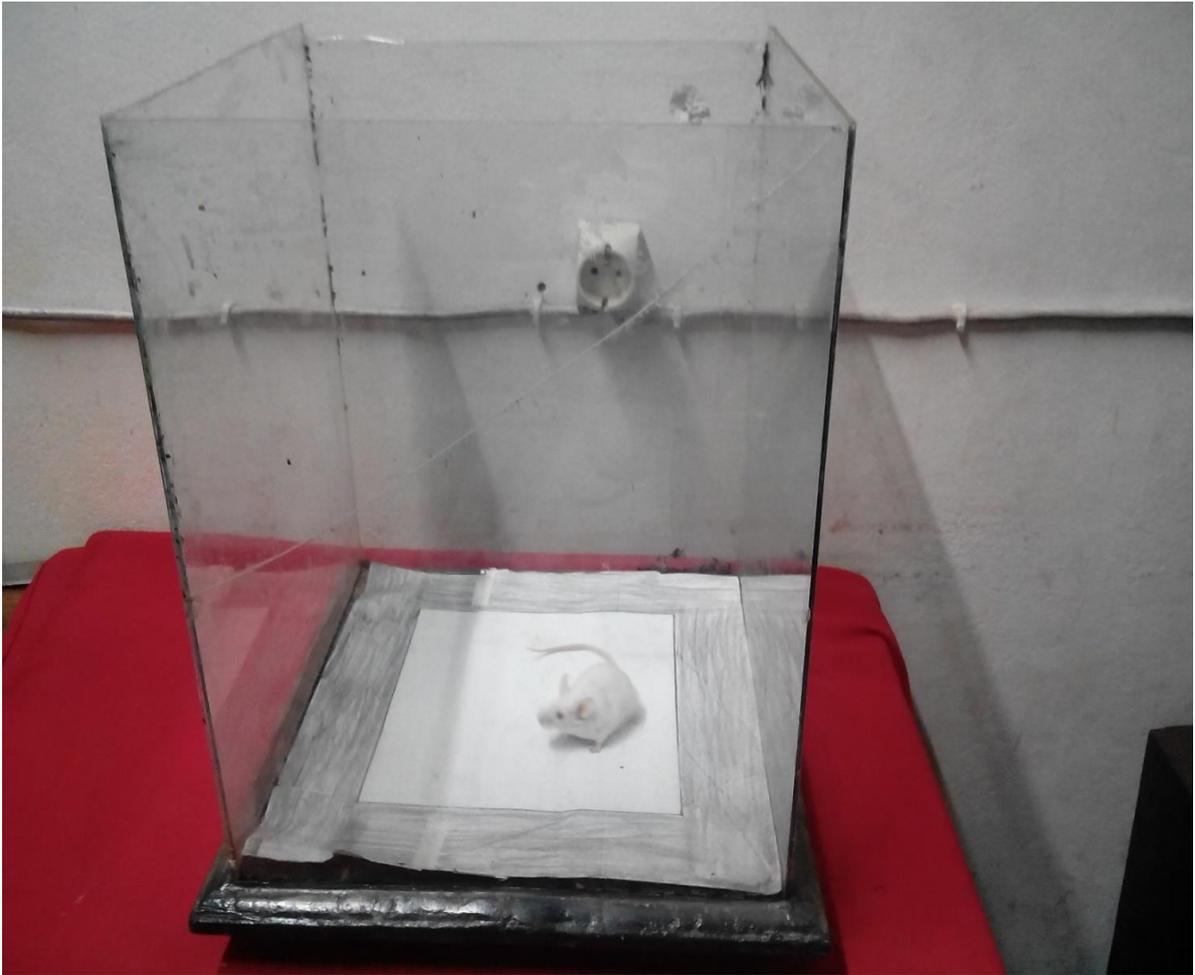


Figure 2: Souris placée dans le dispositif de l'espace ouvert pendant le test sur l'évitement de la zone central claire.

c) Étude de l'effet de l'extrait 004H sur le comportement enfouisseur des souris

Le test d'enfouissement consiste à compter le nombre de billes que chaque souris enfouie sous la litière pour pouvoir étudier son comportement, car l'enfouissement est un indice d'anxiété. (SHIMAZAKI T., IJIMA M., CHAKI S., 2004). Dans ce test, vingt billes ont été placées sur la litière dans une boîte fabriquée avec du plexiglas de (30x30x30cm), le fond de la boîte a été recouvert d'une épaisse couche de litière de 5cm de hauteur (figure 3). La souris perçoit ces billes comme des dangers, c'est pour cette raison qu'elle les enfouie sous la litière (PINEL J.P. et TREIT D., 1978). Le comportement des souris vis-à-vis de ces billes a été observé pendant 5 minutes, et le nombre de billes enfouie par la souris a été compté (GYERTYAN I., 1995). Une souris est considérée comme anxieuse quand elle enfouit beaucoup plus de billes (NJUNG'E K., HANDLEY S.L., 1991) (figure 4).



