



DOMAINE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES

MENTION PHYSIOLOGIE ANIMALE, PHARMACOLOGIE, COSMETOLOGIE

LABORATOIRE DE PHARMACOLOGIE GENERALE, DE PHARMACOCINETIQUE ET
DE COSMETOLOGIE

LPGPC

MEMOIRE POUR L'OBTENTION D'UN DIPLOME DE MASTER

Option : PHARMACOLOGIE

Etude de l'activité analgésique de l'extrait CCA chez les souris

Présenté par :

CHEN WA Cathy Anaïs

Le 19 Février 2016

Devant le jury composé de:

Président du jury : Mme RANDRIANAVONY Patricia

Maitre de conférences

Rapporteur: Mr. RANDIMBIVOLOLONA Fanantenainirainy

Professeur titulaire

Examinateur : Mr. RASAMINDRAKOTROKA Andry

Professeur titulaire de chair

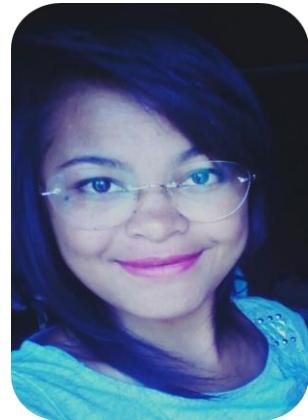
Nom : CHEN WA

Prénom : Cathy Anaïs

Adresse : VB 72 E Bis Ambatoroka Tana 101

E-mail : chenwacathy@gmail.com

Tel : 0325942294



Etude de l'activité analgésique de l'extrait CCA chez les souris

Promotion : 2014-2015

Option : PHARMACOLOGIE

Rapporteur : Mr. RANDIMBIVOLOLONA Fanantenainirainy, Professeur titulaire.

Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie

B.P : 8357, E-mail : frandimbi@gmail.com

DOMAINE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES
UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce mémoire est le résultat d'un travail d'équipe rassemblant solidarité, effort et respect entre toutes les personnes qui y ont contribué.

Mes premiers remerciements s'adressent à Monsieur le Professeur titulaire RANDIMBIWOLOLONA Fanantenainirainy, de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire LPGPC, d'avoir donné de son temps et ces conseils avisés. Merci pour votre confiance et votre sympathie. Je suis heureuse de pouvoir lui exprimer, ici, toute ma gratitude.

Mes sincères remerciements vont également à Madame, le Docteur RANDRIANAVONY Patricia pour votre dévouement, votre acharnement, vos conseils, vos critiques. Merci de m'avoir toujours pousser au bout de mes limites, m'avoir appris la persévérance et la simplicité. L'aide que vos m'avez apporté tout le long de ce travail me va droit au cœur. Merci de m'avoir inculqué non seulement une large connaissance scientifique mais aussi de grandes leçons de vie durant mon parcours pédagogique.

Je tiens aussi à exprimer mes remerciements à Monsieur le Professeur titulaire de chair RASAMINDRAKOTROKA Andry, pour avoir accepté de siéger parmi les membres du jury pour juger ce travail malgré son emploi du temps chargé. Veuillez trouver, ici, le témoignage de mon profond respect.

À la promotion FANAZAVA, merci pour cette agréable aventure de quelques années de rires et d'entraide particulièrement à Fy et Zakariasy.

Enfin et pas le moindre à toute ma famille, plus particulièrement à mes parents, mes frères et sœur, je vous suis reconnaissante d'avoir toujours cru en moi. Merci pour vos encouragements, votre soutien et vos sacrifices qui m'ont permis de poursuivre mes études à ce niveau.

TABLE DES MATIERES

SOMMAIRE	i
LISTE DES FIGURES.....	ii
LISTE DES TABLEAUX	iii
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS	iii
INTRODUCTION	1
MATERIELS ET METHODES.....	10
A- PARTIE CHIMIQUE.....	10
1. Préparation de l'extrait	10
2. Criblage phytochimique	10
B-TESTS PHARMACOLOGIQUES	12
1. Les animaux utilisés	12
2.Étude de l'activité analgésique centrale de l'extrait CCA.....	12
2.1 Étude de l'activité de l'extrait CCA face à la douleur provoquée par la chaleur.....	12
2.2 Étude de l'activité de l'extrait CCA sur la douleur provoquée par une pression sur la queue	13
3. Etude de l'activité analgésique périphérique de l'extrait CCA	15
RESULTATS	17
A-PARTIE CHIMIQUE.....	17
1. Rendement de l'extraction.....	17
2. Résultats du criblage phytochimique	17
B- PARTIE PHARMACOLOGIQUE	18
1. Activité analgésique centrale de l'extrait CCA	18
1.1 Effet de l'extrait CCA sur la douleur provoquée par la chaleur	18
1.2 Effet de l'extrait CCA sur une douleur provoquée par une pression sur la queue	19
2. Activité analgésique périphérique de l'extrait CCA	20
DISCUSSION.....	22
CONCLUSION.....	25
BIBLIOGRAPHIES	26

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Immersion de la queue de la souris dans un bain thermostaté à 50°C	13
Figure 2. Schéma d'un algésimètre	15
Figure 3. Application de d'une pression sur la queue de la souris avec l'aiguille de l'algésimètre	15
Figure 4. Œdème provoqué par l'injection de formaldéhyde sous aponévrose plantaire de la souris.....	16
Figure 5. Temps de retrait de la queue de la souris du bain thermostaté à 50°C en fonction du temps d'observation après administration de l'extrait CCA à la dose de 400mg/kg et 800mg/kg par voie orale par rapport au témoin (m ± e.s.m; n=3; p<0,05)	19
Figure 6. Variation de la pression en Pascal supportée par la queue de la souris en fonction du temps d'observation après administration de l'extrait CCA à la dose de 400 mg/kg et 800mg/kg par voie orale par rapport au témoin (m ± e.s.m; n=3; p<0,05)	20
Figure 7. Variation de la durée de léchage et de morsures de la patte des souris après injection de formaldéhyde à 2,5% sous l'aponévrose plantaire chez les souris traitées avec l'extrait CCA à la dose de 400mg/kg et 800mg/kg par voie orale par rapport aux souris du lot témoin durant les deux phases de réaction de 0-5 minutes, de 20-45 minutes (m ± e.s.m; n=3; p<0,05)	21

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. les tests utilisés pour la détermination des grandes familles chimiques présentes dans l'extrait CCA	11
Tableau II. Résultats du criblage phytochimique de l'extrait CCA.	17

LISTES DES SIGLES ET DES ABREVIATIONS

$^{\circ}\text{C}$:	degré Celsius
A.I.N.S	:	anti inflammatoire non stéroïdiens
Coll.	:	Collaborateurs
e.s.m	:	erreur standard à la moyenne
IASP	:	International Association for the Study of Pain
LPGPC	:	Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie
g	:	gramme
mg/kg	:	milligramme par kilogramme
ml/kg	:	millilitre par kilogramme
ml	:	millilitre
mm²	:	millimètre carré
n	:	nombre d'animaux utilisés
NMDA	:	N-méthyl-D-aspartate
N/ kg	:	newton par kilogramme
OMS	:	Organisation Mondiale de la Santé
Pa	:	Pascal
P_a	:	pression appliquée
μ	:	mu
κ	:	kappa
δ	:	delta
σ	:	sigma

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Un analgésique est une substance capable d'inhiber ou de supprimer une sensation de douleur. Etymologiquement le mot << analgésie >> est divisé en deux : le « a- » un préfixe privatif et le suffixe « algie » qui signifie douleur, il signifie alors sans douleur (SAUSSAC J., 2012). La douleur soulève des questions de santé publique, son ampleur est telle que son soulagement est de plus en plus considéré comme un droit de l'homme. Elle induit une charge financière et représente un marché important pour les grands laboratoires pharmaceutiques. En 2001 les ventes des analgésiques ont atteint 25 milliards de dollars (BRUGUEROLLE B. et coll., 2005).

La douleur est une composante nocive pour l'homme. Elle affecte directement ou indirectement la vie quotidienne et peut provoquer un dysfonctionnement au sein d'une société ou d'une communauté.

Selon IASP « International Association for the Study of Pain », la douleur est une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, liée à une lésion tissulaire présente ou potentielle ou décrite en terme évoquant une telle lésion (CASTEL H., 2009). C'est une expérience subjective complexe, reposant sur des bases neurophysiologiques. C'est alors le vécu émotionnel ou une sensation perçue suite à une quelconque lésion ou agression (LAZORTHES J.C. et SCHMITT L., 2006). Ces agressions sont des stimuli qui peuvent être physiques ou chimiques capable d'activer les récepteurs spécifiques de la douleur ou nocicepteurs.

Les stimuli physiques sont de deux types : mécaniques et thermiques. Les stimuli mécaniques peuvent être des piqûres, des pressions ou un contact brusque. Les agressions thermiques sont la chaleur ou le froid, qui à un certain degré deviennent douloureuse (DELGADO O.E., 2006). Les substances algogènes quant à eux sont les substances chimiques ou les substances secrétées par l'organisme lui-même dans la zone enflammée comme la bradykinine, la prostaglandine, l'histamine ou la sérotonine qui provoquent une sensation douloureuse (BECAMEL C., 2007).

Les nocicepteurs sont des terminaisons nerveuses qui reçoivent les stimuli douloureux. Ils sont localisés sur toute la surface d'un organisme : la peau, les viscères à part le foie, les os et les muscles. La répartition des nocicepteurs est homogène au niveau de la peau, ce qui permet une bonne localisation de la douleur, malgré le chevauchement de leur champ de perception. Par contre, la répartition dans les autres tissus est moins bien organisée, ce qui explique les difficultés de localisations de douleurs d'origine plus profondes (MANN C., 2007). Il existe plusieurs types de nocicepteur correspondant à chaque stimulus : les nocicepteurs mécaniques qui réagissent à une stimulation mécanique (piqûre); les nocicepteurs mécano-thermiques qui sont stimulés par les stimulations physiques type brûlure ; les nocicepteurs polymodaux activés par les stimulations chimiques, mécaniques, thermiques ou électriques (MAUROY J.C., 2000 ; PERAGUT J.C. et ROUSSEL P., 2006 ; LAZORTHES J.C. et SCHMITT L., 2006 ; TOUTAIN P.L., 2009).

