



**FACULTÉ DES SCIENCES
DOMAINE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES**

MENTION **PHYSIOLOGIE ANIMALE, PHARMACOLOGIE ET COSMÉTOLOGIE**
LABORATOIRE DE **PHARMACOLOGIE GÉNÉRALE, DE PHARMACOCINÉTIQUE**
ET DE **COSMÉTOLOGIE**

L.P.G.P.C

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master II

Option : PHARMACOLOGIE

ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ DIURÉTIQUE DE L'EXTRAIT AJN-07 CHEZ LE COCHON D'INDE

Présenté publiquement par : ANDRIANJAFINORONIAINA

Nisedra Onja Nambininjanahary

Le 15 novembre 2017

Devant le jury composé de :

Président : Monsieur RANDIMBIVOLOLONA Fanantenanirainy Professeur Titulaire

Rapporteur : Madame RANDRIANAVONY Patricia Professeur

Examineur : Monsieur RAFATRO Herintsoa Professeur Titulaire

Année universitaire : 2016-2017

Nom : ANDRIANJAFINORONIAINA

Prénoms : Nisedra Onja Nambininjanahary

Adresse : Caserne Ford Duchesne, Bâtiment 37, Porte 38, Antananarivo

Téléphone : +261 34 96 714 38

E-mail : andrinianisedra@gmail.com



Promotion HASINA

Rapporteur : Professeur RANDRIANAVONY Patricia

ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ DIURÉTIQUE DE L'EXTRAIT AJN-07 CHEZ LE COCHON D'INDE

Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie

B.P : 8351

E-mail : frandimbi@gmail.com

Domaine des Sciences et Technologies

Université d'Antananarivo

REMERCIEMENTS

Au terme de réalisation de ce mémoire et en témoignage de ma gratitude, je tiens à exprimer mes sincères remerciements à ceux qui ont contribué à son accomplissement.

À Monsieur le Professeur Titulaire RANDIMBIVOLOLONA Fanantenanirainy, Directeur du Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie.

Merci de m'avoir accueilli au sein de votre Laboratoire, pour vos conseils, vos talents en matière de recherches, vos rigueurs scientifiques et vos contributions tout au long de ce travail malgré vos diverses responsabilités. Veuillez recevoir toute ma considération et ma profonde gratitude.

À Madame le Professeur RANDRIANAVONY Patricia, merci d'avoir guidé mes premiers pas dans la recherche scientifique dès le second cycle de mon cursus universitaire. Merci pour vos confiances de m'avoir fait bénéficier de vos expériences, de vos rigueurs scientifiques, de vos conseils, sans oublier votre grande disponibilité, votre bonne humeur et votre sympathie durant cette étude. Permettez-moi d'exprimer ma reconnaissance et mon respect le plus profond.

À Monsieur le Professeur Titulaire RAFATRO Herintsoa, Membre Titulaire et Vice – Président de la Section Sciences Appliquées à l'Académie Malgache. Vous avez accepté d'examiner ce travail, malgré vos emplois du temps chargés et vos lourdes responsabilités. Veuillez recevoir l'expression de ma très haute considération.

Au Docteur Nat QUANSAH, merci de votre gentillesse, votre disponibilité et votre collaboration à l'élaboration de ce travail. Veuillez trouver ici mes sincères remerciements et l'expression de ma respectueuse reconnaissance.

À tous les Enseignants de la Facultés des Sciences, à tout le corps Enseignant de la Mention Physiologie Animale, Pharmacologie et Cosmétologie. Vous avez partagé vos connaissances, vos expériences pour ma formation. Sans votre présence, je n'arrive pas à atteindre ce stade. Je vous adresse mes sincères remerciements.

À mes parents, à mes frères et à ma sœur pour tous ce que vous faites pour moi, vos aides, soutiens, encouragements et surtout vos confiances envers moi.

À la promotion HASINA pour l'esprit d'équipe, de solidarité, de partage, pour les conseils et les discussions scientifiques agréables, pour la bonne ambiance régnant dans le laboratoire qui m'a permis de travailler dans d'excellentes conditions.

À tous mes ami(e)s qui m'ont aidé à la réalisation de ce mémoire. Je tiens à vous adresser mes sincères remerciements.

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES	i
LISTE DES TABLEAUX	ii
LISTE DES FIGURES	iii
LISTE DES ABRÉVIATIONS ET SIGLES	iv
I. INTRODUCTION	1
II. MATÉRIELS ET MÉTHODES	4
A. PARTIE CHIMIQUE	4
1. Préparation de l'extrait	4
2. Criblage phytochimique	5
B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE	7
1. Animaux d'expérimentation	7
2. Étude de l'activité de l'extrait AJN-07 sur la diurèse	7
3. Étude de l'effet de l'extrait AJN-07 sur le pH urinaire	9
4. Étude de l'effet de l'extrait AJN-07 sur la natriurie et sur la kaliurie	9
C. EXPRESSION DES RÉSULTATS	10
III. RÉSULTATS	11
A. PARTIE CHIMIQUE	11
1. Rendement de l'extraction	11
2. Criblage phytochimique	11
B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE	12
1. Effet de l'extrait AJN-07 sur la diurèse	12
2. Effet de l'extrait AJN-07 sur le pH urinaire	12
3. Effet de l'extrait AJN-07 sur la natriurie	13
4. Effet de l'extrait sur la kaliurie	14
IV. DISCUSSION	15
V. CONCLUSION	17
BIBLIOGRAPHIE	18

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Tests utilisés lors du criblage phytochimique de l'extrait.....	6
Tableau II. Familles chimiques présentes dans l'extrait AJN-07.....	11

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Sites d'action des diurétiques (RANG H.P. et coll., 2012).....	2
Figure 2. Distillateur utilisé pour évaporer le filtrat.....	4
Figure 3. Préparation de l'extrait AJN-07.....	5
Figure 4. Dispositif expérimental pour recueillir l'urine des cochons d'Inde.....	8
Figure 5. Photographie du pH mètre (PIERRON®).....	9
Figure 6. Photographie du spectrophotomètre à flamme (SYSTONIC®).....	9
Figure 7. Variation du volume urinaire de 24 h des cochons d'Inde du lot témoin (■) et des lots traités avec l'extrait AJN-07 aux doses de 25 (■) et 50 (■) mg/kg, administré par voie orale après une surcharge hydrique de 50 ml/kg ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$; n = 3; P < 0,05).....	12
Figure 8. Variation du pH urinaire de 24 h des cochons d'Inde du lot témoin (■) et des lots traités avec l'extrait AJN-07 aux doses de 25 (■) et 50 (■) mg/kg, administré par voie orale ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$; n = 3; P > 0,05) (N.S.).....	13
Figure 9. Variation de la natriurie de 24 h des cochons d'Inde du lot témoin (■) et des lots traités avec l'extrait AJN-07 aux doses de 25 (■) et 50 (■) mg/kg, administré par voie orale ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$; n = 3; P < 0,05).....	13
Figure 10. Variation de la kaliurie de 24 h des cochons d'Inde du lot témoin (■) et des lots traités avec l'extrait AJN-07 aux doses de 25 (■) et 50 (■) mg/kg, administré par voie orale ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$; n = 3; P < 0,05).....	14

LISTE DES ABRÉVIATIONS ET SIGLES

°C	: degré celsius
coll.	: collaborateurs
Cl	: chlore
$\bar{\sigma}$	: écart type réduit
EtOH	: éthanol
EUV	: Excrétion Urinaire Volumétrique
FeCl₃	: trichlorure de fer
g	: gramme
h	: heure
H⁺	: ion hydrogène
HCl	: acide chlorhydrique
H₂SO₄	: acide sulfurique
K⁺	: ion potassium
LPGPC	: Laboratoire de Pharmacologie Générale de Pharmacocinétique et Cosmétologie
$\bar{m}$	: moyenne
MétOH	: méthanol
mmol/L	: milli mole par litre
mg/Kg	: milligramme par kilogramme
Mg	: magnésium
ml/Kg	: millilitre par kilogramme
mEq/L	: milliéquivalent par litre
ml	: millilitre
n	: nombre des animaux utilisés
NaCl	: chlorure de sodium
NaOH	: hydroxyde de sodium
N.S	: Non significative
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
P	: seuil de signification
pH	: potentiel d'hydrogène
tpm	: tour par minute
t	: test de Student