Figure 3 : Dispositif expérimental contenant 20 billes placées sur la litière avant le test d'enfouissement.



Figure 4 : Une souris qui enfouie une bille pendant le test d'enfouissement.



RESULTATS



III. RESULTATS

A) PARTIE CHIMIQUE

1. Rendement de l'extraction

Après l'évaporation à sec du filtrat hydro alcoolique obtenu à partir de 300 g de la poudre de tiges macérée dans un mélange éthanol-eau (60 :40) ; 18 g d'extrait sec ont été obtenus, ce qui donne un rendement de 6%.

2. Résultats du criblage phytochimique

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait 004H révèle la présence d'une forte teneur en tanins galliques, une teneur moyenne en alcaloïdes et stéroïdes, tandis que les stérols insaturés, les polyphénols, et les flavonoïdes sont présents en faible teneur (Tableau II).

Tableau II: Les grandes familles chimiques présentes dans l'extrait 004H

FAMILLES CHIMIQUES	TENEUR RELATIVE
TANINS GALLIQUES	+++
ALCALOIDES	++
STEROIDES	++
STEROL INSATURE	+
POLYPHENOLS	+
FLAVONOIDES	+

B) PARTIE BIOLOGIQUE

1° Effet de l'extrait 004H sur la peur du vide des souris

L'administration par voie orale de l'extrait 004H augmente le temps de passage des souris dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé par rapport aux souris du lot témoin. Durant les cinq minutes d'observation, les souris du lot témoin passent $50 \pm 2,53$ secondes dans les bras ouverts, tandis que les souris du lot traité avec l'extrait 004H aux doses de 150 et 300 mg/kg passent de $115,6 \pm 9,1$ à $167,6 \pm 21,5$ secondes dans les bras ouverts, contre $161,3 \pm 31,1$ secondes chez les souris traitées avec le diazépam à 2 mg/kg ($p < 0,05$) (Figure 05). Cette augmentation de la durée de passage dans les bras ouverts du labyrinthe surélevée signifie que l'extrait 004H réduit la peur du vide des animaux.