Ces nocicepteurs sont capables d'effectuer la transduction du stimulus en influx douloureux. Ils sont caractérisés par un seuil d'activation élevé, une capacité de coder l'intensité du stimulus, c'est-à-dire que sa réaction varie en fonction de l'intensité de la stimulation (GUIRIMAND F., 2003 ; BECAMEL C., 2007 ; TOUTAIN P.L., 2009 ; CATUDAL A.M. et VEILLEUX-LEMIEUX D., 2013).

La douleur peut être classée en deux groupes : la douleur physiologique et la douleur pathologique (LAZORTHES J.C. et SCHMITT L., 2006 ; BOUTET M., 2010).

La douleur physiologique constitue un signal d'alarme pour protéger l'organisme contre les diverses agressions et pour le prévenir d'une menace de son intégrité (LAZORTHES J.C. et SCHMITT L., 2006). Ce système d'alarme de protection est utile, car il informe immédiatement l'individu d'un dérèglement au niveau de l'organisme et déclenche des réponses réflexes de défense : c'est la nociception (reflexe de retrait, immobilisation de la région lésée, comportement d'évitement ...) (PERAGUT J.C. et ROUSSEL P., 2006). Elle consiste au cheminement de la douleur à partir de l'activation des nocicepteurs, son vécu sensoriel, émotionnel et sa modulation (LAZORTHES J.C. et SCHMITT L., 2006 ; BOUTET M., 2010). La nociception est aussi appelée douleur aigue car sa durée est brève (BECAMEL C., 2007 ; SAULEAU P., 2009 ; COFER, 2011).

Tandis que la douleur chronique est une pathologie; elle dure jusqu'à plus de 6 mois. La douleur pathologique est une douleur par excès de nociception ou une douleur neurophatique (MAUROY J.C. ,2000 ; PERAGUT J.C. et ROUSSEL P., 2006 ; SAULEAU P., 2009).

Une douleur par excès de nociception est provoquée par une stimulation excessive des nocicepteurs. Plusieurs causes peuvent la provoquer: une inflammation qui sécrète des substances algogènes, une infection, des stimuli nociceptifs comme une pression ou la

chaleur. C'est la douleur dans le cas d'une brûlure, d'une piqûre ou d'un pincement (BECAMEL C., 2007 ; GATT M.T., 2007 ; SAULEAU P., 2009 ; HAJJ A., 2012). Dans ce groupe de douleurs on distingue la douleur somatique et la douleur viscérale (PERAGUT J.C. et ROUSSEL P., 2006).

Lorsque la douleur touche la peau, les muscles et le squelette, on parle de la douleur somatique. Généralement, ce type de douleur est continue, bien localisée et facilement reproductible par la palpation et/ou la mobilisation.

Dans le cas où la douleur touche les viscères, on parle de douleur viscérale. Elle est généralement mal localisée et souvent perçue à distance du viscère atteint (douleur référée) (PERAGUT J.C. et ROUSSEL P., 2006).

Tandis que la douleur neurogène ou neuropathique, ou douleur de désafférentation survient après une chirurgie, une chimiothérapie ou une amputation (GATT M.T., 2007). Ce sont des douleurs spontanées de type brûlure ou décharge électrique (FONZO-CHRISTE C., 2006). Ce type de douleur correspond à un disfonctionnement ou à une lésion du système nerveux périphérique reliée aux nocicepteurs, ou à une lésion du système nerveux central. Il est dû à une perte de contrôle de la voie ascendante ou une perte d'inhibition de la voie descendante de la douleur (PERAGUT J.C. et ROUSSEL P., 2006). Les lésions nerveuses périphériques concernent les fibres reliées aux nocicepteurs, elles se manifestent comme une décharge ectopique, une excitation croisée de différentes fibres ou une sensibilisation des nocicepteurs.

Les lésions nerveuses centrales commencent à partir de la moelle épinière jusqu' au cortex, elles se manifestent par une altération du système d'intégration et de modulation mais affectent aussi la sensibilité des nerfs centraux (MAUROY J.C. ,2000 ; PERAGUT J.C. et ROUSSEL P., 2006 ; SCHWALD R., 2007). Il existe plusieurs symptômes de cette perte de contrôle du système nerveux comme une douleur causée par une stimulation normalement non douloureuse (allodynie), une réponse exagérée à une stimulation qui est normalement douloureuse (hyperalgésie), un syndrome douloureux caractérisé par une réponse exagérée à un stimulus répété et dont le seuil est élevé (hyperpathie) (PERAGUT J.C. et ROUSSEL P., 2006 ; BECAMEL C., 2007 ; SAULEAU P., 2009).

Du stimulus jusqu'au vécu de la douleur, il existe plusieurs étapes : la transduction, la transmission, l'intégration et la modulation (TOUTAIN P.L., 2009).

La transduction consiste à transformer le stimulus perçu par le nocicepteur en un influx nerveux ou influx douloureux (PAYEN J.F., 2002 ; GUIRIMAND F., 2003 ; MANN C., 2007) qui sera transmis au centre spinal et supra spinal (BECAMEL C., 2007 ; TOUTAIN P.L., 2009).

La transmission de cet influx se fait par voie ascendante par le biais de fibres nerveuses nociceptives. Elle se fait en 2 étapes : des nocicepteurs à la moelle épinière et de la moelle épinière au cortex en passant par le thalamus (MAUROY J.C. ,2000 ; BECAMEL C., 2007; BOUTET M., 2010). La dépolarisation membranaire des fibres reliées aux nocicepteurs générés par le phénomène de transduction va provoquer un potentiel d'action sous forme d'influx douloureux qui traverse la membrane de chaque fibre mis en jeu dans la perception de la sensation douloureuse (GUIRIMAND F., 2003). Cette conduction de l'influx douloureux dépend de l'existence de la gaine de myéline et du diamètre des fibres nerveuses.

Une fibre myélinisée de gros calibre conduit rapidement l'influx douloureux, tandis qu'une fibre myélinisée de petit calibre a une conduction assez lente. Les fibres amyélinisées sont à conduction lente qu'il soit de gros ou de petit diamètre (PERAGUT J.C. et ROUSSEL P., 2006).

Deux types de fibres assurent la transmission des nocicepteurs à la moelle épinière : les fibres A δ et les fibres C (PAYEN J.F., 2002 ; MANN C., 2007).

- les fibres A δ sont myélinisées et de petit diamètre, elles ont une vitesse de conduction rapide et transmettent les informations mécaniques et thermiques. Ces fibres sont responsables de la première sensation au cours d'un phénomène douloureux bien localisé (piqûre).
- les fibres C sont amyélinisées et de très petit diamètre. Elles ont une vitesse de conduction très lente et transmettent les informations mécaniques, thermiques et chimiques d'apparition plus tardive et diffuse (exemple : brûlure) (PAYEN J.F., 2002 ; MANN C., 2007).

Dans la transmission de l'influx douloureux, les nocicepteurs activés par les stimuli nocifs vont être conduit par les fibres A δ qui ont une conduction rapide et ensuite renforcer par la conduction des fibres C qui sont lente et plus diffuse (MANN C., 2007 ; PERAGUT J.C. et ROUSSEL P., 2006).

De la moelle épinière au cortex l'influx douloureux prend 2 voies de transmission différentes :

- la voie de la composante sensorielle discriminative de la douleur (emplacement, intensité, nature de la douleur) qui est latérale est rapide. Elle est reliée à la fibre A delta et composée du faisceau spino-thalamique ou neo-spino-thalamique.
- la voie de la composante émotionnelle (caractère désagréable, fuite, défense) qui est médiane et lente. Elle est reliée à la fibre C et est composée du faisceau reticulo-thalamique ou paléo-spino-réticulo-thalamique (MAUROY J.C., 2000 ; PAYEN J.F., 2002; PERAGUT J.C. et ROUSSEL P., 2006 ; MANN C., 2007 ; SAULEAU P., 2009).

Enfin l'intégration et la modulation terminent le processus de la perception de la douleur. L'intégration consiste au décodage de l'influx douloureux au niveau de cortex somesthésique et du cortex limbique. Le faisceau spino-thalamique relié à la fibre A δ transmet au cortex somesthésique la localisation de la douleur et son intensité. Tandis que le faisceau reticulo-thalamique relié à la fibre C transmet l'influx douloureux au cortex limbique zone du cerveau impliquée dans la composante émotionnelle de la douleur, d'où le vécu subjectif émotionnel de la douleur (PERAGUT J.C. et ROUSSEL P., 2006 ; SAULEAU P., 2009).

Quant à la modulation, elle consiste à maintenir un équilibre en inhibant les influx douloureux perçus et vécus. C'est un moyen de contrôler la sensation de douleur qui consiste à augmenter les facteurs inhibiteurs par rapport aux facteurs excitateurs de la douleur. Il existe plusieurs systèmes inhibiteurs comme le « Gate control » ou contrôle de la porte qui consiste à bloquer le message douloureux au niveau de la moelle par un interneurone qui secrète de l'enképhaline (une endomorphine naturelle occupant les récepteurs opioïdes au niveau spinal) (MUIR W.W., WOOLF, C.J., 2001 ; MANN C., 2007). Au niveau du cortex, le contrôle se fait par voie descendante, il met en jeu plusieurs neuromédiateurs (noradrénaline, sérotonine) et des endomorphines. En se fixant sur leurs récepteurs, ces substances diminuent la sensation douloureuse (BRUGUEROLLE B. et coll., 2005 ; SCHWALD R., 2007).