U.V.	: Ultraviolet
VA	: volume de surcharge hydrique administrée
VE	: volume urinaire excrété
%	: pourcent
<	: inférieur
>	: supérieur
±	: plus ou moins



INTRODUCTION



I. INTRODUCTION

Les diurétiques sont des substances qui augmentent l'élimination de l'eau et des solutés par voie urinaire. Ils sont généralement prescrits dans le traitement de l'hypertension artérielle et de l'œdème généralisé (KRZESINSKI J.M., 1996 ; GOUGOUX A., 2002 ; PLANT L., 2003). À eux seuls, ils arrivent à abaisser l'hypertension artérielle dans les 2/3 des cas. Or cette maladie est devenue un problème de santé publique car elle touche 34,5 % de la population mondiale adulte dont 36,8 % chez les hommes et 32,3 % chez les femmes (OMS, 2016). Par ailleurs, l'œdème est dû à la rétention d'eau au niveau du tissu interstitiel suite aux différentes maladies comme l'insuffisance rénale et l'insuffisance cardiaque (DOUCET A. et coll., 2007 ; SHERWOOD L. et coll., 2013). Les diurétiques augmentent l'élimination de l'eau et du sodium, soit en augmentant le débit de filtration glomérulaire, soit en retenant l'eau dans le tubule du néphron, soit en inhibant la réabsorption de l'ion sodium à différents niveaux du tubule rénal (SILBERNAGL S. et DESPOPOULOS A., 2001) diminuant ainsi la pression artérielle et l'œdème (CLOUTIER L. et coll., 2013 ; DENTON J.S. et coll., 2013 ; MUNEER K. et NAIR A., 2017). L'eau peut être retenue dans le tubule par des substances osmotiquement actives ou par l'ion sodium. L'inhibition de la réabsorption de ces molécules provoque la rétention de l'eau dans la lumière tubulaire et l'augmentation de la diurèse. Au niveau du tube contourné proximal, l'ion sodium est réabsorbé en échange avec l'ion hydrogène issu de l'acide carbonique synthétisé dans la cellule pariétale sous l'action de l'anhydrase carbonique (RANG H.P. et coll., 2012). L'inhibition de cette enzyme empêche la formation de l'acide carbonique et inhibe ainsi la réabsorption de l'ion sodium. Certains diurétiques comme le furosémide (Lasilix®) inhibent la réabsorption de l'ion sodium au niveau de la branche ascendante de l'anse de Henlé; d'autres comme spironolactone (Aldactone®) inhibent l'aldostérone au niveau du tube contourné distal (PLANT L., 2003). Cette hormone corticosurrénale favorise la réabsorption de sodium entraînant ainsi une augmentation de la volémie (SHERWOOD L. et coll., 2013). Lorsque la réabsorption de l'ion sodium est inhibée, la quantité de cet ion qui arrive au niveau du tube contourné distal est élevée. Or à ce niveau, il est réabsorbé en échange avec l'ion potassium entraînant une élimination massive de l'ion potassium. L'hypokaliémie est à l'origine des troubles du rythme cardiaque, ce qui nécessite des substances qui épargnent l'ion potassium (MONROY A. et coll., 2000 ; MENETON P., LOFFING J. et WARNOCK D.G., 2004).

Selon leur mécanisme d'action, on peut classer les diurétiques en diurétique osmotique, inhibiteur d'anhydrase carbonique, diurétique de l'anse, diurétique thiazidique et diurétique épargneur de potassium (RANG H.P. et coll., 2012) (Figure 1).

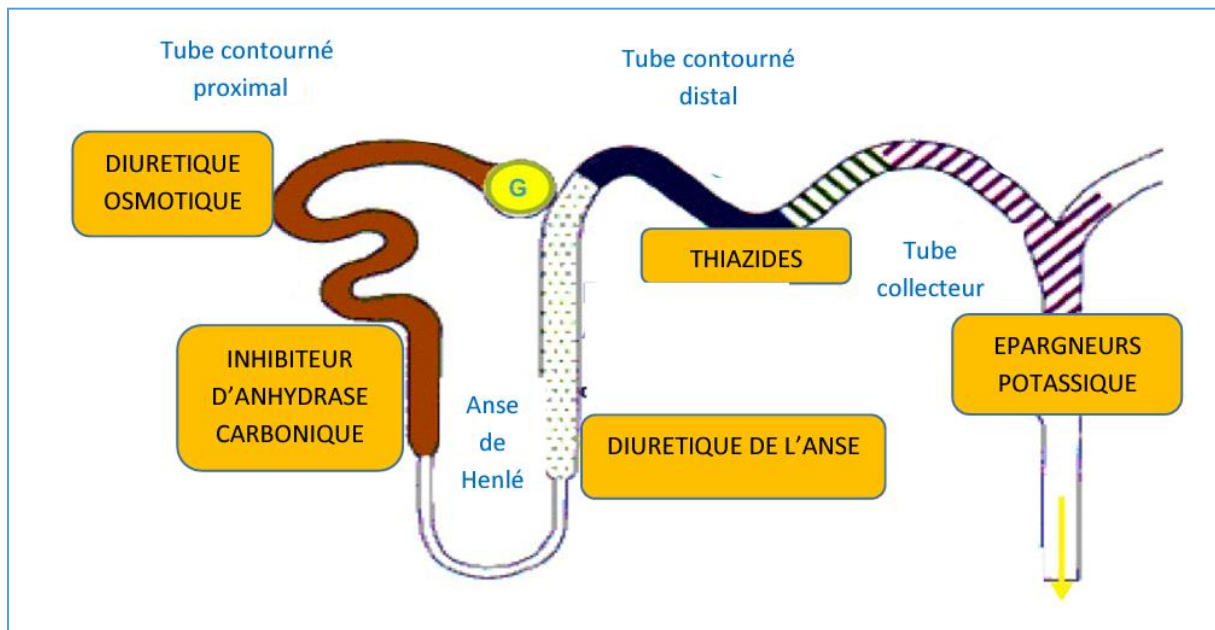


Figure 1. Sites d'action des diurétiques (RANG H.P. et coll., 2012).

Les diurétiques osmotiques comme le mannitol sont filtrés librement au niveau du glomérule et ne sont pas métabolisés par l'organisme, ni réabsorbés au niveau du tubule rénal. En restant dans le tubule, ils exercent une pression osmotique et y retiennent l'eau, augmentant ainsi la diurèse (KRZESINSKI J.M., 1996).

Les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique comme l'acetazolamide (Diamox®) empêchent la formation de l'acide carbonique, source de l'ion H^+ nécessaire aux échanges Na^+ et H^+ . En absence de H^+ , le Na^+ n'est pas réabsorbé et l'eau reste dans la lumière tubulaire. Ces médicaments augmentent la diurèse et l'urine excrétée devient alcaline (ODLIND B., 1984). Les diurétiques de l'anse comme le furosémide (Lasilix®) et la bumétanide (Burinex®) inhibent la réabsorption de sodium au niveau de la branche ascendante de l'anse de Henlé, ce qui augmente la diurèse et la natriurèse (KRZESINSKI J.M., 1996 ; GOUGOUX A., 2002 ; PLANT L., 2003 ; VAZIR A. et COWIE M.R., 2016). Les diurétiques thiazidiques comme l'hydrochlorothiazide (Esidrex®) et l'indapamide (Fludex®) inhibent la réabsorption du sodium au niveau du tube contourné distal (PLANT L., 2003 ; CLOUTIER L. et coll., 2013 ; DING D. et coll., 2016). Le spironolactone (Aldactone®) et l'éplérone (Inopra®) sont des antagonistes de l'aldostérone qui inhibent la réabsorption de sodium au niveau du tube contourné distal (KRZESINSKI J.M., 1996 ; JENTZER et coll., 2010). Ces médicaments

peuvent produire une hyponatrémie à cause de cette inhibition et une hypokaliémie suite à l'échange de sodium et de potassium au niveau du tube contourné distal (GOUGOUX A., 2002 ; JENTZER et coll., 2010). Les diurétiques épargnant le potassium comme l'amiloride (Modamide®) et le triamtérène (Dyrenium®) sont des médicaments qui diminuent la réabsorption de sodium et la sécrétion de potassium dans le tubule collecteur (VAZIR A. et COWIE M.R., 2016 ; GOUGOUX A., 2012).

