

## ETUDE PHARMACODYNAMIQUE DU RP 009

### II — ETUDE DE L'ACTIVITE ANTI-PYRETIQUE DE LA PLANTE CODEE RP 009

M. RATSIMBASON et R. ANDRIANTSIFERANA

D'après nos enquêtes ethnobotaniques, RP 009 est utilisée dans les affections broncho-pulmonaires où prédomine la toux. C'est ce qui nous a amenés à rechercher son effet sur la toux provoquée chez le Cobaye (1). Comme par ailleurs, les études de toxicité (9) ont montré son innocuité, des essais cliniques ont été entrepris avant l'achèvement des études pharmacodynamiques. Et ils ont en particulier révélé une action anti-pyrétique accompagnée de la stérilisation des crachats mucopurulents dans les toux infectieuses (7).

La présente note rapporte les investigations effectuées sur l'activité anti-pyrétique. Elles comportent plusieurs étapes :

- mise en évidence de l'activité anti-pyrétique de la décoction lyophilisée ;
- recherche de l'activité anti-pyrétique dans les deux premières fractions isolées ;
- application du test de Randall et Selitto à la fraction active ;
- recherche de l'effet de la fraction active sur la température normale.

#### I — MISE EN EVIDENCE DE L'ACTIVITE ANTI-PYRETIQUE DE LA DECOCTION LYOPHILISEE DE RP 009 (EXTRAIT BRUT) :

Le principe et le protocole expérimental ont été exposés dans une précédente note (8).

##### Résultats :

La figure 1 montre l'effet de l'extrait brut de RP 009 sur l'hyperthermie provoquée chez le Rat.



Ily a effectivement réduction de l'hyperthermie, mais la réponse n'est pas proportionnelle à la dose : 1,20 mg/Kg et 0,30 mg/Kg diminuent l'hyperthermie de 80 p. 100; alors que 0,60 mg/Kg ne donne qu'une réduction de 37 p. 100.