Les analgésiques permettent de diminuer ou de faire disparaître ces sensations de douleur.

Selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), il existe 3 types d'analgésiques classées dans deux groupes : les analgésiques non opioïdes et les analgésiques opioïdes.

- Les analgésiques de palier I qui regroupent les analgésiques non opioïdes : utilisés pour les douleurs légères.
- Les analgésiques de palier II qui regroupent les analgésiques opioïdes faibles : utilisés pour traiter les douleurs modérées si le traitement de la douleur de palier I n'est pas efficace on l'associe au analgésique opioïdes faibles.
- Les analgésiques de palier III qui sont des analgésiques opioïdes forts, appelés les morphiniques, sont utilisés pour les douleurs intenses. Ils sont appelés ainsi car tous les dérivés de la morphine sont des opioïdes forts (DELGADO O.E., 2006 ; SAUSSAC J., 2012).

Les analgésiques non opioïdes ou périphériques sont classés selon leur profil pharmacodynamique, il y a les analgésiques purs (Nefopam), les analgésiques antipyrétiques (paracétamol), et les analgésiques antipyrétiques et anti-inflammatoires (aspirine et les AINS) (MONASSIER L., 2005 ; CHAMONTIN B. et CANTAGREL N., 2007 ; PIGUET V., 2012).

Les analgésiques périphériques agissent uniquement au niveau des nocicepteurs en inhibant la transduction du signal nociceptif provoqué par les substances algogènes comme la

prostaglandine, la bradykinine ou l'histamine en augmentent le seuil de sensibilité des nocicepteurs à ces algogènes pour éviter la transduction ou en inhibant la production de ces substances algogènes (BRUGUEROLLE B. et coll., 2005 ; CATUDAL A.M. et VEILLEUX-LEMIEUX D., 2013).

Tandis que les analgésiques opioïdes ou centraux sont classés selon leur puissance et leur action sur les récepteurs (FONZO-CHRISTE C., 2006 ; CHAMONTIN B. et CANTAGREL N., 2007 ; HAJJ A., 2012). On distingue les analgésiques opioïdes faibles et les analgésiques opioïdes forts. Les analgésiques opioïdes faibles sont des agonistes des récepteurs opioïdes (codéine, tramadol et dextropropoxyphène), tandis que les analgésiques opioïdes forts sont des agonistes des récepteurs opioïdes (morphine, méthadone, fentanyl) ou des agonistes partiels de ces récepteurs (buprénorphine, pentazocine), ou soit agoniste et antagoniste (nalbuphine) ou antagoniste pur (nalaxone) des récepteurs opioïdes (BRUGUEROLLE B. et coll., 2005 ; MONASSIER L., 2005 ; MONASSIER L. et MULLER A., 2012). Les analgésiques centraux ont une action spinale (moelle épinière) et supra spinale (centre supérieur du système nerveux centrale). Les opioïdes exercent une action spinale directe au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière par des effets à la fois pré-synaptique en libérant les enképhalines inhibant la libération de la substance P et post synaptique en provoquant une hyperpolarisation des neurones à l'origine de l'absence du potentiel d'action responsable de la transmission de l'influx douloureux (BRUGUEROLLE B. et coll., 2005 ; HAJJ A., 2012).

L'action supra spinale des analgésiques centraux est due au renforcement des contrôles inhibiteurs descendants ou la modulation de l'influx nerveux (HAJJ A., 2012). En effet, le système nerveux central agit en occupant les récepteurs opioïdes qui sont de trois types : les récepteurs mu (μ), delta (δ), kappa (κ) et sigma (σ) (MONASSIER L. et MULLER A., 2012) concentrés au niveau de la moelle épinière, de la substance grise péri-acqueducale (SGPA) et le Noyau Raphé de Magnus (NRM) (HAJJ A., 2012). Ils sont chacun occupé par des endomorphines naturelles : les endorphines, les enképhalines et les dynorphines qui assurent la modulation pour inhiber l'influx douloureux, et les analgésiques centraux amplifient l'effet de ces endorphines (BRUGUEROLLE B. et coll., 2005 ; HAJJ A., 2012 ; MONASSIER L. et MULLER A., 2012). Les analgésiques opioïdes forts ou faibles ont leur affinité spécifique vis-à-vis de ces récepteurs opioïdes : par exemple, la morphine est un agoniste μ ; le nalbuphine, un agoniste κ et antagoniste μ ; et le nalaxone antagoniste μ , κ et δ . Une fois activés, ces récepteurs inhibent la libération de la substance P responsable de la transmission

de l'influx douloureux vers le système nerveux central (MONASSIER L. et MULLER A., 2012).

Les analgésiques non opioïdes et opioïdes sont efficaces pour les douleurs par excès de nociception (PERAGUT J.C et ROUSSEL P., 2006), le paracétamol est l'analgésique non opioïdes le plus utilisé (BRUGUEROLLE B. et coll., 2005). Il est à la fois antipyrrétique et analgésique. Le paracétamol bloque de façon réversible la cyclooxygénase et empêche la production des prostaglandines responsables de la fièvre (effet antipyrrétique central) et de la sensibilisation des nocicepteurs périphériques (effet antalgique périphérique) (MONASSIER L., 2005).

Pour les douleurs plus sévères les analgésiques opioïdes sont plus efficaces. Le médicament de référence pour ce type de douleur est la morphine qui est un agoniste pur des récepteurs opioïdes μ (mu) (CANTAGREL N., 2007). La morphine exerce son action spinale en se fixant sur les récepteurs μ opioïdergiques. Elle potentialise ainsi l'effet des endomorphines naturelles (les enképhalines). Ces substances au niveau de ces récepteurs μ inhibent la libération de la substance P ce qui bloque de la transmission des messages nociceptifs vers les centres supérieurs. L'action supra-spinale de la morphine quant à elle participe à la modification de la perception de la sensation douloureuse et au renforcement des contrôles inhibiteurs descendants (MONASSIER L. et MULLER A., 2012 ; HAJJ A., 2012).

A côté de ces traitements purement analgésiques, il existe d'autres médicaments appelés les co-analgésiques qui favorisent l'action des analgésiques si les analgésiques périphériques et centraux n'omettent pas la sensation de douleur: ce sont les antidépresseurs tricycliques et les antiépileptiques ou anticonvulsivants (BRUGUEROLLE B. et coll., 2005 ; SCHWALD R., 2007GATT M.T., 2007 ; SAUSSAC J., 2012). Les antidépresseurs sont les plus utilisés pour traiter les douleurs neurogènes en bloquant la recapture des monoamines (sérotonine et/ou noradrénaline), renforçant ainsi les contrôles inhibiteurs descendants par blocage des récepteurs NMDA et des canaux sodiques ; par leur propre action sur le système opioïde endogène et par le métabolisme de la substance P impliquée dans la transmission de l'influx douloureux (SCHWALD R., 2007 ; MONASSIER L. et MULLER A., 2012). L'imipramine et la clomipramine sont des antidépresseurs possédant une activité analgésique indépendante de leurs activités antidépressives (SCHWALD R., 2007). Ils ont une action centrale sur les voies sérotoninergiques et noradrénergiques en inhibant la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline. Cette inhibition augmente l'activité des récepteurs opioïdes et bloque la transmission du message douloureux (BRUGUEROLLE B. et coll., 2005 ; SCHWALD R., 2007 ; MONASSIER L. et MULLER A., 2012).

Les scientifiques des laboratoires pharmaceutiques ont élaborés un moyen de remédier à la douleur en atténuant ou en supprimant sa sensation et sa perception. Dans les pays développés plus de 80% de la population utilisent des analgésiques ce qui signifie que la sensation de douleur quel que soit la cause ou l'origine est significative (DELGADO O.E., 2006).

À Madagascar, le traitement de la douleur ne semble pas être une priorité mais est classé parmi les symptômes d'une maladie. Dans ce cas, l'utilisation des analgésiques devient un complément médicamenteux mais non pas un traitement propre.

Il existe des plantes qui possèdent une activité analgésique. A Madagascar, le *Vahimantsina* (liane puante) appartenant à la famille des RUBIACEES est utilisé contre les rages dentaires (RAMANAMPAMAHARANA R. et coll., 2010). En cas de douleurs articulaires : *Capsicum frutescens (pilipily)* de la famille des SOLANACEES est écrasé et appliqué sur la zone douloureuse (BOITEAU P. et ALLORGEBOITEAU L. 1993). En cas de foulure les feuilles de *Kalanchoe pinnata (sodifafana)* sont utilisées comme cataplasme (JEAN-PIERRE N., 2012). Pour les règles douloureuses : la décoction de *Desmodium (Rakopetaka ou Mandalodiaraikitra)* de la famille des PAPILIONACEES (RABESA Z. et coll., 1986). Les feuilles de *Jatropha curcas (valavelona)* de la famille des EUPHORBIACEES sont préparées en infusion pour soulager la maux de tête (RABESA Z. et coll., 1986). Ces plantes sont utilisées dans la médecine traditionnelle malgache pour soulager la douleur.

L'excès de nociception constitue la majorité des cas de douleur observée. En effet, elle semble plus concrète due au fait qu'elle est provoquée par des causes comme un pincement ou encore une brûlure c'est-à-dire des stimulations physiques que ce soit mécanique, thermique ou chimique. La douleur par excès de nociception peut être définie comme une réaction nociceptive exagérée provoquée par ces stimulations, donc une sensation de douleur intense et durable qui est nocif pour l'organisme. Cette pathologie a surtout des répercussions périphériques au niveau de la réception de ces stimuli car les nocicepteurs sont excessivement stimulés. Mais aussi des répercussions centrales sur la transmission de l'influx douloureux par les fibres nerveuses qui se trouve amplifié entraînant une perception de la douleur plus intensifiée. Les analgésiques doivent alors agir soit au niveau périphérique, soit au niveau central en inhibant la transmission du message douloureux au centre nerveux pour qu'il ne soit pas perçu. Ainsi, a été établie pour cette forme pathologique une étude pharmacologique basée sur l'observation de l'effet analgésique d'un extrait sur un modèle animal (souris).