Malgré le progrès des recherches scientifiques et de l'industrie pharmaceutique en termes de diurétique, de nombreuses plantes sont encore utilisées comme diurétique dans le monde. Par exemple, en Amérique centrale et méridionale, la décoction de barbe de *Zea mays* (maïs) (POACEAE) est utilisée pour traiter les maladies de l'appareil urinaire. Cette plante augmente la diurèse et soulage les inflammations de la vessie (ISERIN P. et coll., 2001). En Autriche, les feuilles et les fleurs de *Lamium galeobdolon* (ortie jaune) (LAMIACEAE) sont utilisées sous forme d'infusion pour traiter l'oligurie, les douleurs et les brûlures à la miction, les maladies des reins et l'œdème cardiaque (TREBEN M., 1980). En Inde, les fruits de *Lagenaria siceraria* (calebasse) (CUCURBITACEAE) (GHULE B.V. et coll., 2007), les feuilles de *Linaria ramosissima* (SCROPHULARIACEAE) (PANDYA P.N. et coll., 2012) et les feuilles de *Cissampelos pareira* (MENISPERMACEAE) (SAYANA S.B. et coll., 2014) sont utilisés en tant que diurétiques. Les fleurs de *Crocus sativus* (IRIDACEAE) (SHARIATIFAR N. et coll., 2014) sont aussi utilisées en Asie comme diurétiques.

À Madagascar, le décocté de feuilles de *Cassia occidentalis* (Voantsiroky, Nimaro) (CESALPINIACEAE), l'infusion de feuilles de *Drosera madagascariensis* (Mahatanando) (DROSERACEAE) (DEBRAY M. et coll., 1971), le décocté de l'écorce de *Pittosporum ochrosiifolium* (hazombary) (PITTOSPORACEAE) et le décocté de la pulpe de *Tamarindus indica* (Voamadilo) (FABACEAE) (NICOLAS J.P. et coll., 2012) sont également utilisés en tant que diurétiques.

D'après les enquêtes que nous avons effectuées dans la région d'Alaotra-Mangoro, fokontany Amboniala, le décocté des feuilles de la plante étudiée dans ce travail est utilisé par les habitants de cette région pour se soigner en cas de difficulté de miction et d'œdème des membres inférieurs. En analysant ces données, nous pensons que cette plante pourrait avoir un effet diurétique. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons effectué des tests *in vivo* chez le cochon d'Inde. L'effet de l'extrait hydro alcoolique des feuilles de cette plante a été étudié sur le volume urinaire des animaux traités, le pH urinaire ainsi que le taux de sodium et de potassium urinaires.



MATÉRIELS
ET
MÉTHODES



II. MATÉRIELS ET MÉTHODES

A. PARTIE CHIMIQUE

1. Préparation de l'extrait

Les feuilles de la plante utilisée dans cette étude ont été récoltées dans la région d'Alaoatra-Mangoro, fokontany Amboniala le 17 novembre 2016. Elles ont été séchées à l'ombre dans un endroit aéré pendant 34 jours. Deux cent grammes de feuilles séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur à marteau (BROOK CROMPTON Série 2000) au Laboratoire de Pharmacologie Générale de Pharmacocinétique et de Cosmétologie (LPGPC) à la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo. La poudre obtenue a été macérée dans un mélange éthanol - eau (60 : 40) pendant 72 h à la température ambiante. Le mélange a été agité une fois par jour pendant 10 minutes. Après 72 h, le macérât a été filtré sur du coton hydrophile. L'éthanol dans le filtrat a été évaporé à l'aide d'un distillateur (Figure 2) à la température 80 °C (Figure 3), puis la phase aqueuse a été évaporée à sec dans un bain marie à la température de 100 °C. L'extrait obtenu a été codé AJN-07, puis pesé pour calculer le rendement selon la formule :

$$\text{Rendement (en \%)} = \frac{\text{Masse de l'extrait obtenu (en g)}}{\text{Masse de la poudre végétale initiale (en g)}}$$