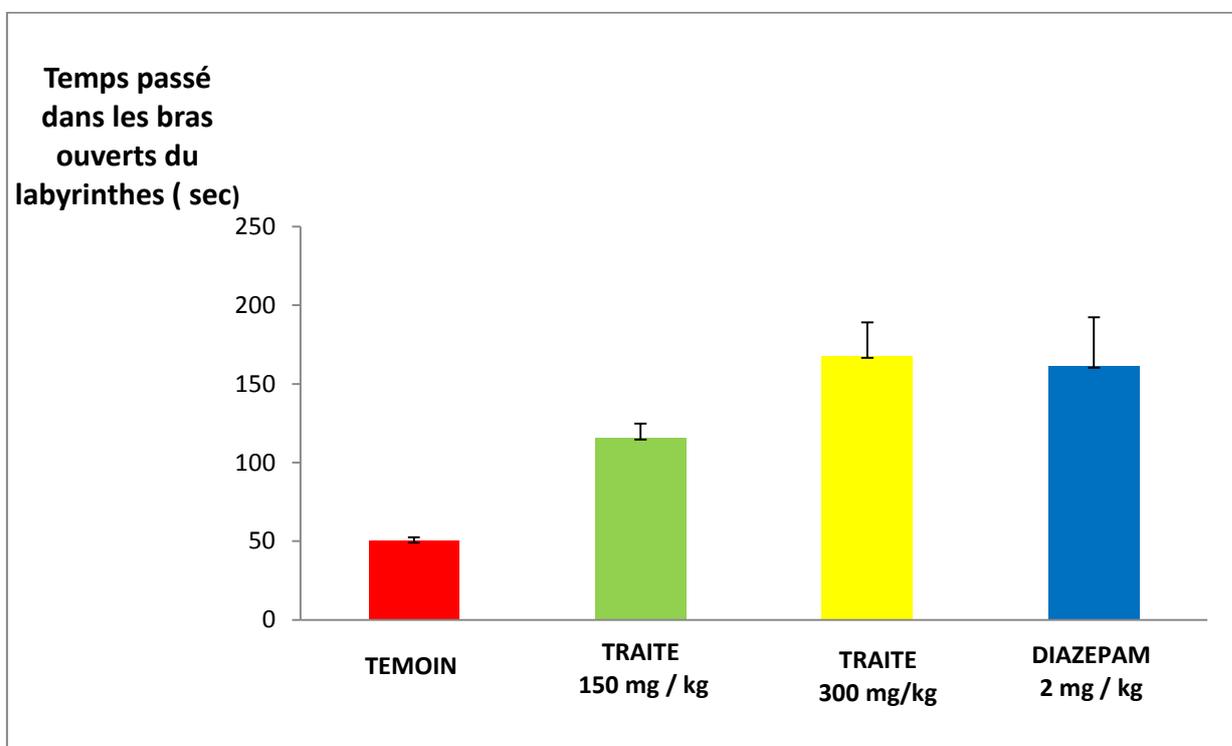


Figure 5 : Effet de l'extrait 004H administré par voie orale sur la durée de passage dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevée comparé au témoin (Moyenne \pm e.t.; $n=3$; $p < 0,05$).

2° Effet de l'extrait 004H sur l'évitement de la zone central claire de l'espace ouvert

Les souris des lots traités par l'extrait 004H administré par voie orale passent plus de temps dans la zone centrale par rapport aux souris du lot témoin. Les souris du lot témoin ne passent que de $58 \pm 3,6$ secondes dans la zone centrale. Par contre, ce temps est égale $138,6 \pm 5,5$ et $177,6 \pm 18$ secondes chez les lots traités avec l'extrait 004H aux doses respectives de 150 et 300 mg/kg. Pour les souris du lot traité avec le Diazépam à 2 mg/kg, elles restent $237,3 \pm 38,2$ secondes dans la zone centrale avec un $p < 0,05$ (Figure 6). Cette augmentation du temps passé dans la zone centrale indique une diminution de l'évitement des espaces ouverts, ce qui signifie que les souris sont moins anxieuses, et que l'extrait 004H diminue son état d'anxiété.

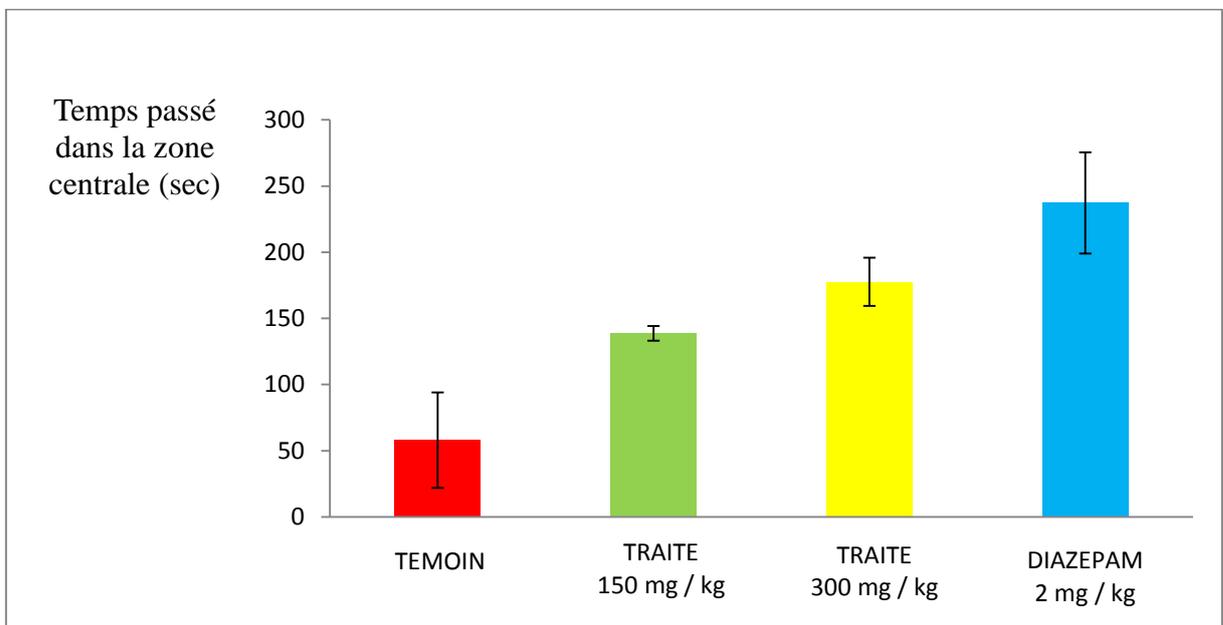


Figure 6 : Effet de l'extrait 004H administré par voie orale sur la durée de passage dans la zone centrale claire comparé au témoin (Moyenne \pm e.t. ; n=3 ; $p < 0,05$).