La plante qui fait l'objet de ce mémoire provient de la région d'Analamanga. Elle est utilisée en décocté pour traiter les rages dentaires sous forme de bain de bouche. Un décocté de sa racine est également utilisé pour diminuer les gonflements tissulaires lors d'une foulure en trempant la partie atteinte dans le décocté.

Notre objectif est d'étudier l'effet analgésique périphérique et central de l'extrait de cette plante. Son activité analgésique périphérique a été étudiée en appliquant un stimulus chimique sous l'aponévrose plantaire de l'animal (REN K. et DUBNER R., 1999). Tandis que l'effet analgésique central a été étudié en appliquant un stimulus thermique au niveau de la queue de l'animal et en appliquant un stimulus mécanique sur la patte de l'animal à l'aide d'un algésimètre) afin de stimuler les centres spinaux et supra-spinaux sans stimuler les nocicepteurs en jouant sur les réflexes de l'animal face à la chaleur (JASSENN P.A.J. et coll., 1963 ; ELHABAIZI K. et coll., 2014).

MATERIELS

ET

METHODES

MATERIELS ET METHODES

A- PARTIE CHIMIQUE

1. Préparation de l'extrait

Les racines de la plante codée CCA ont été récoltées dans la région d'Analamanga en novembre 2014. Elles ont été séchées à l'ombre, à la température ambiante et à l'air libre pendant 3 mois. Les racines séchées ont été broyées avec un broyeur à marteau en poudre fine. La poudre obtenue a été macérée à froid dans un mélange Ethanol - Eau (60 :40) pendant une semaine à la température ambiante.

Le macérât a été filtré sur du papier wattmann et le filtrat ainsi obtenu a été évaporé à sec sous vide à l'aide d'un rotavapor BÜCHI® à la température de 80°C. L'extrait brut hydroalcoolique obtenu a été codé CCA, puis pesé et le rendement de l'extraction a été calculé à partir de la formule :

$$R\% = \frac{\text{masse du produit final}}{\text{masse du produit initial}} \times 100$$

2. Criblage phytochimique

Pour déterminer les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait CCA, plusieurs réactifs spécifiques à chaque famille ont été utilisés. La présence de précipité, de coloration ou la formation de mousse après agitation marque la présence d'une des familles chimique présente dans l'extrait (IGAN C., 1982 ; VIJISTELLA B.G. et coll., 2014) (Tableau 1).

Afin de déterminer la teneur de ces familles chimiques dans l'extrait, les signes suivant ont été utilisés :

+++ : Présence en forte teneur

++ : Présence en moyenne teneur

+ : Présence en faible teneur

± : présence en très faible teneur

Tableau I: Les tests utilisés pour la détermination des grandes familles chimiques présentes dans l'extrait CCA (IGAN C., 1982 ; VIJISTELLA B.G. et coll., 2014).

FAMILLE CHIMIQUES	TESTS	REACTIFS	REACTION POSITIVE
ACLCALOIDES	-WAGNER -MAYER -DRAGENDORFF		Précipité
TANNINS		-gélatine + NaCl -gélatine + FeCl3MeOH	Précipité vert Précipité bleue
COMPOSES PHENOLIQUES		-gélatine 1%	Précipité
STEROIDES ET TRITERPENES	LIBERMAN BURCHARD	Anhydride acétique	Coloration pourpre Coloration violet ou bleue
	SALKOWSKI	+ H2(SO4) H2SO4	Anneau de séparation rouge
DESOXY-2-SUCRE	KELLER KILLIANI	FeCl3 10% + acide acétique glacial	Anneau de séparation rouge
FLAVONOÏDES	WIL-STATER	Ruban de Mg + HCl concentré	Coloration rouge : flavones Coloration violacée : flavanones Coloration rouge à pourpre : flavonols
LEUCOANTHOCYANES ANTHOCYANES	BATH - SMITH	HCl concentré + bain marie HCl à froid	Rouge violacée Rouge
POLYSACCHARIDES		+3 v d'éthanol	Trouble
SUCRES REDUCTEURS		Liqueur de Fehling	Précipité rouge brique
SUCRES RARES	PESEZ	Xanthydrol	Coloration rouge carmine
COUMARINES		NaOH 10 %	Fluorescence à l'UV
SAPONINES	MOUSSE	Agitation + HCl	Mousse après 30mn d'agitation

B-TESTS PHARMACOLOGIQUES

L’activité analgésique centrale et périphérique de l’extrait CCA a été étudiée pour mettre en évidence son activité analgésique.

1. Les animaux utilisés

Des souris de race SWISS femelles, âgées de 3 mois et pesant entre 20 et 25 grammes ont été utilisées. Elles ont été élevées à l’animalerie du Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie, à la Faculté des Sciences, Université d’Antananarivo. Ces souris ont été nourries avec de la provende LFL et ont eu libre accès à l’eau. Elles ont été soumises à un cycle de lumière et obscurité de 12h/12h et à la température de 27°C environ.

2. Étude de l’activité analgésique centrale de l’extrait CCA

L’activité analgésique centrale de l’extrait CCA a été étudiée en appliquant un stimulus thermique au niveau de la queue de la souris (JAYANTHI M.K. et JYOTI M.B., 2012), et en appliquant une pression croissante sur la queue de la souris (ELHABAIZI K. et coll., 2014).

2.1 Étude de l’activité de l’extrait CCA face à la douleur provoquée par la chaleur

L’activité analgésique centrale de l’extrait CCA a été étudiée en immergeant la queue de la souris dans un bain thermostaté à 50°C.

Neuf souris ont été mises à jeun 14 heures avant le test. Elles ont été réparties en trois lots de trois souris : les animaux du premier lot ont reçu de l’eau distillée à raison de 10ml/kg témoin, et ils ont été pris comme témoins. Les animaux des deux autres lots ont été traités respectivement avec l’extrait CCA aux doses de 400 et 800 mg/kg par voie orale. Ces différents produits ont été administrés par voie orale dans un volume de 10 ml/Kg (ALLCHORNE A.J. et coll., 2005).

Quinze minutes après administration des produits, l’animal a été immobilisé dans une boîte au-dessus du bain thermostaté et 3 cm à partir de la partie distale de sa queue a été immergé dans le bain (Figure 1) (ALLCHORNE A.J. et coll., 2005). Le temps qu’a mis l’animal pour retirer sa queue de l’eau chaude a été chronométré à 15, 30, 45, 60, 90, 120 minutes après administration des produits. Pour éviter des dommages tissulaires, le temps maximal d’immersion de la queue des souris a été fixé à 15 secondes (JAYANTHI M.K. et JYOTI M.B., 2012 ; PURMA A.R. et VENKATESHWARA J.R., 2013). L’activité analgésique centrale de l’extrait a été déterminée par le temps de retrait de la queue du bain, chez les souris des lots traitées par rapport à celui des souris du lot témoin.

L'effet analgésique central de l'extrait CCA se traduit par une augmentation du temps de réaction face à la douleur provoquée par la chaleur chez les souris traitées par rapport aux souris du lot témoin. L'inhibition de la sensation de douleur de l'extrait CCA a été déterminée par la formule suivante :

$$\text{Inhibition de la perception de la douleur (\%)} = \frac{T \text{ traité} - T \text{ témoin}}{15 - T \text{ témoin}} \times 100$$

(IDID S. Z. et coll., 1998)

T témoin : temps de latence de réaction des animaux du lot témoin (en secondes)

T traité : temps de latence de réaction des animaux du lot traité (en secondes).

15 : 15 secondes imposé comme temps maximal de l'immersion de la queue de l'animal dans l'eau chaude.



Figure 1. Immersion de la queue de la souris dans un bain thermostaté à 50°C.

2.2 Étude de l'activité de l'extrait CCA sur la douleur provoquée par une pression sur la queue

L'activité centrale de l'extrait CCA a été étudiée avec le test de « tail-flik » en appliquant une pression croissante au niveau de la queue de la souris à l'aide d'un algésimètre (Figure 2) (ELHABAIZI K. et coll., 2014).

Neuf souris ont été mises à jeun 14 heures avant le test. Elles ont été réparties en trois lots de trois souris : un lot témoin dont les animaux ont reçu de l'eau distillée à raison de 10ml/kg, et deux lots traités avec l'extrait CCA respectivement aux doses de 400 et 800 mg/kg. Ces différents produits ont été administrés par voie orale dans un volume de 10 ml/Kg (ELHABAIZI K. et coll., 2014).

Quinze minutes après administration des produits, la souris été placée sur l’algésimètre et sa queue a été immobilisée entre la plateforme et la pointe émoussée de l’algésimètre (Figure 3). À partir de cette pression initiale notée 0, une pression croissante a été exercée sur la queue de l’animal jusqu’à ce qu’il réagisse en retirant sa queue. Cette mesure a été effectuée à 15, 30, 45, 60, 90,120 minutes après administration des produits avec un intervalle de 30 secondes sur la partie proximale, médiane et distale de la queue de chaque souris, la moyenne entre ces trois valeurs a été considérée comme pression supportée par la souris. La pression supportée par les souris des lots traités a été comparée à celui du lot témoin (ELHABAIZI K. et coll., 2012).

L’activité analgésique centrale de l’extrait a été déterminée par la pression supportée par la queue des souris chez les souris des lots traités par rapport aux souris du lot témoin. La pression exercée sur la patte du rat a été calculée selon les formules suivantes (LE PARC G. et BRIAND P., 2010):

Pression (Pa) = poids (N)/ Surface de l'aiguille (mm²)

Avec Poids (N) = masse (kg) × pesanteur g (N/kg)

Surface de l'aiguille (mm²): 0,785 mm²

Pesanteur g (N/kg) : 9,81 N/Kg

L’effet analgésique central de l’extrait CCA se traduit par une augmentation de la pression supportée par la queue de l’animal chez les souris traitées par rapport aux souris du lot témoin.