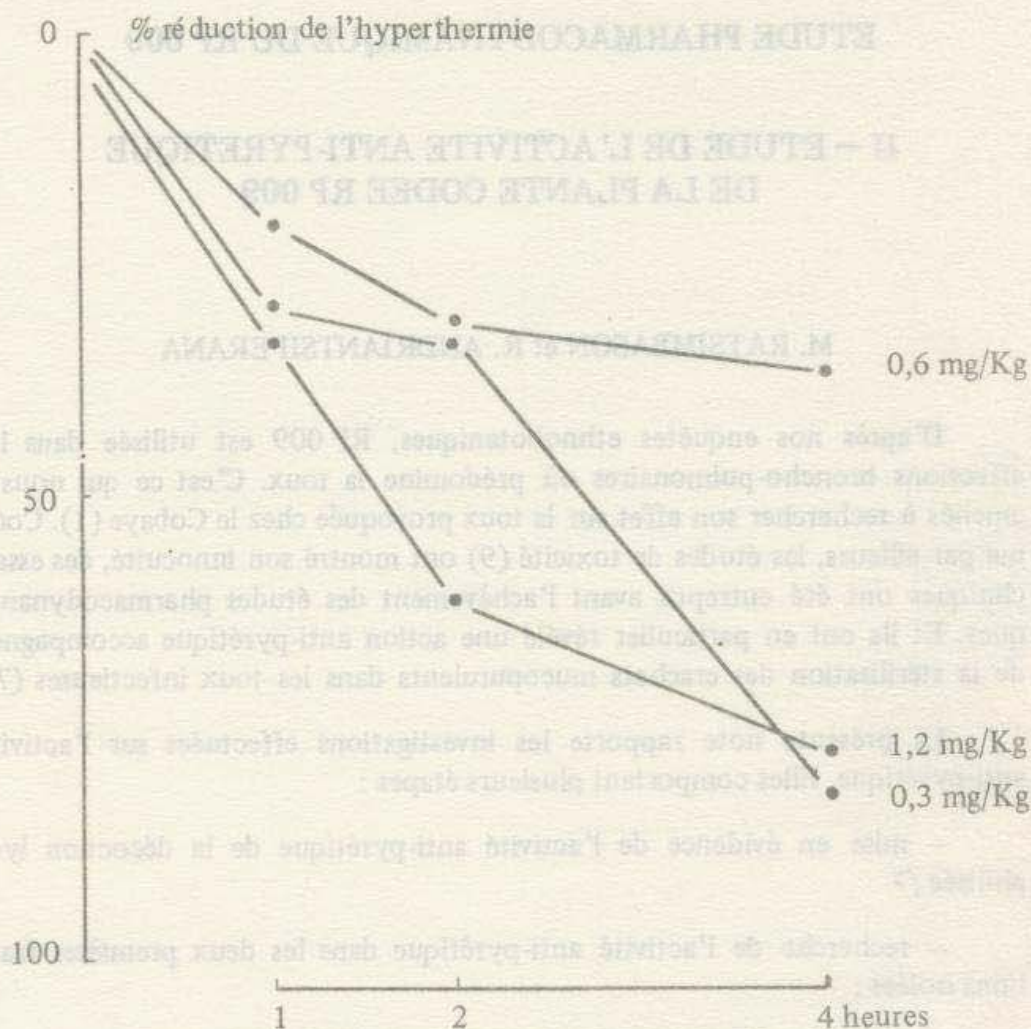


Figure 1 : Réduction en fonction du temps de l'hyperthermie provoquée chez le Rat traité par la décoction lyophilisée de RP 009.

Puisque l'activité anti-pyrétique de RP 009 est ainsi vérifiée expérimentalement, le Département de Chimie a procédé à l'extraction de ses constituants.

La première séparation au méthanol a donné deux fractions : un extrait méthanolique et un résidu méthanolique.



## II – RECHERCHE DE L'ACTIVITE ANTI-PYRETIQUE DANS LES DEUX PREMIERES FRACTIONS ISOLEES :

On applique la même méthode d'hyperthermie provoquée chez le Rat (8).

### 1. Le résidu méthanolique :

La figure 2 montre que cette fraction, comparée à l'extrait brut, a peu d'effet anti-pyrétique aux doses testées. Et c'est la dose moyenne de 0,6 mg/Kg qui a le moins d'effet.

### 2. L'extrait méthanolique :

La figure 3 montre que c'est la fraction méthanolique qui renferme l'activité anti-pyrétique. Et il y a une relation effet/dose.

L'expression linéaire de l'inhibition de l'hyperthermie, 4 heures après l'administration du produit, permet de déduire la  $DE_{50}$  qui est égale à 0,5 mg/Kg (figure 4).

Or nous avons déterminé que, dans les mêmes conditions, la  $DE_{50}$  de l'acide acétyl salicylique est de 74 mg/Kg (8). Bien que les courbes effet/dose des deux produits ne puissent pas être comparées, n'étant pas parallèles, on peut avancer que l'extrait méthanolique de RP 009 a une activité anti-pyrétique plus puissante, à dose égale.

Après avoir identifié la fraction qui renferme l'activité anti-pyrétique, et en attendant que les Chimistes isolent et purifient le(s) principe(s) actif(s), nous avons voulu avoir une idée de son mécanisme d'action.

## III – RECHERCHES PRELIMINAIRES SUR LE MECANISME D'ACTION DE LA FRACTION METHANOLIQUE :

### 1. Principe :

Une inflammation locale entraîne une augmentation de la température de la région enflammée. Les anti-pyrétiques – anti-inflammatoires peuvent atténuer cette hyperthermie locale.

La manipulation se propose de distinguer les anti-pyrétiques à action centrale, tels les dérivés du pyrazole (aminopyrine, antipyrine), des anti-pyrétiques qui n'agissent que sur les processus périphériques (phénylbutazone, salicylate de sodium) (6).