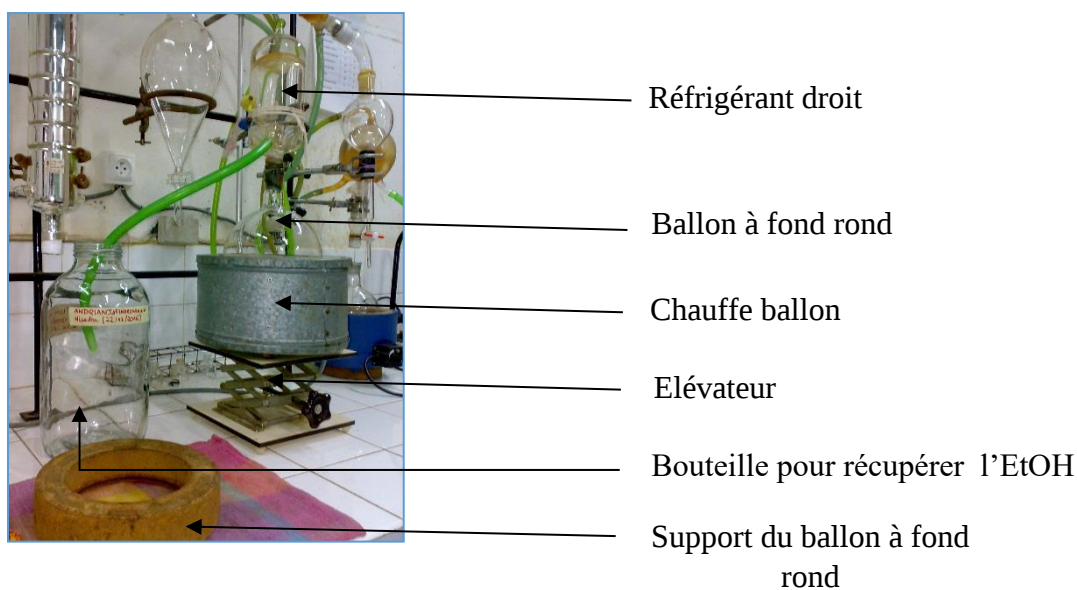


Figure 2. Distillateur utilisé pour évaporer l'éthanol

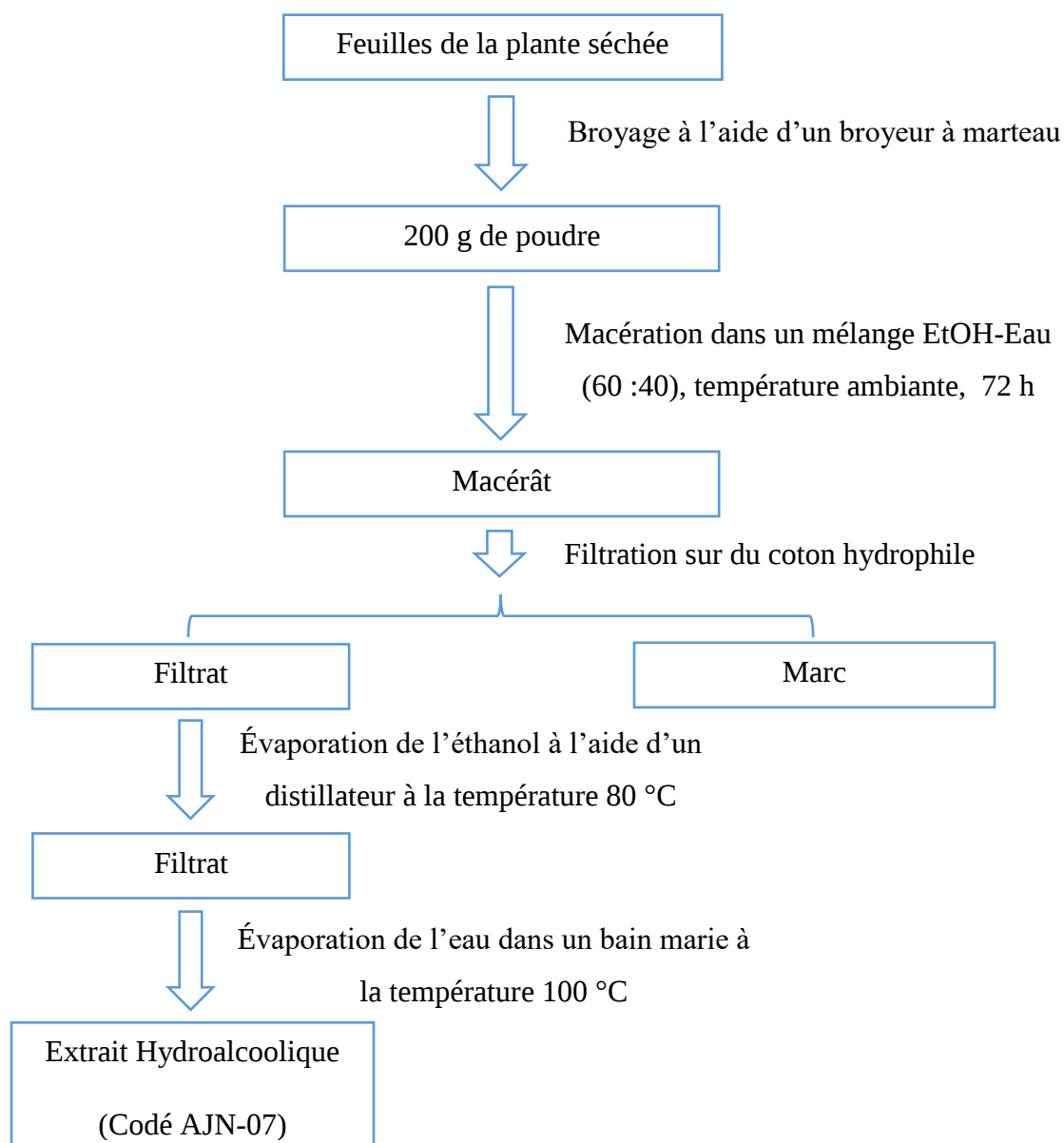


Figure 3. Préparation de l'extrait AJN-07.

2. Criblage phytochimique

Pour déterminer les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait AJN-07, un criblage phytochimique a été effectué. Ce test est basé sur la réaction de coloration et/ou de précipitation entre des réactifs spécifiques et les familles chimiques correspondantes, ou la formation de mousse en agitant la solution. L'intensité de ces réactions dépend de la teneur de la famille chimique présente dans l'extrait (FONG H.H.S et coll., 1997) (Tableau I).

Tableau I. Tests utilisés pour déterminer les familles chimiques présentes dans l'extrait AJN-07 (FONG H.H.S. et coll., 1997)

FAMILLE CHIMIQUES	TESTS	RÉACTIFS	OBSERVATIONS
ALCALOÏDES		DRAGENDORFF, MAYER, WAGNER	Précipitation
TANINS		Gélatine + NaCl	Précipitation verte
		Gélatine + FeCl ₃ + MétOH	Précipitation bleue
COMPOSÉS PHÉNOLIQUES		Gélatine 1 %	Précipitation
STÉROÏDES ET TRITERPÈNES	LIEBERMAN BURCHARD	Anhydride acétique + H ₂ SO ₄	Coloration violette
	BADGET KEDDE	Acide picrique	Coloration rouge
	SALKOWSKI	H ₂ SO ₄	Anneau de séparation rouge
FLAVONOÏDES	WILSTATER	Ruban de Mg + HCl concentré	Coloration rouge
LEUCOANTHOCYANES	BATH- SMITH	HCl concentré + bain marie	Coloration rouge violacée
ANTHOCYANES		HCl à froid	Coloration rouge
POLYSACCHARIDES		+ 3 volumes d'éthanol	Trouble
SUCRES RÉDUCTEURS		Liqueur de Fehling + bain marie	Précipitation rouge brique
COUMARINES		NaOH 10 %	Fluorescence à l'U.V.
SAPONINES	MOUSSE	HCl + agitation	Persistance d'une mousse (3 cm d'épaisseur) après 30 minutes

Les signes suivants ont été utilisés pour exprimer la teneur relative des familles chimiques présentes dans l'extrait AJN-07 :

- +++ : présence de la famille chimique en forte teneur
- ++ : présence de la famille chimique en teneur moyenne
- +
- ±
-

B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE

Le but de ce travail a été d'étudier l'activité de l'extrait AJN-07 sur la diurèse chez le cochon d'Inde. Son effet sur le volume d'urine émise, le pH urinaire, la natriurie et sur la kaliurie a été étudié.

1. Animaux d'expérimentation

Des cochons d'Inde tricolores des deux sexes, âgés de trois mois et pesant entre 225 et 275 g ont été utilisés. Les animaux ont été acclimatés à l'animalerie du Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie de la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo. Ils ont été nourris avec de feuilles de graminées fraîches et de carottes. Ils ont été soumis aux conditions de l'animalerie : 12 h de lumière et 12 h d'obscurité à la température ambiante de 20 °C environ. Ces animaux ont été mis à jeun pendant 18 h avant l'expérience.

2. Étude de l'activité de l'extrait AJN-07 sur la diurèse

L'objectif de ce test a été d'étudier l'effet de l'extrait AJN-07 sur la diurèse de 24 h. Tous les animaux ont reçu 50 ml/kg d'eau distillée par voie orale (SANOGO R. et coll., 2009). Puis, ils ont été répartis en 3 lots : les animaux du lot témoin ont reçu 10 ml/kg d'eau distillée, tandis que les animaux des deux autres lots ont reçu l'extrait AJN-07 dissout dans de l'eau distillée, aux doses de 25 et 50 mg/kg. Trente minutes après la surcharge hydrique, l'extrait a été administré par voie orale dans un volume de 10 ml par kilogramme de poids corporel (SHAMKUWAR P.B. et PAWAR D.P., 2013). Ensuite, chaque animal a été placé individuellement dans une cage à métabolisme pendant 24 h et leur urine a été recueillie dans un récipient (Figure 4). L'urine recueillie a été filtrée et son volume a été mesuré à l'aide d'une éprouvette graduée.