L’inhibition de la perception de la douleur a été obtenue en utilisant la formule:

Inhibition de la perception de la douleur (%) = $\frac{PT-Pt}{Pt} \times 100$

(VOGEL G. H. et coll., 2002)

Pt : pression supportée par les animaux du lot témoin

PT : pression supportée par les animaux du lot traité



Figure 2. Schéma d'un algésimètre



Figure 3. Application de d'une pression sur la queue de la souris avec l'aiguille de l'algésimètre.

3. Etude de l'activité analgésique périphérique de l'extrait CCA par une douleur provoquée par l'injection de formaldéhyde sous aponévrose plantaire.

L'activité périphérique de l'extrait CCA a été étudiée sur la douleur inflammatoire provoquée par l'injection de formaldéhyde à 2,5% sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure de la souris (BARDIN L. et coll., 2009).

Neuf souris ont été mises à jeun 14 heures avant le test. Elles ont été réparties en trois lots de trois souris : un lot témoin dont les animaux ont reçu de l'eau distillée à raison de 10ml/kg, et deux lots traités avec l'extrait CCA aux doses de 400 et 800 mg/kg par voie orale. Ces différents produits ont été administrés par voie orale dont le volume à administrer a été fixé à 10 ml/Kg (MOHAMMAD Z.I. et CHANDRA D.S., 2014).

Trente minutes après administration de ces produits, 50µl de solution de formaldéhyde à 2,5% ont été injectés sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure de la souris (BARDIN L. et coll., 2009). Les souris ont été ensuite placées séparément dans des cages en plexiglas. La réaction de la souris face à la douleur provoquée par l'injection de formaldéhyde est caractérisée par un léchage, une morsure ou un secouement de sa patte endolori (Figure 4). La durée de la réaction de l'animal a été notée pendant les deux intervalles de temps : 0-5 minutes puis de 20-45 minutes après, injection pour le lot traité et le lot témoin. L'activité périphérique de l'extrait a été déterminée par la durée de ces réactions chez les souris des lots

traités par rapport à celle du lot témoin dans la deuxième phase (LE BARS D. et coll., 2001 ; OEDRAOGO N. et coll., 2012 ; MOHAMMAD Z.I. et CHANDRA D.S., 2014).

L'effet d'un analgésique se traduit par une diminution de la durée de réaction après injection de formaldéhyde pour les souris ayant reçu l'extrait par rapport aux souris du lot témoin. L'inhibition de la perception de la douleur a été calculée suivant la formule:

$$\text{Inhibition de la perception de la douleur (\%)} = \frac{T_{\text{témoin}} - T_{\text{traité}}}{T_{\text{témoin}}} \times 100$$

(DIARRA M.D., 2006).

T traité : Temps de léchage de la patte enflammée des animaux du lot traité.

T témoin : Temps de léchage de la patte enflammée des animaux du lot témoin.



Figure 4. Réaction de léchage et de morsure de la patte enflammée de la souris.

RESULTATS

RESULTATS

A-PARTIE CHIMIQUE

1. Rendement de l'extraction

Après extraction de 500g de poudre de la plante avec un mélange éthanol-eau (60 :40), 23g d'extrait CCA ont été obtenus, ce qui donne un rendement de 4,6%. L'extrait CCA à une couleur verdâtre et un aspect poudreux.

2. Résultats du criblage phytochimique

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait CCA révèle la présence d'alcaloïdes et de sucres réducteurs en forte teneur, des terpénoides et des stéroïdes en moyenne concentration, et une faible teneur en tannins, de polyphenol et de flavonoïdes et de très faible teneur en sucres rares dans l'extrait CCA (tableau II).

Tableau II. Résultats du criblage phytochimique de l'extrait CCA.

FAMILLE CHIMIQUE	TENEUR
ALCALOIDES	+++
SUCRES REDUCTEURS	+++
TERPENOÏDES	++
STEROIDES	++
TANNINS	+
POLYPHENOL	+
FLAVONES	+
FLAVONOLS	+
SAPONINES	+
POLYSACCHARIDES	+
ANTHOCYANES	+
SUCRES RARES	+/-

B- PARTIE PHARMACOLOGIQUE

1. Activité analgésique centrale de l'extrait CCA

1.1 Effet de l'extrait CCA sur la douleur provoquée par la chaleur

L'immersion de la queue des souris dans un bain thermostaté à 50°C provoque une douleur à laquelle la souris réagit en retirant sa queue hors de l'eau chaude. Le temps de retrait de la queue est constant pendant le temps d'observation chez les souris du lot témoin. Tandis que le temps de latence de réaction des souris ayant reçu l'extrait CCA à la dose de 400mg/kg et 800mg/kg augmente par rapport à celui des souris du lot témoin.

A partir de la 15^{ème} minutes après l'administration de l'extrait CCA, le temps de retrait de la queue des souris augmente que ce soit chez ceux qui ont reçu la dose de 400mg/kg ou 800mg/kg par rapport au témoin. Cet effet est maximal à la 45^{ème} minute et régresse à partir de la 60^{ème} minutes et disparait à la 120^{ème} minute.

À la 30^{ème} minute le temps de latence du retrait de la queue des souris traité avec l'extrait CCA à la dose de 400mg/kg est de $4,33 \pm 0,2$ secondes soit une inhibition de 22,11% et 24,3% à la dose de 800mg/kg avec $4,63 \pm 0,6$ secondes de temps de retraitement de la queue, contre $1,3 \pm 0,2$ secondes chez les souris du lot témoin ($p < 0,05$). À la 45^{ème} minute, l'inhibition de la douleur est maximale, elle est égale à 30,95% et 38,41% pour les doses de 400 et 800mg/kg respectivement. Les souris retirent leur queue au bout de $6,30 \pm 1,03$ secondes et $7,24 \pm 0,56$ secondes, respectivement à la dose de 400mg/kg et 800mg/kg contre $2,4 \pm 1,71$ pour les souris du lot témoin ($p < 0,05$). Au-delà de cet effet maximal l'activité de l'extrait CCA diminue jusqu'à la dissipation de son effet à partir de la 60^{ème} minutes avec un temps de réaction égale à $3,88 \pm 0,16$ secondes pour le lot traité à la dose de 400mg/kg et $3,78 \pm 0,1$ secondes à la dose de 800mg/kg soit 18,59% et 17,86% d'inhibition de la douleur par rapport au témoin qui réagit au bout de $2,1 \pm 0,7$ secondes (figure 5).

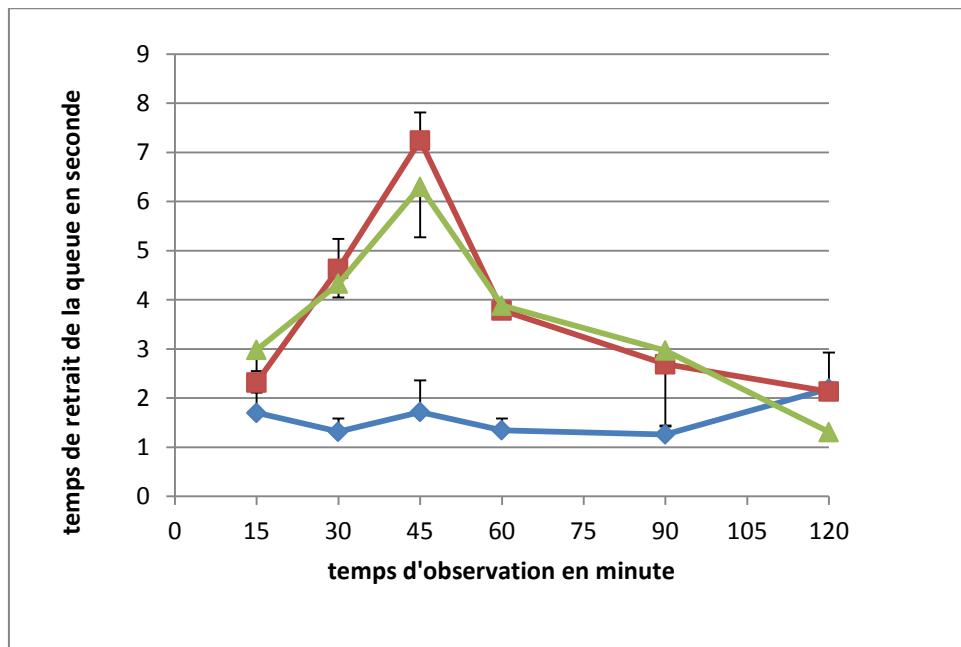


Figure 5. Temps de retrait de la queue de la souris du bain thermostaté à 50°C en fonction du temps d'observation après administration de l'extrait CCA à la dose de 400mg/kg (▲) et 800mg/kg (■) par voie orale par rapport au témoin (◆) ($m \pm e.s.m$; $n=3$; $p<0,05$).

1.2 Effet de l'extrait CCA sur une douleur provoquée par une pression sur la queue.

Face à la douleur induite par la pression appliquée sur leur queue, les souris réagissent en essayant de la retirer. L'extrait CCA augmente le seuil de douleur supportée par la queue des souris qui se traduit par une augmentation de la pression exercée sur la queue des souris ayant reçu l'extrait par rapport aux témoins.

À la 15^{ème} minute, la pression qui fait réagir les souris du lot témoin est égale à $1,15 \pm 0,05 \times 10^6$ Pa, contre $1,55 \pm 0,05 \times 10^6$ Pa et $1,93 \pm 0,02 \times 10^6$ Pa chez les souris traitées respectivement avec la dose de 400mg/kg et 800 mg/kg ($p<0,05$). Soit à une inhibition de la sensation douloureuse de 35% à la dose de 400mg/kg et 83,75% à la dose de 800mg/kg ($p<0,05$).