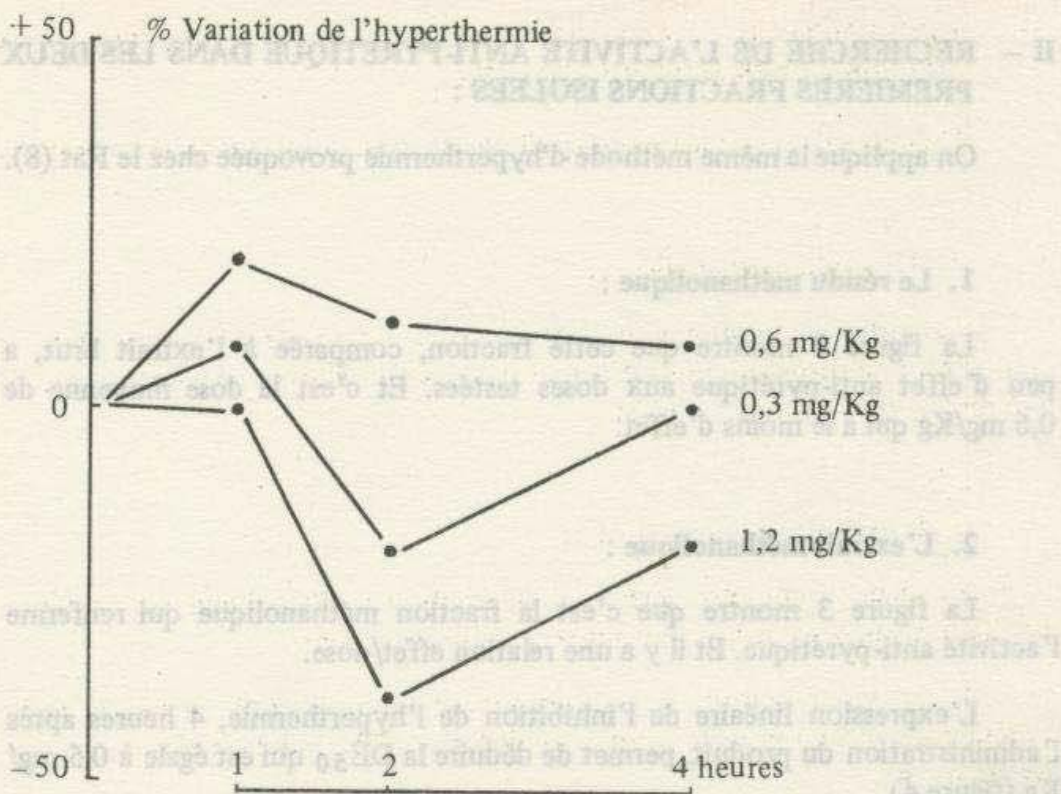


Figure 2 : Variation en fonction du temps de l'hyperthermie provoquée chez le Rat traité par le résidu méthanolique de RP 009.

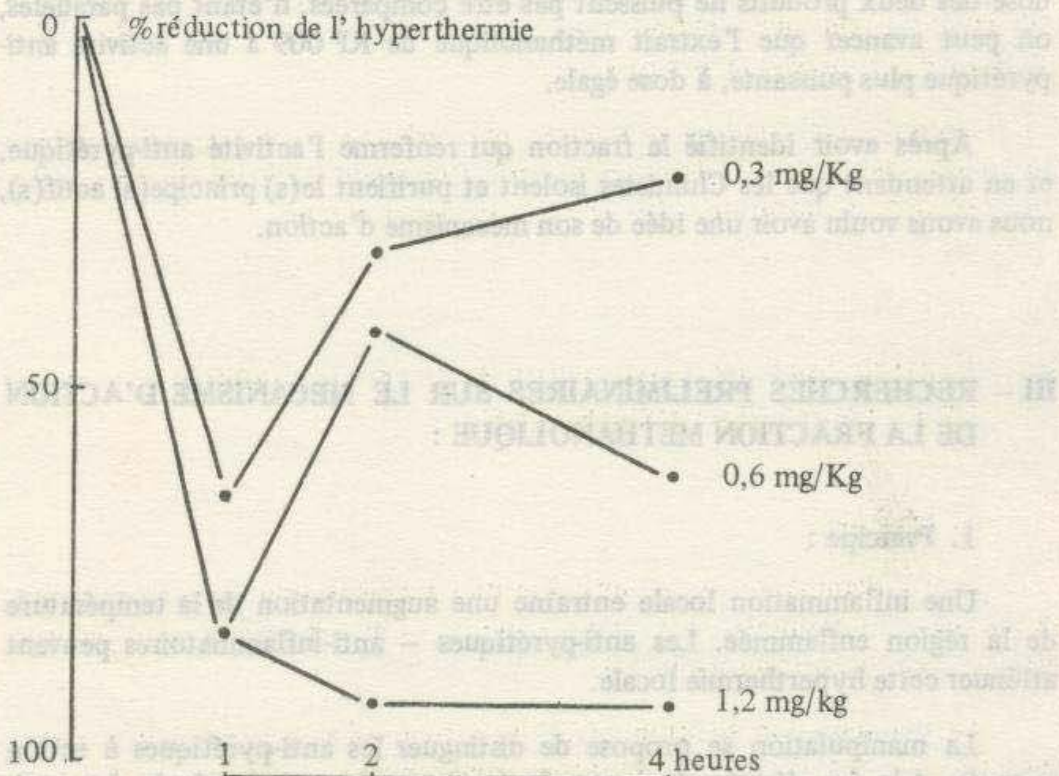


Figure 3 : Réduction en fonction du temps de l'hyperthermie provoquée chez le Rat traité par l'extrait méthanolique de RP 009.