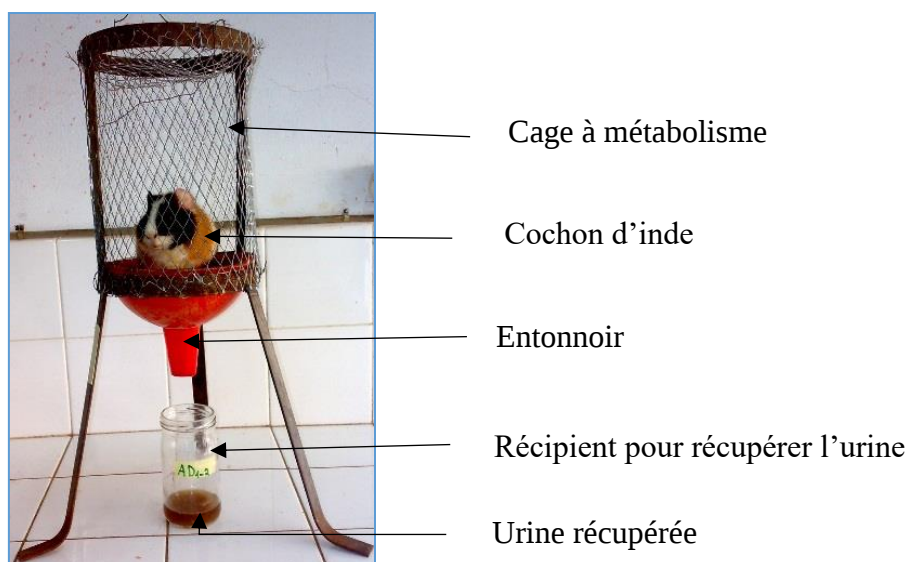


Figure 4. Dispositif expérimental pour recueillir l'urine des cochons d'Inde.

L'activité de l'extrait AJN-07 sur la diurèse a été exprimée sous forme d'excrétion urinaire volumétrique (EUV en %) suivant la formule (KAU S.T. et coll., 1984) :

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

Avec VE : Volume urinaire excrété (ml)

VA : Volume de surcharge hydrique administrée (ml)

La valeur de l'excrétion urinaire volumétrique suivante a été utilisée pour vérifier l'activité diurétique de l'extrait AJN-07:

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

3. Étude de l'effet de l'extrait AJN-07 sur le pH urinaire

Le mode d'action d'AJN-07 a été étudié par son effet sur le pH urinaire. Le pH de l'urine recueillie pendant 24 h a été mesuré à l'aide du pH mètre (PIERRON®) (Figure 5).



Figure 5. Photographie du pH mètre (PIERRON®).

4. Étude de l'effet de l'extrait AJN-07 sur la natriurie et sur la kaliurie

L'activité de l'extrait a été étudiée par son effet sur la natriurie et la kaliurie. La concentration de sodium et de potassium urinaire a été déterminée en les dosant à l'aide d'un spectrophotomètre à flamme. Les urines recueillies ont été filtrées à l'aide d'un papier filtre, puis centrifugées à la vitesse de 3000 tpm pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse (EBA 3S). Après centrifugation, la natriurie et la kaliurie ont été mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre à flamme (SYSTONIC®) (Figure 6) au Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie de l'Université d'Antananarivo.



Figure 6. Photographie du spectrophotomètre à flamme (SYSTONIC®).

C. EXPRESSION DES RÉSULTATS

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne $\pm \bar{\sigma}$ ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$). Les moyennes ont été comparées entre elles en utilisant le test « *t* » de *Student*. La différence a été considérée comme significative pour une valeur de $P < 0,05$.



RÉSULTATS



III. RÉSULTATS

A. PARTIE CHIMIQUE

1. Rendement de l'extraction

Après macération de 200 g de poudre de feuilles dans un mélange éthanol-eau, suivie de filtration et d'évaporation du solvant d'extraction, 23 g d'extract pâteux de couleur vert-foncé ont été obtenus, ce qui correspond à un rendement de 11,5 %.

2. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique effectué sur l'extract AJN-07 révèle la présence de flavonoïdes et de triterpènes en forte teneur; d'alcaloïdes, d'anthocyanes, de leucoanthocyanes et de polysaccharides en teneur moyenne, puis de tanins en faible teneur et enfin de composés phénoliques en très faible teneur (Tableau II).

Tableau II. Familles chimiques présentes dans l'extract AJN-07

FAMILLES CHIMIQUES	TENEUR RELATIVE
FLAVONOÏDES	+++
TRITERPÈNES	+++
ALCALOÏDES	++
ANTHOCYANES	++
LEUCOANTHOCYANES	++
POLYSACCHARIDES	++
TANINS	+
COMPOSÉS PHÉNOLIQUES	±

+++ : Famille chimique en forte teneur

++ : Famille chimique en teneur moyenne

+: Famille chimique en faible teneur

± : Famille chimique en très faible teneur

B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE

1. Effet de l'extrait AJN-07 sur la diurèse

L'administration par voie orale de l'extrait AJN-07 chez les cochons d'Inde augmente la diurèse de 24 h par rapport à celle des animaux du lot témoin. Cette diurèse augmente en fonction de la dose de l'extrait administré. Le volume de l'urine recueillie en 24 h chez le lot témoin est égal à $10,23 \pm 1,36$ ml contre $27,23 \pm 0,93$ et $34,33 \pm 1,53$ ml chez les animaux traités avec l'extrait AJN-07 aux doses de 25 et 50 mg/kg ($P < 0,05$) (Figure 7). La valeur de l'EUV correspondante est égale à 226,91 et 286,08 % pour les doses de 25 et 50 mg/kg, ce qui permet de classer cet extrait comme un diurétique à forte activité.

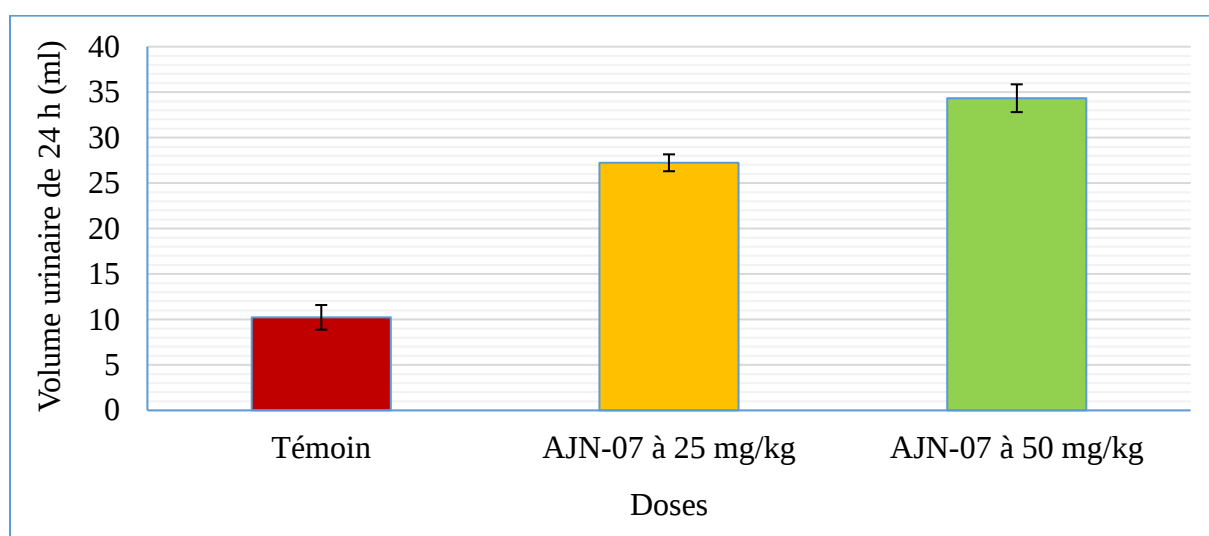


Figure 7. Variation du volume urinaire de 24 h des cochons d'Inde du lot témoin (■) et des lots traités avec l'extrait AJN-07 aux doses de 25 (■) et 50 (■) mg/kg administré par voie orale après une surcharge hydrique de 50 ml/kg ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$; $n = 3$; $P < 0,05$).

2. Effet de l'extrait AJN-07 sur le pH urinaire

Après l'administration de l'extrait AJN-07 par voie orale chez les cochons d'Inde, la valeur du pH de l'urine recueillie chez les animaux traités avec l'extrait ne change pas par rapport à celle des animaux du lot témoin. Le pH est égal à $8,42 \pm 0,2$ chez le lot témoin contre $7,74 \pm 0,67$ et $8,03 \pm 0,41$ chez les animaux traités avec l'extrait aux doses de 25 et 50 mg/kg (N.S) (Figure 8).