Quarante-cinq minutes après administration de l'extrait CCA, à la dose de 400mg/kg, la pression supportée par la queue des souris est maximale. Elle est égale à $2,25 \pm 0,13 \times 10^6$ Pa et $2,53 \pm 0,07 \times 10^6$ Pa à la dose de 800mg/kg, ce qui correspond respectivement à une inhibition de la sensation de la douleur de 77,88 % et 106,43 % avec la dose de 400mg/kg et 800mg/kg ($p<0,05$).

Cette inhibition persiste jusqu'à la 90^{ème} minute. A la dose de 400mg/kg la pression supportée par la queue de la souris égale à $1,76 \pm 0,29 \times 10^6$ Pa et $2,27 \pm 0,06 \times 10^6$ Pa à la dose de

800mg/kg correspondant respectivement pour chaque dose à 41,93% et 82,25% d'inhibition de la sensation de douleur par rapport au témoin ($1,24 \pm 0,04 \text{ } 10^6 \text{ Pa}$) ($p<0,05$). (Figure 6).

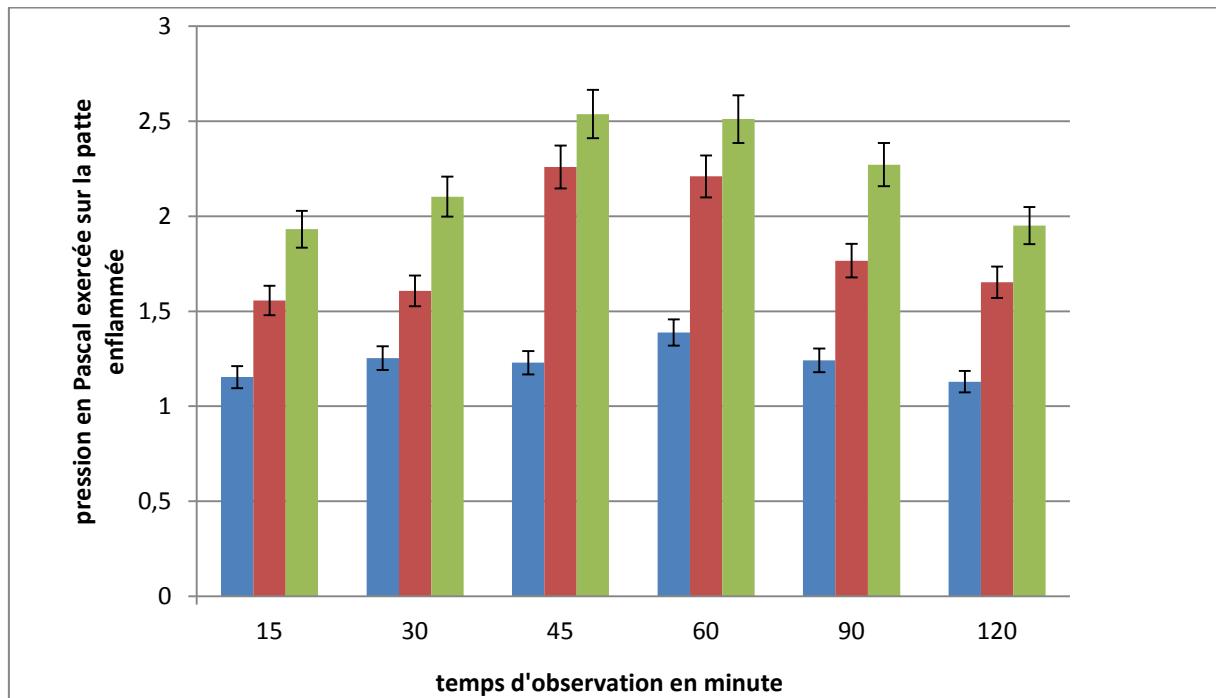


Figure 6. Variation de la pression en Pascal supportée par la queue de la souris en fonction du temps d'observation après administration de l'extrait CCA à la dose de 400 mg/kg (■) et 800mg/kg (■) par voie orale par rapport au témoin (■) ($m \pm \text{e.s.m}$; $n=3$; $p<0,05$).

2. Effet de l'extrait CCA sur la douleur induite par une injection de formaldéhyde sous aponévrose plantaire chez la souris.

L'injection de formaldéhyde à 2,5% sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure de la souris provoque une inflammation douloureuse entraînant des réactions de léchage, de morsures ou de secouement de la patte endolorie. Ces réactions présentent 2 phases : entre 0-5 minutes et 20-45 minutes. L'extrait CCA diminue le temps de léchage et de morsure de la patte enflammée pendant ces deux phases.

Pour le lot témoin, la durée de léchage de la patte endolorie dans la première phase est de $105,33 \pm 4,93$ secondes. A la dose de 400mg/kg, l'extrait CCA diminue ce temps à $70,66 \pm 19,50$ secondes avec 49,06% d'inhibition de la perception de la douleur, et $53 \pm 14,42$ secondes à la dose de 800mg/kg, soit une inhibition de 48,03% de la douleur ($p<0,05$).

Dans la phase tardive, la durée de réaction des souris du lot témoin est de $186,66 \pm 39,69$ secondes contre $102 \pm 14,73$ secondes chez les souris traitées avec l'extrait CCA à la dose de 400mg/kg et $55,66 \pm 2,11$ secondes chez les souris traitées avec l'extrait CCA à la dose de 800mg/kg , soit une inhibition respective de 45,3 et 70,18% ($p<0,05$) pendant la deuxième phase (figure 7).

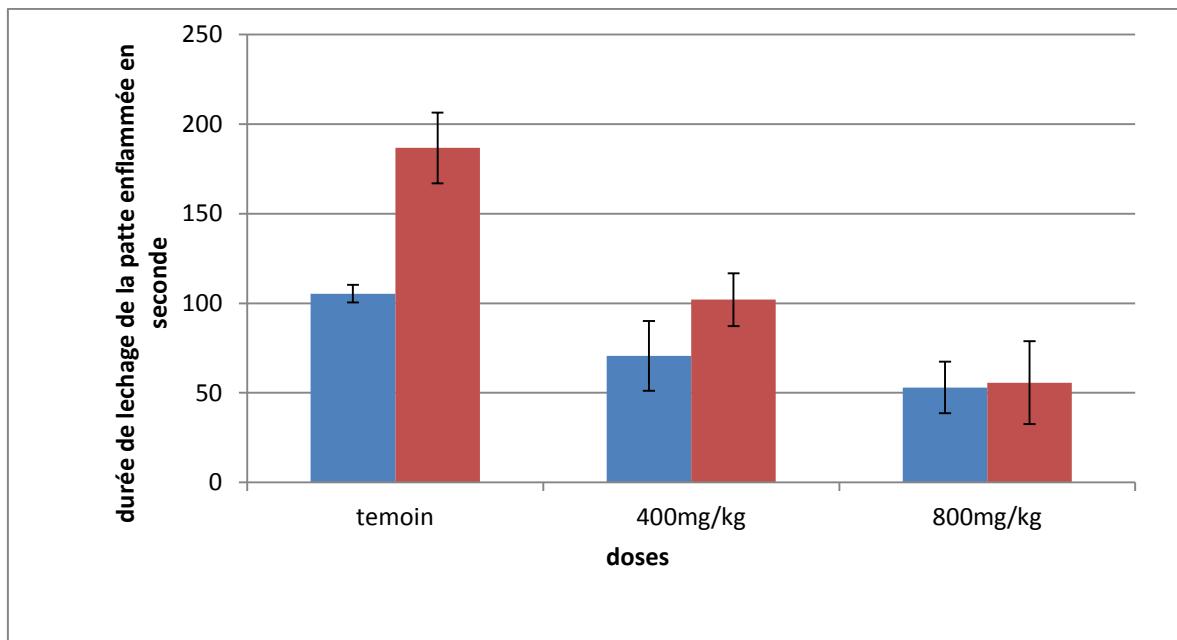


Figure 7. Variation de la durée de léchage et de morsures de la patte des souris après injection de formaldéhyde à 2,5% sous l'aponévrose plantaire chez les souris traitées avec l'extrait CCA à la dose de 400mg/kg et 800mg/kg par voie orale par rapport aux souris du lot témoin durant les deux phases de réaction de 0-5 minutes (■), de 20-45 minutes (■) ($m \pm e.s.m$; $n=3$; $p<0,05$).

DISCUSSION

DISCUSSION

L'objet de ce travail a été de mettre en évidence l'activité de l'extrait CCA chez les souris en tant qu'analgésique. Cette activité a été étudiée en immergeant la queue de la souris dans l'eau chaude et en appliquant une pression sur la queue de la souris pour étudier son activité analgésique centrale (ELHABAIZI K. et coll., 2014 ; HASAN M. et coll., 2014). Tandis que son effet analgésique périphérique a été étudié en injectant du formaldéhyde sous l'aponévrose plantaire de la souris (TAHERIAN A. A. et coll., 2009 ; ADEYEMI O.O. et coll., 2011).

D'après nos résultats, l'administration de l'extrait CCA par voie orale, augmente le temps de retrait de la queue immergée dans l'eau chaude et le seuil de sensibilité de la queue de la souris face à une pression croissante. Ces résultats signifient que l'extrait possède une activité analgésique centrale (JAYANTHI M.K. et JYOTI M.B., 2012 ; K. et coll., 2014).