3° Effet de l'extrait 004H sur le comportement enfouisseur des souris

Les souris qui ont reçu l'extrait 004H par voie orale, enfouissent moins de billes sous la litière par rapport aux souris du lot témoin. Les souris du lot témoin enfouissent $7,6 \pm 0,8$ billes contre $4,6 \pm 0,4$ et $4,3 \pm 0,4$ billes pour les souris traitées avec l'extrait 004H aux doses de 150 et 300mg/kg ($p < 0,05$). Tandis que les souris traitées avec le Diazépam® (2 mg/kg) n'enfouie que 3 billes au cours de l'observation (Figure 7). Cette diminution du nombre de billes enfouie par les souris traitées signifie que les souris ne perçoivent plus les billes comme un danger. L'extrait 004H diminue la peur de l'animal et améliore son comportement enfouisseur.

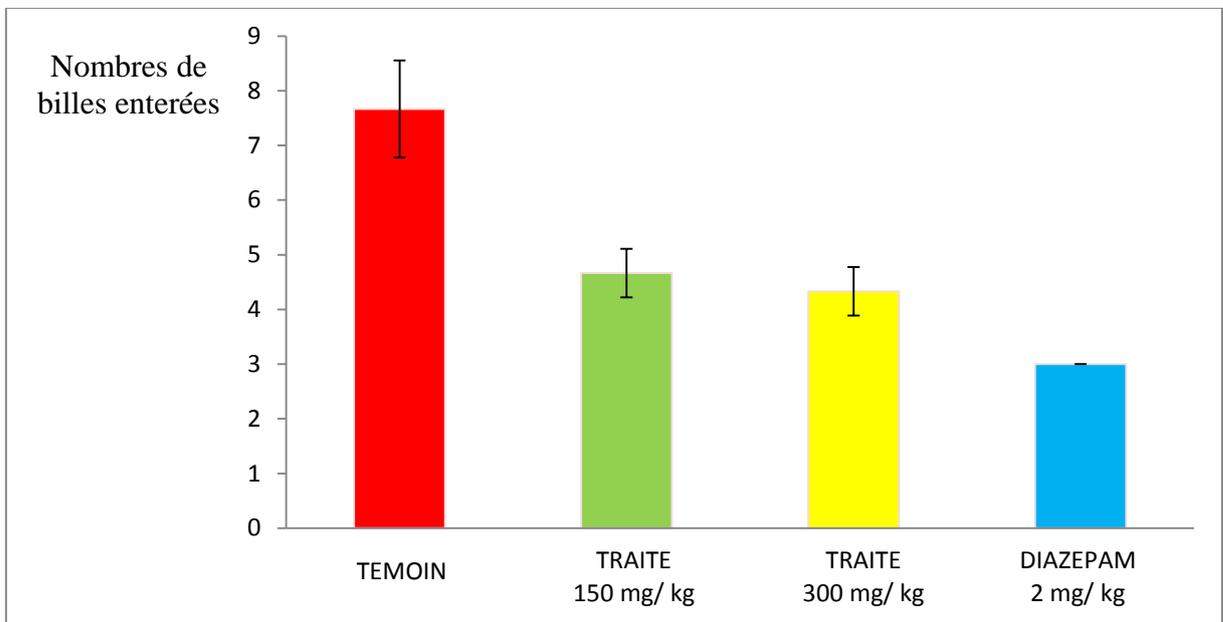


Figure 7: Effet de l'extrait 004H administré par voie orale sur le nombre de billes enfouies sous la litière par les souris, comparé avec le lot témoin (Moyenne \pm e .t. ; n=3 ; $p<0,05$)



DISCUSSION



IV. DISCUSSION

Le but de ce travail a été d'étudier l'activité anxiolytique de l'extrait 004H utilisé dans la région d'Andasibe dans le traitement des enfants qui présentent des agitations diurnes ou nocturnes, suivies d'une fièvre et d'une fatigue sous le nom de « *zaza taitaitra* » localement.

D'après nos résultats, l'administration de l'extrait 004H par voie orale chez la souris réduit sa peur du vide lors du test effectué avec le labyrinthe en croix, il diminue aussi son évitement des espaces ouverts lors du test effectué dans un espace ouvert et enfin il améliore le comportement enfouisseur des souris lors du test d'enfouissement.