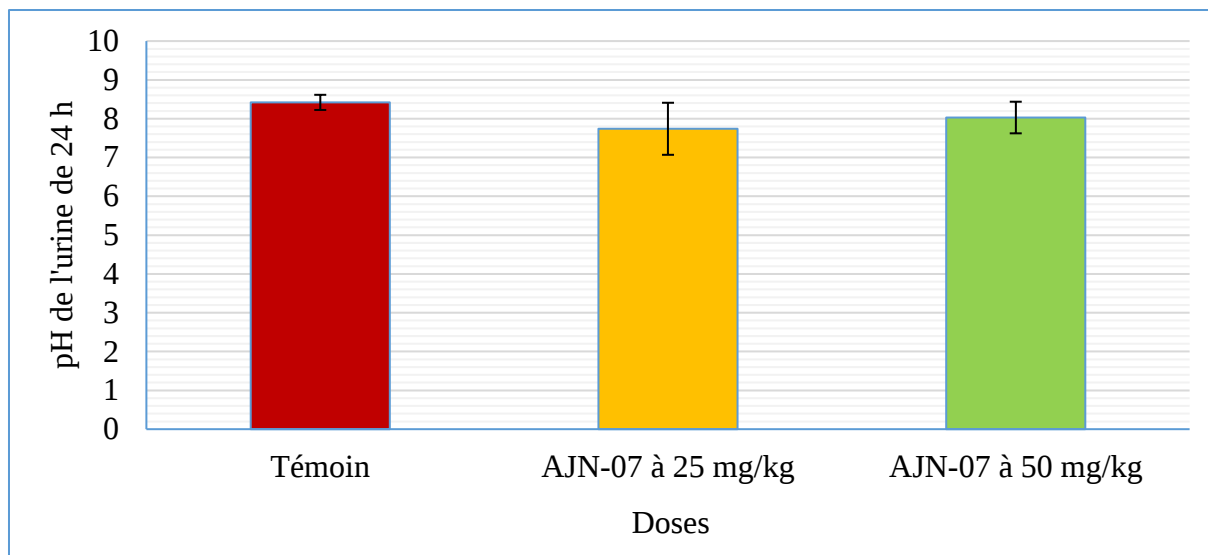


Figure 8. Variation du pH urinaire de 24 h des cochons d'Inde du lot témoin (■) et des lots traités avec l'extrait AJN-07 aux doses de 25 (■) et 50 (■) mg/kg administré par voie orale ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$; n = 3; P > 0,05) (N.S).

3. Effet de l'extrait AJN-07 sur la natriurie

L'administration de l'extrait AJN-07 par voie orale chez les cochons d'Inde augmente la natriurie de 24 h. La concentration de sodium urinaire augmente en fonction de la dose administrée. Chez le lot témoin, la natriurie est égale à $66,97 \pm 3,07$ mEq/L contre $72,60 \pm 1,20$ et 78 ± 2 mEq/L chez les animaux traités aux doses de 25 et 50 mg/kg (P < 0,05) (Figure 9).

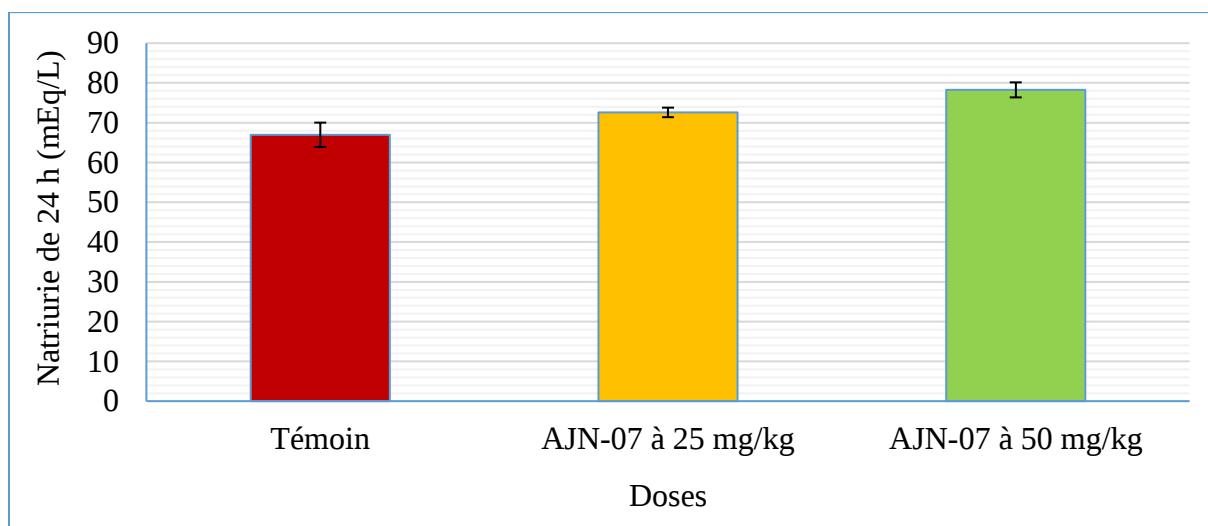


Figure 9. Variation de la natriurie de 24 h des cochons d'Inde du lot témoin (■) et des lots traités avec l'extrait AJN-07 aux doses de 25 (■) et 50 (■) mg/kg administré par voie orale ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$; n = 3; P < 0,05).

4. Effet de l'extrait sur la kaliurie

Administré par voie orale, l'extrait AJN-07 diminue la kaliurie des animaux traités avec l'extrait par rapport à celle des animaux du lot témoin. Chez le lot témoin, elle est de $27,50 \pm 4,01$ mEq/L contre $19,20 \pm 1,90$ et $17,30 \pm 1,90$ mEq/L chez les animaux des lots traités aux doses de 25 et 50 mg/kg ($P < 0,05$) (Figure 10).

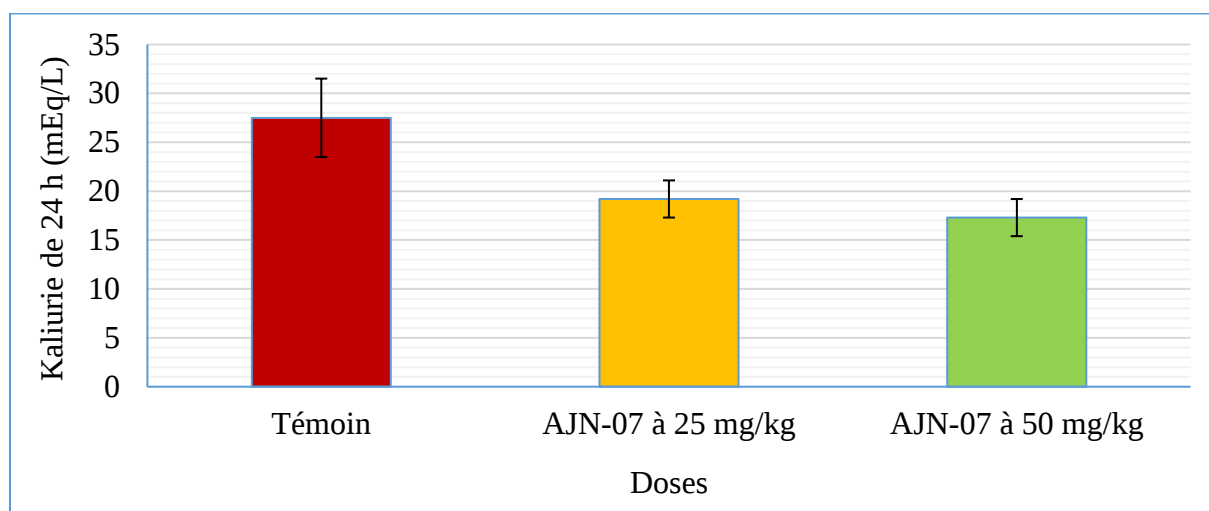


Figure 10. Variation de la kaliurie de 24 h des cochons d'Inde du lot témoin (■) et des lots traités avec l'extrait AJN-07 aux doses de 25 (■) et 50 (■) mg/kg administré par voie orale ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$; $n = 3$; $P < 0,05$).