Le retraitement de la queue ou le cri de la souris suite à l'immersion de sa queue dans l'eau chaude ou l'application d'une pression sur sa queue est un réflexe spinal. Ces stimuli agissent sur les nocicepteurs associées aux fibres nerveuses (ELHABAIZI K. et coll., 2012) et génèrent un influx douloureux sous forme de potentiel d'action acheminé vers le système nerveux central pour y être perçu ce qui entraîne les réflexes sus mentionnés (LE BARS D. et coll., 2001; PERAGUT J.C. et ROUSSEL P., 2006). L'augmentation du temps de latence de retraitement de la queue et l'augmentation de la pression supportée par la queue de la souris signifient que le réflexe de l'animal est retardé autrement dit la perception de la sensation douleur est inhibée et que l'extrait CCA possède une activité analgésique centrale en occupant éventuellement les récepteurs opioïdes (JAYANTHI M.K. et JYOTI M.B., 2012 ; HAJJ A., 2012). Le stimulus thermique active les récepteurs opioïdes mu (μ) tandis que la pression stimule les récepteurs opioïdes kappa (κ) (HAYES A. G. et coll., 1987).

Des études effectuées sur *Mallotus Repandus* par HASAN M. et ces collaborateurs (2014) ont montré que son activité analgésique centrale serait due aux alcaloïdes qu'elle contient. Ces familles chimiques agiraient au niveau des récepteurs opioïdes. D'autre part, ABID M. et ses collaborateurs (2013) ont travaillé sur l'extrait d'*Artemisia Annua* et TAHERIAN A. A. et ses collaborateurs (2009) sur l'extrait de *Thymus vulgaris* ont montré que les flavonoïdes sont responsables de l'activité analgésique de ces plantes en se fixant sur les récepteurs opioïdes. Ces molécules se fixent sur les récepteurs opioïdes mu et kappa et bloqueraient la transmission de l'influx douloureux vers le système nerveux central responsable de la perception de la douleur ce qui explique l'inhibition de la sensation douloureuse (HAYES A. G. et coll., 1987 ; ABID

M. et coll., 2013). La présence d'alcaloïdes et de flavonoïdes dans l'extrait CCA suggère que son activité analgésique centrale pourrait être due à ces familles chimiques.

L'injection de formaldéhyde sous l'aponévrose plantaire de la souris provoque un réflexe de léchage ou de morsure de la patte enflammée (ADEYEMI O.O. et coll., 2011).

L'administration par voie orale de l'extrait CCA diminue le temps de léchage de la patte enflammée, ce qui signifie que la perception de la douleur chez la souris a diminué. Le formaldéhyde injecté sous l'aponévrose plantaire des souris provoque une réaction inflammatoire en deux phases : une phase précoce correspondant à la stimulation directe des fibres nociceptives C suite à la libération de la bradykinine et de la substance P et une phase tardive correspondant à la libération de la prostaglandine, de l'histamine et de la sérotonine qui diminuent le seuil d'activation des nocicepteurs induisant la douleur inflammatoire (OUEDRAOGO N. et coll., 2012 ; TAHERIAN A. A. et coll., 2009 ; ADEYEMI O.O. et coll., 2011). Les analgésiques périphériques inhibent la phase tardive (OUEDRAOGO N. et coll., 2012), et les analgésiques centraux inhibent ces deux phases nociceptives (OUEDRAOGO N. et coll., 2012 ; VINOTH P. V. et coll., 2011). D'après nos résultats, l'extrait CCA diminue le temps de léchage et de morsures de la patte enflammée dans les deux phases, c'est-à-dire qu'il possède une activité analgésique périphérique et centrale. L'activité analgésique périphérique de l'extrait serait due à l'inhibition de la stimulation des nocicepteurs par ces substances algogènes et provoquerait l'augmentation de leur seuil d'activation. Ce test montre que l'extrait CCA agirait au niveau des nocicepteurs et confirment également son activité analgésique centrale mise en évidence avec les tests utilisant les stimuli thermique et pression sur la queue de la souris.

TAHERIAN A. A. et ses collaborateurs (2012) ont également utilisé du formaldéhyde pour étudier l'effet analgésique de l'extrait hydroalcoolique de *Coriandrum Sativum*, et ils ont trouvé que l'extrait agit sur les deux phases. Ils en ont conclu que cet extrait possède une activité analgésique centrale en agissant sur la modulation de la perception de la douleur en stimulant le système opioïde et une activité analgésique périphérique en inhibant la production de prostaglandines. Selon eux, la présence de flavonoïdes dans l'extrait serait responsable de cet effet (OUEDRAOGO N. et coll., 2012 ; TAHERIAN A. A. et coll., 2012 ; VINOTH P. V. et coll., 2011). Selon ADEYEMI O. O. et coll. (2011), les alcaloïdes présents dans l'extrait de *Hunteria umbellata* inhibent la perception de la douleur, en agissant au niveau périphérique et central (ADEYEMI O. O. et coll., 2011 ; SRIVASTAVA A. et coll., 2011). Des études *in vitro* effectuées avec l'extrait *Solanum surattense* par VIJAY A.L. et coll. (2015) et *Solanum melongena* par SRIVASTAVA A. et coll. (2011) ont montré que les

stéroïdes et les saponines dans ces extraits sont responsables de leur activité analgésique périphérique. Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait CCA révèle la présence de ces différentes familles chimiques (flavonoïdes, stéroïdes, saponines). L'activité analgésique de l'extrait CCA pourrait être due à l'inhibition de la synthèse de prostaglandines. Des études approfondies sur des molécules isolées présentes dans l'extrait CCA responsable de son activité analgésique apporteraient des précisions sur son mécanisme d'action.

CONCLUSION

CONCLUSION

Nos résultats montrent que l'extrait CCA possède une activité analgésique à la fois centrale et périphérique. Cette activité serait due à l'une ou plusieurs molécules appartenant à la famille des flavonoïdes, alcaloïdes, stéroïdes et saponines présentent dans l'extrait. Pour déterminer la ou les molécules actives dans l'extrait et d'étudier leur mécanisme d'action, il est nécessaire d'isoler les molécules responsables de son activité analgésique.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIES

ABID M., ANUPAM K., KHAN N. A., ISLAM G., GAHLOT K., GHOSH A. K. (2013).

Pharmacological evaluation of *Atremisia annua* for antinociceptive activity in rats.

J. Appl. Pharmac. Sci., **3**(5): 61- 64.

ADEYEMI O. O., ADENEYE A. A., ALABI T. E. (2011).

Analgesic activity of the aqueous seed extract of *Hunteria umbellata* in rodents.

Ind. J. Pharmacol. Exp. Biol., **49**(9): 698-703.

ALLCHORNE A.J., BROOM D.C., WOOLF C.J. (2005).

Detection of cold pain, cold allodynia and cold hyperalgesia in freely behaving rats.

Mol. Pain., **2**: 1-7.

BARDIN L., MALFETES N., NEWMANN T. A., DEPOORTERE R. (2009).

Chronic restraint stress induces mechanical and cold allodynia, and enhances inflammatory pain in rat: Relevance to human stress-associated painful pathologies.

J.Behav.Brain.Res., **205**: 360–366.

BECAMEL C. (2007).

La douleur régulation de la nociception.

Rev. Faculté de pharmacie Montpellier I et II (France), 5-20.

BOUTET M. (2010).

Evaluation de protocoles analgésiques pour la prise en charge de la douleur périopératoire lors d'ovariectomie de chatte.

Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire.

Université Paul-Sabatier de Toulouse (France), 19-20.

BRUGUEROLLE B. DELARQUE A., DUDOI P., GIEU S.R., MICALLEF J., MOULY-BANDINI A., PERAGUT J.C. et ROUSSEL P. (2005).

Thérapeutiques antalgiques médicamenteuses et non médicamenteuses.

Rev. Faculté de Médecine de Marseille, **66**: 8-22.

CASTEL H. (2009).

L'hyperalgésie induite par les morphiniques : une synthèse des connaissances actuelles.

Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire.

Université Paul-Sabatier de Toulouse (France), 1-25.

CATUDAL A.M., VEILLEUX-LEMIEUX D. (2013).

Analgésie chez les animaux de laboratoire.

Rev. Université Laval (Quebec), 1-24.

CHAMONTIN B., CANTAGREL N. (2007).

Traitements des douleurs par excès de nociception.

2nd Ed. Springer-Verlag (France), chap4 : les antalgiques non opioïdes et les antalgiques opioïdergiques, 112- 123.

COFER (Collège Français des Enseignants en Rhumatologie) (2011).

Bases neurophysiologiques et évaluation d'une douleur aiguë et chronique.

Rev. Université de Paris (France), 1-6.

DELGADO O.E. (2006).

Etude de l'induction de ΔFosB dans la moelle épinière lors d'une stimulation nociceptive de type inflammatoire et de ses relations avec nNOS.

Thèse de doctorat. Faculté des Sciences de la Vie, école doctorale neuroscience.

Université de Louis Pasteur (Strasbourg), 71-90.

DIARRA M.D. (2006).

Etude de la phytochimie et des activités biologiques d'une recette traditionnelle utilisée dans le traitement de l'hypertrophie bénigne de la prostate au Mali.

Thèse de doctorat à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Université de Bamako (Mali), 90-91.

ELHABAIZI K., AYACHI S., ILIEN B., SIMONIN F. (2014).

Assessment of Morphine-induced Hyperalgesia and Analgesic Tolerance in Mice Using Thermal and Mechanical Nociceptive Modalities.

J. Vis. Exp., **89**: 1-10.

FONZO-CHRISTE C. (2006).

Les analgésiques.

Rev. Faculté de Pharmacie (Genève), **2**: 1-7.

GATT M.T. (2007).

Neurophysiologie de la douleur.

Mod. Pharma., **4**: 1-5.

GUIRIMAND F. (2003).

Physiologie de la douleur: données récentes.

Rev. Serv. Anesth. Reanim., **24**(7): 401-407.

HAJJ A. (2012).

Recherche des facteurs génétiques intervenant dans la variabilité de la réponse aux opioïdes dans le traitement de la douleur et les traitements de substitutions.

Thèse de doctorat, école doctorale médicament toxicologie chimie environnement.

Université saint-joseph -Beyrouth- Liban, 16-92.

HASAN M., UDDIN N., HASAN R., A., ISLAM M., HOSSAIN M., RAHMAN A.B., HOSSAIN S., CHOWDHURY I.A., RANA S. (2014).