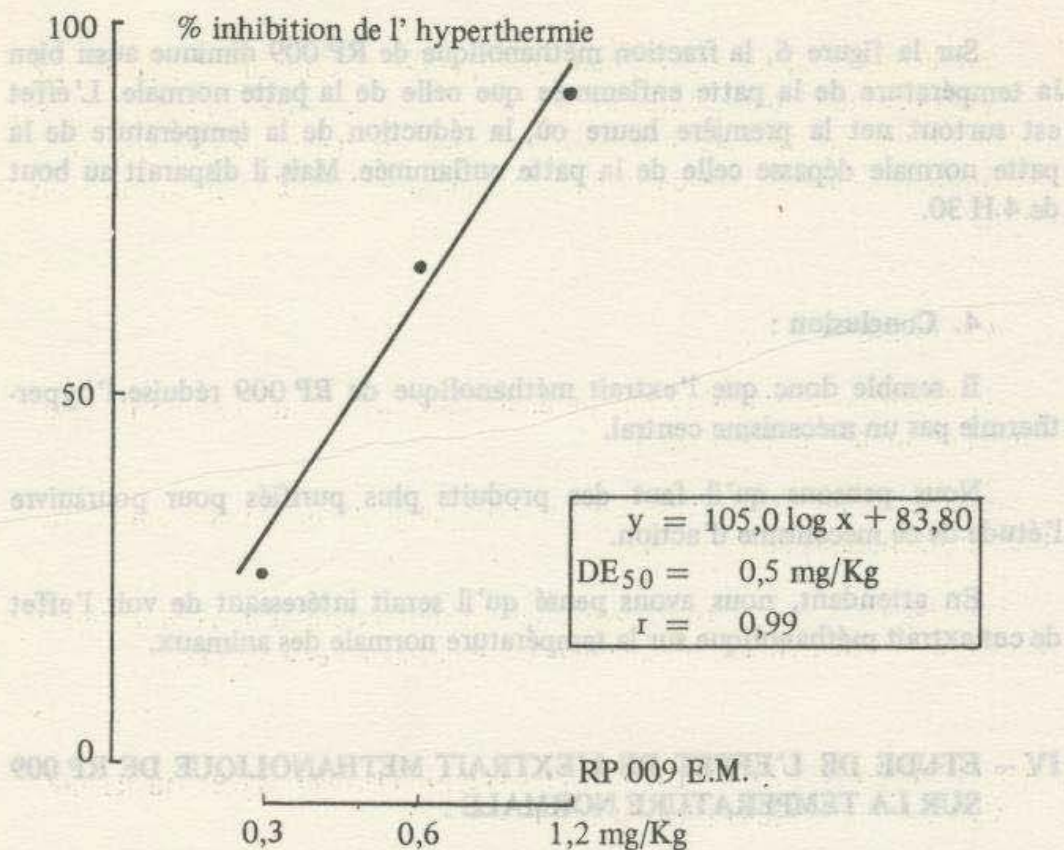


Figure 4 : Droite effet/dose de l'inhibition de l'hyperthermie par l'extrait méthanolique de RP 009 chez le Rat, 4 H après son administration P.O.

Les anti-pyrétiques à action centrale diminuent la température de la région enflammée tout comme celle des surfaces éloignées, intactes. Tandis que le second groupe n'abaisse que la température de la région enflammée.

## 2. Méthode :

Les détails sont exposés dans une note précédente (8).

L'inflammation est provoquée à la patte arrière droite de tous les animaux, qui sont ensuite répartis en quatre groupes de 6. Un groupe sert de contrôle ; les autres reçoivent P.O. la substance étudiée, à des concentrations en progression géométrique.

La température de la patte arrière enflammée et de la patte opposée, normale, est relevée à l'aide d'un téléthermomètre Mettler TM 15, 1 H 30, 2 H 30 et 4 H 30 après l'administration du produit.

## 3. Résultats :

La figure 5 montre que le phénylbutazone, pris comme substance de référence, réduit l'hyperthermie de la patte enflammée et respecte la température de la patte normale. Son effet est durable.



Sur la figure 6, la fraction méthanolique de RP 009 diminue aussi bien la température de la patte enflammée que celle de la patte normale. L'effet est surtout net la première heure où, la réduction de la température de la patte normale dépasse celle de la patte enflammée. Mais il disparaît au bout de 4 H 30.

#### 4. Conclusion :

Il semble donc que l'extrait méthanolique de RP 009 réduise l'hyperthermie par un mécanisme central.

Nous pensons qu'il faut des produits plus purifiés pour poursuivre l'étude de ce mécanisme d'action.

En attendant, nous avons pensé qu'il serait intéressant de voir l'effet de cet extrait méthanolique sur la température normale des animaux.