En 1958, MONTGOMERY K. C. a décrit l'aversion des rongeurs pour les espaces vides et la hauteur qui leur sont anxiogènes. Sur cette base, HANDLEY S. L. et MITHANI S. en 1984 ont développé le labyrinthe en croix surélevé comme un dispositif de mesure de l'anxiété chez les rongeurs. Le principe du test avec le labyrinthe en croix surélevé repose sur l'envie d'explorer le nouvel environnement mais il y a la peur du vide. Le vide représenté par les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé fait peur aux souris (RODGERS et DALVI, 1997). En 2006 SANTOS K. et ses collaborateurs ont utilisé le labyrinthe en croix surélevé pour étudier l'activité anxiolytique de *Passiflora actinia* (PASSIFLORACEAE), RIEDEL W. et ses collaborateurs en 1998 ont aussi utilisé le même test pour étudier l'activité anxiolytique de l'extrait de *Valeriana officinalis* (VALERIANACEAE). Ils ont trouvé que ses extraits augmentent la durée de passage des souris dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé. Ils ont conclu que cette augmentation signifie une diminution de la peur du vide de l'animal c'est-à-dire une baisse de son état d'anxiété. Comme l'extrait 004H a également augmenté la durée de passage des souris dans les bras ouverts, nous pouvons dire qu'il diminuerait aussi l'anxiété des souris.

D'autre part, le test dans un espace ouvert a été développé dans le but de mesurer les réactivités émotionnelles chez les rongeurs (HALL C. S., 1930). Ce test montre le conflit approche / évitement chez la souris : l'approche ou l'exploration se traduit par le passage de la souris dans la zone centrale et l'évitement se traduit par son immobilité ou son refus dans la zone sombre près du mur de l'enceinte. L'augmentation du temps de passage dans la zone centrale indique une diminution de l'évitement des espaces ouverts. Cette exploration de la zone ouverte est un facteur qui montre que la souris n'est plus anxieuse (BOURIN M. et HASCOET M., 2003). FLORIO C. et ses collaborateurs en 1998, ont effectués ce test, ils ont

trouvés aussi le même résultat présent et ont conclues que son produit possède une activité anxiolytique.

Enfin, le test d'enfouissement est basé sur la tendance innée des rongeurs à enfouir tout objet perçu comme dangereux en la projetant sous la litière, c'est pour cela qu'il est utilisé pour étudier l'activité anxiolytique d'un produit (PINEL J.P. et TREIT D., 1978). Ce modèle a été déjà validé pharmacologiquement pour tester un produit anxiolytique comme la Paroxetine (Déroxat ®) (SHINOMIYA K., 2005), l'extrait d' *Hypericum perforatum* (SKALISZ L.L. et coll., 2004) et beaucoup d'autres (LI X. et coll., 2006).

Chez le lot témoin, la présence des billes sur la litière leur fourni une sensation inquiétante, insécurisant car elles perçoivent ces billes comme des objets dangereux (ARCHER T., 1987). Ces signes du trouble anxieux ont été observés par leur agitation dans tous les sens dès qu'on la mise dans le dispositif. Après quelques minutes, ces souris ont commencés à enfouir des billes sous la litière. Pourtant, chez les lots traités avec l'extrait, on n'observe pas des agitations et les billes enfouis sont moins nombreuses. Cette diminution du nombre de billes enfouies pourrait expliquer l'amélioration du comportement de l'animal c'est-à-dire l'extrait 004H réduit son état d'anxiété (NICOLAS L.B. et coll., 2006).

L'anxiété est expliquée par une déséquilibre entre les neurotransmetteurs excitateurs et les neurotransmetteurs inhibiteurs dans le cerveau: la sérotonine, la noradrénaline et le GABA (DALE P., 2011). Les anxiolytiques comme les benzodiazépines traversent la barrière hémato-encéphalique et se fixent sur les récepteurs GABA portés par les neurones gabaergiques pour potentialiser son effet inhibitrice. La stimulation des récepteurs GABA ralentit la transmission nerveuse et supprime le stress et l'anxiété (WHITE S. et NEUMAN R., 1980).

D'après nos résultats, les souris traitées avec l'extrait 004H n'ont pas peur du vide présenté par le labyrinthe en croix ni de son hauteur. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que l'extrait 004H augmente l'action naturelle du GABA qui exerce une influence inhibitrice sur la peur d'une situation inhabituelle (HOYER et coll., 2002).

L'évitement ou la fuite de la zone centrale éclairée par les souris témoin peut être dû à une augmentation de la noradrénaline dans la zone synaptique. Comme, les souris traitées avec l'extrait n'évitent pas l'espace ouverte, ceci pourrait s'expliquer par une inhibition du recaptage des catécholamines au niveau des synapses et des neurones qui la libèrent. La

diminution du taux de noradrénaline dans le cerveau réduit l'anxiété car la noradrénaline est un neurotransmetteur excitateur.