Analgesic and Anti-Inflammatory Activities of Leaf Extract of *Mallotus repandus* (Willd.) Muell. Arg.

Biomed. Res. Int., **10**: 2-6.

HAYES A. G., SHEEHAN M. J., TYERS M. B. (1987).

Differential sensitivity of models of antinociception in the rat, mouse and guinea-pig to IL- and K-opioid receptor agonists.

Br. J. Pharmacol., **91**: 823-832.

IDID S. Z., SAAD L. B., YAACOB H., SHAHIMI M. M. (1998).

Evaluation of analgesia induced by mitragynine, morphine and paracetamol in mice.

Rev. Biodiv. Envir. Conserv., **4**: 1-7.

IGAN C. (1982).

Practical manuals of the industrial utilization of medical plants and aromatical plants.
Rev. Faculty of Pharmacy, Bucharest Roumania., 1-34.

JAYANTHI M.K., JYOTI M.B. (2012).

Experimental animal studies on analgesic and antinociceptive activity of *Allium sativum* (Garlic) powder.
Ind. J.Res.Med.Sci., **2**(1): 2-3.

LAZORTHES J.C., SCHMITT L. (2006).

Sémiologie de la douleur évaluation et suivi d'une douleur chronique.
Ed. Hopitaux Universitaire de Genève (HUG) (Genève), 1-23.

LE BARS D., GOZARIU M., CADDEN S. W. (2001).

Animal Models of nociception.
Pharmacol. Rev., **53**(4): 597-652.

LE PARC G., BRIAND P. (2010).

Notions fondamentales, physiques.
Ed. Cned (France), Chap8. La pression, 82- 85.

MANN C. (2007).

Neurophysiologie de la douleur.
Rev. Faculté de médecine Montpellier-Nîmes (France), La Transmission du Message Douloureux., 1-5.

MARK M. (2006).

Les neurones et les tissus nerveux.
Rev.Inst.Genet.Biol.Mol., **3**: 1-10.

MAUROY J.C. (2000).

Bases physiopathologiques de la douleur.
Rev. Clinique du parc 84 bd des belges (Lyon), 1-15.

- MOHAMMAD Z.I., CHANDRA D.S. (2014).
Evaluation of antinociceptive activity of hydromethanol extracts of *cyperus rotundus* in mice.
Biomed.Cent.complement.Altern.Med., **14**(83): 1-5.
- MONASSIER L. (2005).
Les antalgiques non opiacés.
Rev.Faculté de Médecine de Strasbourg (France), **13**: 1-3.
- MONASSIER L., MULLER A. (2012).
Les analgésiques centraux.
Rev. Faculté de Médecine de Strasbourg (France), **23**: 1-20.
- MUIR, W.W., WOOLF, C.J. (2001).
Mechanisms of pain and their therapeutic implications.
J. Am. Vet. Med .Assoc., **48**(3): 2-9.
- OUEDRAOGO N., LOMPO M., SAWADOGO R.W., TIBIRI A., HAY A.E., KOUDOU J.,
DIJOUX M.G., GUISOU I.P. (2012).
Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus Poir.* (Fabaceae).
J. Sci. Pharm. Biol., **11**(1): 1-6.
- PAYEN J.F. (2002).
Bases physiopathologiques et évaluation de la douleur.
Rev. Faculté de Médecine de Grenoble (France), **65**: 1-15.
- PERAGUT J.C., ROUSSEL P. (2006).
Bases neurophysiologiques et évaluation d'une douleur aiguë et d'une douleur chronique.
Rev. Faculté de Médecine de Marseille, **65**: 1-10
- PIBAROT P., GRISNEAUX E. (1998).
Conséquences physiopathologiques de la douleur chirurgicale.
Prat. Med. Chir. Anim. Comp., **2**: 7.

PIGUET V. (2012).

Approche thérapeutique de différentes formes de douleur.

Rev. Hôpitaux Universitaire de Genève (HUG), 1-14.

PURMA A.R., VENKATESHWARA J.R. (2013).

Analgesic activity of *Lepidagathis cristata* wild flowers extracts.

Int.J.pharmac.sci, **2**(1): 1-3.

REN K., DUBNER R. (1999).

Modèles inflammatoires de la douleur et de l'hyperalgésie.

ILAR J., **40**(3): 111-118.

SABETGHADAM A., RAMANATHAN S., MANSOR M.S. (2010).

The evaluation of antinociceptive activity of alkaloid, methanolic, and aqueous extracts of Malaysian *Mitragyna speciosa* Korth leaves in rats.

Pharm. Res., **2**(3): 181–185.

SCHWALD R. (2007).

Douleurs neurophatiques.

Rev. Réseau d'Accompagnement des soins Palliatifs (ASPER) (France), **15**: 1-12.

SAULEAU P. (2007).

Physiologie de la douleur.

Rev.Serv.Explor.Fonct.Neurol., **2**: 12.

SAUSSAC J. (2012).

Prise en charge de la douleur.

Rev. Forum médical lyonnais (Lyon), **39**(1): 1-10.

SRIVASTAVA A., SANJAY Y. (2011).

Analgesic activity of root extract of *Solanum melongena* linn root.

Ind.J.Pharm.Res., **2**(5): 1615-1617.

TAHERIAN A. A., BABAEI M., VAFAEI A. A., JARRAHI M., JADIDI M., SADEGHI H. (2009).

Antinociceptive effects of hydroalcoholic extract of *Thymus vulgaris*.

Pak. J. Pharm. Sci., **22**(1): 83-89.

TAHERIAN A.A., VAFAEI A.A., AMERI J. (2012).

Opiate System Mediate the Antinociceptive Effects of *Coriandrum sativum* in Mice.

Iran. J. Pharm. Res., **11**(2): 679–688.

TOUTAIN P.L. (2009).

La physiologie de la douleur chez les animaux domestiques.

Rev.Ecole nationale de vétérinaire Toulouse, 5-7.

VIJAY A., SRINIVASAN N., ABBURI S. (2015).

Evaluating the Analgesic Efficacy of *Solanum surattense* (Herbal Seed Extract) in Relieving Pulpal Pain – An In-vivo Study.

Ind.J.Res, **5**(4): 1-5.

VIJISTELLA B.G., NANDHINI V.S. (2014).

Screening of phyto-chemical constituents, trace metal concentrations and antimicrobial efficiency of *Rauvolfia tetraphylla*.

Int. J. Pharm. Chem. Biol. Sci., **4**(1): 47-52.

VINOTH P.V., NALINI G., CHIDAMBARANATHAN N., SUDARSHAN K. S. (2011).

Evaluation of anti inflammatory and analgesic activity of *Tridax procumbens linn* against formalin, acetic acid and CFA induced pain models.

Int. J. Pharm. Sci., **3**(2): 126- 130.

VOGEL G. H., VOGEL H. W., SCHOLKENS B. A., SANDOW J., MULLER G., VOGEL F. W. (2002).

Drug discovery and evaluation.

2nd Ed. Springer-Verlag Berlin (Germany), Chap. H Analgesic, anti-inflammatory, and anti-pyretic activity, 670- 773.

« ETUDE DE L'ACTIVITE ANALGESIQUE DE L'EXTRAIT CCA CHEZ LA SOURIS »

Auteur : CHEN WA Cathy Anaïs

Adresse : Lot VB 72 E Bis AMBATOROKA

Année : 2014-2015

Rapporteur : Mr RANDIMBIVOLOLONA

Fanantenirainy, Professeur titulaire

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

B.P : 8357

E-mail : frandimbi@gmail.com

Domaine des sciences et technologies

Université d'Antananarivo

RESUME

Le but de ce travail a été d'étudier l'activité analgésique de l'extrait CCA chez la souris. L'activité centrale a été évaluée immergeant la queue dans un bain thermostaté à 50°C et le test de pression de la queue, tandis que l'injection de formaldéhyde à 2,5% a été utilisé pour étudier l'activité périphérique de CCA. L'administration de l'extrait CCA par voie orale aux doses de 400 et 800mg/kg prolonge le temps de retrait de la queue des souris immergée dans l'eau chaude avec 30,9 et 38,41% ($p<0.05$) d'inhibition de la perception de la douleur par rapport au lot témoin. D'autre part, il augmente la pression supporté par la queue des souris avec une inhibition de 77,8 et 106,43% ($p<0.05$) de la douleur. CCA réduit également la durée de léchages et de morsures des pattes endolories suite à l'injection de formaldéhyde sous apnéeplante pendant les deux phases de réponse, avec une inhibition de la sensation douloureuse respective de 49,06 et 45,35% à la dose de 400mg/kg et de 48,03 et 70,18% à la dose de 800mg/kg ($p<0.05$). Ces résultats montrent que l'extrait CCA possède une activité analgésique périphérique et centrale. Le criblage phytochimique révèle la présence de flavonoïdes, alcaloïdes, stéroïdes et saponines.

Mots clés : analgésique périphérique, analgésique centrale, douleur.

ABSTRACT

The analgesic activity of CCA extract was studied in mice. The central activity was evaluated using tail immersion test in hot water at 50°C increased and tail pressure, while the injection of 2.5% formalin was used to study peripheral activity of CCA extract. Oral administration of CCA extract at doses of 400mg/kg and 800mg/kg increases latency period of retirement of tail in hot water with 30.95 and 38.41% ($p<0.05$) inhibition of pain perception compared to control and it increases the pressure supported by the mice tail with 77.88 et 106.43% ($p<0.05$) inhibition of pain. CCA reduces the time for leacking and biting paw after formalin injection during both phases of response, with respectively 49.06 and 45.35% at the dose 400mg/kg and 48.03 and 70.18% at the dose 800mg/kg ($p<0.05$) inhibition of pain perception. These results show that the CCA extract possesses peripheral and central analgesic activity. The screening reveal presence of flavonoids, alcaloids, steroids and saponins.

Key words : peripheral analgesic, central analgesic, pain.