DISCUSSION



IV. DISCUSSION

Ce travail a pour objectif d'étudier l'activité de l'extrait AJN-07 sur la diurèse chez le cochon d'Inde. Administré par voie orale, AJN-07 augmente le volume urinaire et la natriurie des animaux. Par contre il diminue la kaliurie et ne modifie pas le pH de l'urine.

Selon nos résultats, la natriurèse augmente avec la diurèse. Cela pourrait être dû à la rétention de l'ion sodium dans la lumière tubulaire, car sa rétention s'accompagne obligatoirement par une rétention d'eau (GOUGOUX A., 2012). Il est possible que l'extrait puisse augmenter le débit de filtration glomérulaire en provoquant une vasodilatation de l'artériole afférente au niveau glomérulaire entraînant ainsi une augmentation de la diurèse et de la natriurèse. Il pourrait aussi inhiber la réabsorption de l'ion sodium à différents niveaux du tubule du néphron (SHERWOOD L. et coll., 2013 ; MENETON P., LOFFING J. et WARNOCK D.G., 2004). En outre, nos résultats montrent qu'AJN-07 ne modifie pas le pH urinaire des animaux traités par rapport à celui du lot témoin. Ceci suggère que le sodium n'a pas été échangé contre l'ion H^+ au niveau du tube contourné distal. Par ailleurs, la kaliurie est inférieure à celle du témoin; ce qui nous permet d'avancer que le sodium a été échangé contre l'ion potassium au niveau du tube contourné distal. En considérant ces deux résultats, nous avançons une hypothèse que la réabsorption de l'ion sodium au niveau du tube contourné distal aurait été inhibée. Or le responsable de la réabsorption de cet ion au niveau de cette partie du néphron est l'aldostérone (SHERWOOD L. et coll., 2013). En combinant ces analyses, l'hypothèse possible serait que l'action diurétique de l'extrait serait due à l'inhibition de l'action de l'aldostérone. Une étude faite sur *Benincasa hispida* (CUCURBITACEAE) et *Hibiscus sabdariffa* (MALVACEAE) donnent des résultats similaires que ceux que nous avons obtenus. Elles augmentent la diurèse et la natriurèse sans changer le pH urinaire et diminuent la kaliurèse. Ils ont conclu que ces extraits diminuent la réabsorption de sodium en inhibant l'action de l'aldostérone (JAYASREE T. et coll., 2011 ; JIMENEZ-FERRER E. et coll., 2012). Ils ont également avancé que les flavonoïdes contenus dans l'extrait de ces plantes sont les responsables de cette activité. Comme l'extrait AJN-07 contient une forte teneur en flavonoïdes, il est possible que son effet diurétique puisse aussi être dû à l'inhibition de l'effet de l'aldostérone par cette famille chimique.

Des études approfondies devraient être entreprises pour préciser le mécanisme d'action de l'extrait AJN-07. Vu la valeur de l'EUV, celle de la natriurie et de la kaliurie, l'extrait AJN-07 présente une forte activité diurétique. C'est un salidiurétique mais aussi un épargneur de potassium. Il pourrait diminuer les œdèmes des membres inférieurs, en outre il peut être indiqué seul en tant que diurétique sans apport supplémentaire de potassium. Néanmoins, son utilisation

est contre indiquée chez les personnes souffrant d'hyperkaliémie et il est nécessaire d'effectuer une analyse de l'ionogramme sanguin avant son utilisation.



CONCLUSION



V. CONCLUSION

Les résultats obtenus montrent que l'extrait AJN-07, administré par voie orale augmente la diurèse chez le cochon d'Inde. C'est un natridiurétique à forte activité, épargnant l'ion potassium et qui ne change pas le pH urinaire. Ces effets pourraient être dus à la présence des flavonoïdes dans l'extrait. Pour connaître les molécules responsables de cette activité ainsi que leurs mécanismes d'action, des études approfondies sont nécessaires.



BIBLIOGRAPHIE



BIBLIOGRAPHIE

CLOUTIER L., LECLERC A.M., LONGPRES S., NAHRO M. (2013).

Traitement pharmacologique de l'HTA partie 1.

Pratique infirmière, **10** (1): 36 - 41.

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

Contribution à l'inventaire des plantes médicinales de Madagascar.

Ed. Office de la recherche scientifique et technique outre-mer, Paris (France): 37 - 99.

DENTON J.S., PAO A.C., MADUKE M. (2013).

Novel diuretic targets.

Am. J. Physiol. Renal Physiol., **305**: F931 - F942.

DING D., LIU H., QI W., JIANG H., LI Y., WU X., SUN H., GROSS K., SALVI R. (2016).

Ototoxic effects and mechanisms of loop diuretics.

Journal of Otology, **11**: 145 - 156.

DOUCET A., FAVRE G., DESCHÊNES G. (2007).

Molecular mechanism of edema formation in nephrotic syndrome therapeutic implications.

Pediatr. Nephrol., **22**: 1983 - 1990.

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

Manual for phytochemical screening.

Rev. Pharmacol. College of pharmacy, University of Illinois (Chicago), 275 - 277.

GHULE B.V., GHANTE M.H., YEOLE P.G., SAOJI A.N. (2007).

Diuretic activity of *Lagenaria siceraria* fruit extracts in rats.

Indian J. Pharm. Sci., **69** (6): 817 - 819.

GOUGOUX A. (2002).

The ins & outs of diuretic therapy.

The Canadian Journal of CME: 55 - 60.

GOUGOUX A. (2012).

Les diurétiques, leur utilisation et leur complication fréquente.

Université de Montréal, Clinicien plus: 33 - 35.

ISERIN P., MASSON M., RESTELLINI J-P., YBERT E., DE LAAGE DE MEUX A., MOULARD F., ZHA E., DE LA ROQUE R., DE LA ROQUE O., VICAN P., DELESALLE FÉAT T., BIAUJEAUD M., RINGUET J., BLOCH J., BOTREL A. (2001).

Larousse encyclopédie des plantes médicinales: identification, préparations, soins.

Ed. LAROUSSE, 2^{ème} édition, Paris (France), chap. III: 54 - 155.

JAYASREE T., KISHORE K.K., VINAY M., VASAVI P., CHANDRASEKHAR N., MANOHAR V.S., DIXIT R. (2011).

Evaluation of the diuretic effect of the chloroform extract of the *Benincasa hispida* rind (Pericarp) extract in guinea-pigs.

J. Clin. Diagn. Res., **5** (3): 578 - 582.

JENTZER J.C., DEWALD T.A., HERNANDEZ A.F. (2010).

Combination of loop diuretics with thiazide-type diuretics in heart failure.

J. Am. Coll., **56**: 1527 - 1534.

JIMENEZ-FERRER E., ALARCON-ALONSO J., AGUILAR-ROJAS A., ZAMILPA A., JIMENEZ-FERRER I.C., TORTORIELLO J., HIERRERA-RUIZ M. (2012).

Diuretic effect of compounds from *Hibiscus sabdariffa* by modulation of the aldosterone activity.

Planta Medica, **78**: 1893 - 1898.

KAU S.T., LOKKADDIE J.R., ANDREWS D. (1984).

A method for screening diuretic agents in the rat.

J. Pharmacol. Meth., **11**: 67 - 75.

KRZESINSKI J.M. (1996).

Histoire et perspective du traitement par diurétiques.

Rev. Med. Liège, **51** (1): 30 - 34.

MENETON P., LOFFING J., WARNOCK D.G. (2004).

Sodium and potassium handling by the aldosterone-sensitive distal nephron: the pivotal role of the distal and connecting tubule.