Le test d'enfouissement est utilisé comme un test rapide et simple, pour les anxiolytiques et les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine (ISRS) (NJUNG'E K., HANDLEY S.L., 1991). Il se peut que l'agitation et le comportement trop enfouisseur des souris du lot témoin est causé par une quantité élevée de sérotonine cérébrale. L'amélioration de ce comportement chez les lots traités pourrait s'expliquer par le fait d'une inhibition du recaptage de la sérotonine par les neurones pré-synaptiques après son relâchement dans la fente synaptique (XIAOBAI L. et coll., 2006).

Les résultats de nos criblages phytochimiques sur l'extrait codé 004H ont révélé la présence de quelques familles chimiques comme les flavonoïdes et les alcaloïdes. Les flavonoïdes sont des groupes de métabolites les plus répandus dans les plantes. On les trouve dans presque toutes les parties de la plante à différentes concentrations. Les flavonoïdes sont également très intéressants du point de vue médical car ils sont associés à de nombreuses activités biologiques telles que anti-inflammatoires, anti-tumorales, anti-hypertensives, antibactériennes, antiallergiques et antioxydants (ANDERSON et coll. 1996).

Tandis que les alcaloïdes sont des groupes de substances naturelles qui renferment tous un azote. Ils sont dotés d'une activité pharmacologique significative comme étant des antipaludiques (quinine), des anesthésiques locaux (cocaine), des dépresseurs (morphine, scopolamine), des stimulants (caféine)... (BHATTACHARYA S. K. et coll., 1978).

L'extrait de la passiflore est actuellement utilisé comme anxiolytique dans des spécialités telles que : Passiflorine®, Neurexan®; Calmodren®. Dans le cas de la passiflore, les alcaloïdes et les flavonoïdes qu'elle contient agissent sur les mêmes récepteurs que les benzodiazépines (BEZANGER et coll., 1980).

Le coquelicot aussi renferme des alcaloïdes qui lui confèrent ses propriétés calmantes (LECLERC H., 1983). Plusieurs auteurs ont également montré que les flavonoïdes possèdent une activité anxiolytique (CABRERA et coll., 2007).

Il se pourrait que les flavonoïdes ou les alcaloïdes puissent être responsables de l'effet anxiolytique de l'extrait 004H, parce que ce sont des molécules liposolubles capables de traverser la barrière hémato céphalique. Ils agiraient, soit en inhibant le recaptage dans la synapse des catécholamines et les sérotonines libérées pour diminuer l'excitation neuronale, soit en augmentant la fixation des GABA avec ses récepteurs.



CONCLUSION



V. CONCLUSION

Les études effectués sur l'extrait 004H administrés par voie orale, montrent qu'il diminue l'anxiété des souris. En réduisant la peur du vide sur le labyrinthe en croix et l'évitement de l'espace ouvert. En plus, il améliore le comportement enfouisseur des souris lors du test d'enfouissement. Ce qui nous permet de conclure que l'extrait 004H possède une activité anxiolytique. Cet effet pourrait être attribué à la présence des alcaloïdes ou des flavonoïdes contenus dans l'extrait.



BIBLIOGRAPHIES



BIBLIOGRAPHIES

American Psychiatric Association, DSM- IV-TR. (2011).

Diagnostic and Statistical manual of mental disorders.

Ed. Fourth, (Washington DC), Text revision: pp 4.

ANDERSON C.M., HALLBERG A., HOGBERG T. (1996).

Advances in the development of pharmaceutical antioxidants.

Adv. Drug. Res., **28**: 65-180.

ARCHER T. (1987).

Marble burying and spontaneous motor activity in mice: interactions over days and the effect of diazepam.

Scand. J. Psychol., **28** (3): 242-249.

BHATTACHARYA S.K., BOSE R., GHOSH P., TRIPATHI V.J., RAY A.B. (1978).

The Chemistry of the Isoquinoline Alkaloids.

Psychopharmacol., (Berlin), **59**: pp 29.

BESANÇON G. (1993).

Manuel de psychopathologie- Anxiété, dépression et psychopathologie du corps.

Ed. Dunod, (Paris): pp 39.

BEZANGER-BEAUQUESNEL, PINKAS M., TORCK M., TROTIN F. (1980).

Plantes médicinales des régions tempérées.

Ed. Maloine, (Paris): pp 22.

BOURIN M., BAKER G.B. (1996).

The future of antidepressants.

Biomed. Pharmacother., **50**: 7.

BOURIN M., HASCOËT M. (2003).

The mouse light/dark box test.

Eur. J. Pharmacol., **463** : 55-65.

CABRERA M., SIMOENS M., FALCHI G., LAURALAVAGGI M., PIRO O –E. (2007).
Synthetic chalcones, flavanones, and flavones as antitumoral biological evaluation and structure activity relationships.

Bioorg. Med. Chem., **15**: 3356-3367.

CRUZ FREI A., GRAEFF F.G. (1994).

Ethnopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze.

Pharmacol. Biochem. Behav., **49** (1): 171-176.

DALE PURVES, GEORGE AUGUSTINE, DAVID FITZPATRICK, WILLIAM HALL,
ANTHONY-SAMUEL LAMANTIA (2011).

Neurosci. Sinauer Associates : pp 858.

DURASAMI R., SRINIVASAM D., RAMASAMY S. (2008).

Antidepressant and anxiolytic activities of bio flavonoid-gossypin.

Pharmacology on line, **2**:683-693.

FLORIO C., PREZIOSO A., PAPAIOANNOU A., VERTUA R. (1998).

Adenosine A1 receptors modulate anxiety in CD1 mice.

Psychopharmacol., **136**: 311-319.

GOLAPA K.H.N., SANGHA R.B., MISRA N., PAI M.R.S.M. (2006).

Antianxiety activity of NR-ANX-C, a polyherbal preparation in rats.

Ind. J. Pharmacol., **38**: 330-335.

GYERTYAN I., (1995).

Analysis of the marble burying response: marbles serve to measure digging rather than evoke burying.

Behav. Pharmacol., **6** (1) : 24-31.

HALL C.S. (1930).

Emotional behavior in the rat. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality.

J. Comp. Psychol., **18**: 385-403.

HANDLEY S.L., MITHANI S. (1984).

Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour.

Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol., **327**(1) : 1-5.

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

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

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

HELLION-IBARROLA M.C., IBARROLA D.A., MONTALBETTI Y., KENNEDY ML., HEINICHEN O., CAMPUZANO M., TORTORIELLO J. (2006).

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

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

HODGE C.W., RABER J., MCMACON T., WALTER H., SANCHEZ-PEREZ A. N., FOREST OLIVE M., MEHMERT K., LESLIE MORROW A., MESSING R.O. (2002).

Decreased anxiety-like behavior, reduced stress hormones and neurosteroid supersensitivity in mice lacking protein kinase C.

J. Clin. Invest., **110**: 1003-1010.

HOYER D., HANNON J. P., MARTIN G. R. (2002).

Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors.

Pharmacol. Biochem. Behav., **71**: 533-554.

IGAN C. (1982).

Practical manuals of the industrial utilization of medicinal plants and aromatical plants.

Rev. Fac. Pharm., (Bucharest, Romania): 1-34.

KIRBY L.G., LUCKI I. (1997).

Interaction between forced swimming test and fluoxetine treatment on extracellular 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxy indole acetic acid in rat.

J. Pharmacol. Exp. Ther., **282**: 967-976.

LANGEN B., EGERLAND U., BERNÖSTER K., DOST R., UNVERFERTH K. (2005).
Characterization in rats of the anxiolytic potential of ELB139 [1-(4-chlorophenyl)-4-piperidin-1-yl-1, 5-dihydro-imidazol -2-on], a new agonist at the Benzodiazepine binding site of the GABAA Receptor.

J. Pharmacol. Exp. Ther., **314**: 717-724.

LECLERC H. (1983).

Précis de phytothérapie.

Ed. Masson, (Paris): pp 363.

LISTER R.G. (1987).

The use of a plus maze to measure anxiety in the mouse.

Psychopharmacol., **92**:160-185.

LI X., MORROW D., WITKIN J.M. (2006).

Decreases in nestlet shredding of mice by serotonin uptake inhibitors: comparison with marble burying.

Life Sci., **78** (17): 1933-1939.

MONTGOMERY K.C. (1958).

The relation between fear induced by novelty stimulation and exploratory behaviour.

J. Comp. Physiol. Psychol., **48**: 254-260.

NICOLAS L.B., KOLB Y., PRINSSSEN E.P. (2006).

A combined marble burying-locomotor activity test in mice: a practical screening test with sensitivity to different classes of anxiolytics and antidepressants.

Eur. J. Pharmacol., **547** (1-3): 106-115.

NJUNG'E K., HANDLEY S.L. (1991).

Evaluation of marble-burying behavior as a model of anxiety.

Pharmacol. Biochem. Behav., **38** (1): 63-67.

PELLOW S., CHOPIN P., FILE S. E., BRILEY M. (1985).

Validation of open/ closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety
J. Neurosci. Meth., **14** (3): 149-167.

PINEL J.P., TREIT D. (1978).

Burying as a defensive response in rats.

Journal of Comparative and Physiological Psychology, **92**(4): 708-712.

RABESA A.Z., RANDRIANASOLO S., RASOLOMANANA C.J.C., RANDRIAMIZANA J.P. (1986).

Pharmacopées de l'Alaotra.