Am. J. Physiol. Renal Physiol., **287**: F593 - F601.

MONROY A., PLATA C., HEBERT S.C., GAMBA G. (2000).

Characterization of the thiazide-sensitive Na⁺- Cl⁻ cotransporter: a new model for ions and diuretics interaction.

Am. J. Physiol. Renal Physiol., **279**: F161 - F169.

MUNEER K., NAIR A. (2017).

Angiotensin-converting enzyme inhibitors and receptor blockers in heart failure and chronic kidney disease-demystifying controversies.

Indian Heart Journal, **69**: 371 - 374.

NICOLAS J.R., ALLORGE L., LABAT J.N., AUPIC C. (2012).

Plantes Médicinales du Nord de Madagascar, ethnobotanique d'Antakarana et information scientifiques.

Ed. Jardins du monde 15, France: 13 - 277.

ODLIND B. (1984).

Site and mechanism of the action of diuretics.

Acta. Pharmacol. Toxicol., **54** (1): 5 - 15.

OMS (2016 - 2018).

Stratégie de coopération de l'OMS avec la république centre africaine.

Version de janvier 2016, Afrique: 19 - 20.

PANDYA P.N., AGHERA H.B., ASHOK B.K., ACHARYA R. (2012).

Diuretic activity of *Linaria ramosissima* (wall.) Janch. leaves in albino rats.

AYU., **33** (4): 576 - 578.

PLANT L. (2003).

Clinical use of diuretics.

Clinical Medicine, **3** (6): 517 - 520.

RANG H.P., DALE M.M., RITTER J.M., FLOWER R.J., HENDERSON G. (2012).

Rang and Dale's pharmacology.

Ed. ELSEVIER, 7^{ème} édition, British, chap. XXVIII: 694 - 719.

SANOGO R., KARAJI A.H., DEMBELE O., DIALLO D. (2009).

Activité diurétique et salidiurétique d'une recette utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de l'hypertension artérielle.

Mali Medical, **24** (4): 1 - 6.

SAYANA S.B., CHRISTINA, MEDABALA T., PATIL P.S. (2014).

Study of diuretic activity of ethanolic extract of leaves of *Cissampelos pareira* in rats.

Asian J. Pharm. Clin. Res., **7** (4): 157 - 159.

SHARIATIFAR N., SHOEIBI S., SANI M.J., JAMSHIDI A.H., ZAREI A., MEHDIZADE A., DADGARNEJAD M. (2014).

Study on diuretic activity of saffron (stigma of *Crocus sativus* L.) aqueous extract in rat.

J. Adv. Pharm. Technol. Res., **5** (1): 17 - 20.

SHAMKUWAR P.B., PAWAR D.P. (2013).

Antidiarrhoeal and antispasmodic effect of *Berberis aristata*.

J. Int. Pharmacogn. Phytochem. Res., **5** (1): 24 - 26.

SHERWOOD L., BERTHET J., AMAR-COSTESECC A., BORLEY N.R., WHITAKER R.H., BROOKER C., DERRICKSON B., TORTOGA G.J., FALLER A., SPRUMONT P., SCHÜNKE M., GOSLING J.A., HARRIS P.F., WHITMORE I., WILLAN P.L.T., MOORE K.L., DALLEY A.F., SCHMIDT R.F., TANK P., GEST T., TORTORA G.J., GRABOWSKI S.R., WEIR J., ABRAHAMMS P.H. (2013).

Physiologie Humaine.

Ed. NOUVEAUX HORIZONS, 2^{ème} édition, Paris (France), Chap. XIII: 405 - 441,

Chap. XIV: 443 - 463.

SILBERNAGL S., DESPOPOULOS A. (2001).

Atlas de poche de physiologie.

Ed. FLAMMARION, 3^{ème} édition, Paris (France), chap. VII: 138 - 184.

TREBEN M. (1980).

La santé à la pharmacie du Bon Dieu.

Ed. WILHELM ENNSTHALER, 1^{er} édition, Steyr (Autriche): 28 - 29.

VAZIR A. et COWIE M.R. (2016).

Decongestion: Diuretics and other therapies for hospitalized heart failure.

Indian Heart Journal, 68: S61 - S68.

ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ DIURÉTIQUE DE L'EXTRAIT AJN-07 CHEZ LE COCHON D'INDE

Auteur : ANDRIANJAFINORONIAINA Nisedra Onja Nambininjanahary

Adresse : Caserne Ford Duchesne Bâtiment 37, Porte 38, Antananarivo

Téléphone : +261 34 96 714 38

E-mail : andriniananisedra@gmail.com

Année : 2016 – 2017

Rapporteur : Professeur RANDRIANAVONY Patricia

Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie

B.P. : 8351

E-mail : frandimbi@gmail.com

Facultés des Sciences.

Domaine des Sciences et Technologies.

Université d'Antananarivo.

RÉSUMÉ

L'objectif de ce travail était d'étudier l'activité de l'extrait AJN-07 chez le cochon d'Inde. Son effet sur la diurèse, le pH urinaire, la natriurie et la kaliurie a été étudié. Administré par voie orale, AJN-07 augmente le volume d'urine émise en 24 h. Il est égal à $10,23 \pm 1,36$ ml chez le lot témoin contre $27,23 \pm 0,93$ et $34,33 \pm 1,53$ ml chez les animaux traités avec l'extrait aux doses respectives de 50 et 100 mg/kg ($P < 0,05$). Par ailleurs, AJN-07 augmente la natriurie, chez le lot témoin, elle est égale à $66,97 \pm 3,07$ mEq/L contre $72,60 \pm 1,20$ et 78 ± 2 mEq/L respectivement chez les animaux traités aux doses de 25 et de 50 mg/kg ($P < 0,05$); il diminue la kaliurie de 24 h de $27,50 \pm 4,01$ mEq/L chez le lot témoin contre $19,20 \pm 1,90$ et $17,30 \pm 1,90$ mEq/L chez les animaux traités aux doses respectives de 25 et 50 mg/kg ($P < 0,05$). Par contre, il ne change pas le pH urinaire, il est égal à $8,42 \pm 0,2$ chez le lot témoin contre $7,74 \pm 0,67$ et $8,03 \pm 0,41$ chez les animaux traités avec l'extrait aux doses de 25 et 50 mg/kg (N.S.).

Ces effets diurétiques pourraient être dus à l'inhibition de l'action de l'aldostérone par les flavonoïdes dans l'extrait.

Mots clés : cochon d'Inde, diurétique, épargneur de potassium, flavonoïdes.

ABSTRACT

This work aimed to study the activity of the extract AJN-07 in guinea pig. Its effect on diuresis, urine pH, natriuresis and kaliuresis were studied. Oral administration of AJN-07 increases urine volume within 24 h. It is $27,23 \pm 0,93$ and $34,33 \pm 1,53$ ml for the animals treated with the extract at doses 50 and 100 mg/kg respectively versus $10,23 \pm 1,36$ ml for the control animals ($P < 0,05$). Natriuresis of the animals treated with AJN-07 at doses 25 and 50 mg/kg increases to $72,60 \pm 1,20$ and 78 ± 2 mEq/L respectively versus $66,97 \pm 3,07$ mEq/L of the control ($P < 0,05$). Extract AJN-07 reduces kaliuresis in 24 h; it is $27,50 \pm 4,01$ mEq/L for the control group versus $19,20 \pm 1,90$ and $17,30 \pm 1,90$ mEq/L for the animals treated at doses 25 and 50 mg/kg respectively ($P < 0,05$). Administration of the extract does not change urine pH which is $8,42 \pm 0,2$ for the control group versus $7,74 \pm 0,67$ and $8,03 \pm 0,41$ for the animals treated with the extract at doses of 25 and 50 mg/kg respectively (NS).

These diuretic effects could be due to the inhibition of aldosterone action by the flavonoids in the extract.

Key words: guinea pig, diuretic, potassium-sparing, flavonoids.