Ed. Fanantenana. (Antananarivo) : 173-288.

RIEDEL W.J., VERMEEREN A., VAN BOXTEL M.P.J., VUURMAN E.F.P.M.,
VERHEY F.R.P., JOLLES J., RAMAEKERS G.J. (1998).

Mechanisms of drug-induced driving impairment: A dimensional approach.

Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp., **13**: 49-63.

RODGERS RJ., JOHNSON NJT., CARR J., HODGSON TP. (1997).

Resistance of experimentally induced changes in murine plus-maze behaviour to altered retest conditions.

Behav. Brain Res., **86**: 71-77.

SANTOS K.C., KURTZ S.M.T.F., MÜLLER S.D., BIAVATTI M.W., WEFFORT
D'OLIVIERA M.M., SANTOS C.A.M. (2006).

Sedative and anxiolytic effects of methanolic extract from the leaves of *Passiflora actinia*.

Braz. Arch. Biol. Tech., **49**: 565-573.

SHINOMIYA K. (2005).

Effect of paroxetine on marble-burying behavior in mice methods find

Exp Clin Pharmacol., **27** (10): 685-687.

SKALISZ L.L., BEIJAMINI V., ANDREATINI R. (2004).

Effect of *Hypericum perforatum* on marble burying by mice.

Phytother Res., **18** (5): 399-402.

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

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

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

WHITE S. R., NEUMAN R. S. (1980).

Facilitation of spinal motoneurone excitability by 5-hydroxytryptamine and noradrenaline.

Behav. Brain Res., **188**: 119-127.

XIAOBAIL., TAKESHI I., TOMOHIRO A., SHIMIN W., SHIN N., TSUKASA K. (2006).

5-HT_{1A} receptor agonist affects fear conditioning through stimulation of postsynaptic 5HT_{1A} Receptors in the hippocampus and amygdala.

Eur. J. Pharmacol., **532**: 74-80.

ETUDE DE L'ACTIVITE ANXIOLYTIQUE DE L'EXTRAIT 004H CHEZ LA SOURIS

Auteur : HANITRARIMALALA Veroniaina
Lot IIB 170 AE Bis Manjakaray
Année: 2014- 2015
Rapporteur : Docteur RANDRIANAVONY
Patricia, Docteur HDR

E-mail: randrianavonypatricia@yahoo.com
Laboratoire : Laboratoire de Pharmacologie
Générale, de Pharmacocinétique et de
Cosmétologie
B.P. : 8357
Domaines des Sciences et Technologies
Université d'Antananarivo

RESUME

L'objectif de cette étude a été d'évaluer l'activité anxiolytique de l'extrait 004H chez la souris en utilisant trois modèles expérimentaux induisant l'anxiété. L'administration par voie orale de l'extrait 004H augmente le temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix, de $50 \pm 2,53$ secondes chez les témoins jusqu'à $115,6 \pm 9,1$ et $167,6 \pm 21,5$ secondes chez les lots traités avec 004H aux doses respectives de 150 et 300 mg/kg ($p < 0,05$). Aux mêmes doses, le temps de passage dans la zone centrale claire de l'espace ouvert augmente d'une manière significative de $58 \pm 3,6$ pour les témoins et $177,6 \pm 18$ secondes pour le traité. En plus, l'extrait 004H améliore le comportement enfouisseur des souris de $7,6 \pm 0,8$ pour le lot témoin contre $4,3 \pm 0,4$ billes enfouies sous la litière pour le lot traité à la dose de 300 mg/kg avec un $p < 0,05$. Ces résultats montrent l'activité anxiolytique de l'extrait 004H. Ces effets pourraient être dus à la présence des alcaloïdes ou des flavonoïdes que l'extrait contient.

Mots clés : 004H, anxiolytique, comportement, souris.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the anxiolytic activity of the 004H extract in mice using three experimental models inducing anxiety. The oral administration of the extract 004H increases the time spent in the open arms of the maze, 50 ± 2.53 seconds in controls to 115.6 ± 9.1 and $167.6 \pm 21,5$ seconds in the treated lots with 004H with respective doses of 150 and 300 mg / kg ($p < 0.05$). The same doses, the transit time in the clear central area of open space increases in a way significant 58 ± 3.6 to $177.6 \pm$ witnesses and 18 seconds for the treaty. In addition, the 004H extract improves the behavior of mice plough 7.6 ± 0.8 for the control group against 4.3 ± 0.4 logs buried under litter the treated group at a dose of 300 mg / kg with $p < 0,05$. These results demonstrate the anxiolytic activity of the 004H extract. These effects could be due to the presence of flavonoids or alkaloids present in the extract.

Keywords: 004H, anxiolytic, behavior, mouse.