#### IV – ETUDE DE L'EFFET DE L'EXTRAIT METHANOLIQUE DE RP 009 SUR LA TEMPERATURE NORMALE :

Des rats mâles sont sélectionnés et conditionnés dans une salle maintenue à  $21^{\circ} \text{C} \pm 1$ , comme dans l'étude des anti-pyrétiques (8).

Le produit est administré quotidiennement P.O. à raison de 1 ml/100 g, pendant 15 jours. La température rectale est relevée 3 fois par jour, tous les 2 jours. Trois lots de 14 Rats sont constitués :

- lot I : témoin, eau distillée,
- lot II : acide acétyl salicylique 100 mg/Kg,
- lot III : extrait méthanolique de RP 009 1,2 mg/Kg.

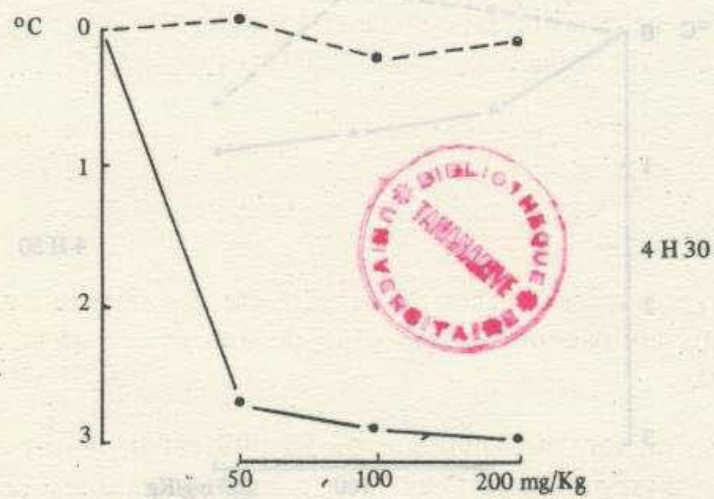
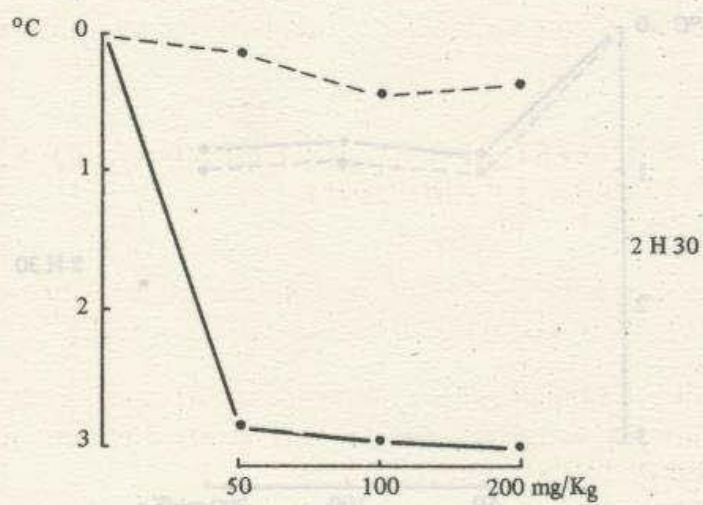
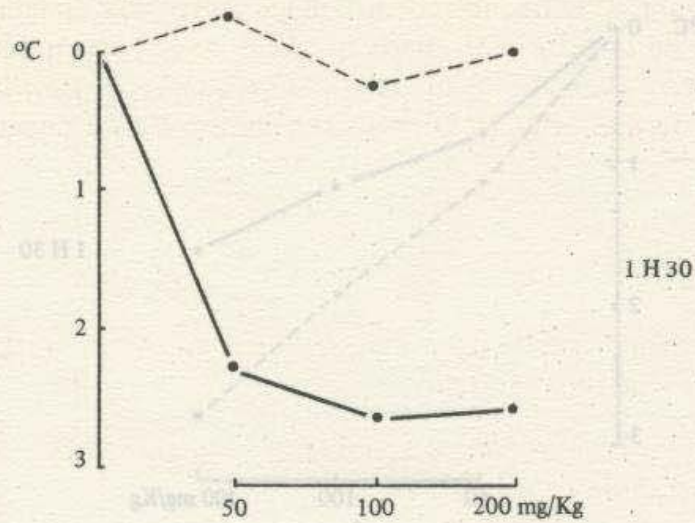
Ces doses choisies réduisent de 80% à 90% l'hyperthermie provoquée par la levure de bière (8).

#### Résultats :

Sur la figure 7, les courbes de température des trois lots ont la même allure et ne diffèrent pas entre elles (analyse de la variance à un facteur contrôlée,  $\alpha = 0,05$ ).

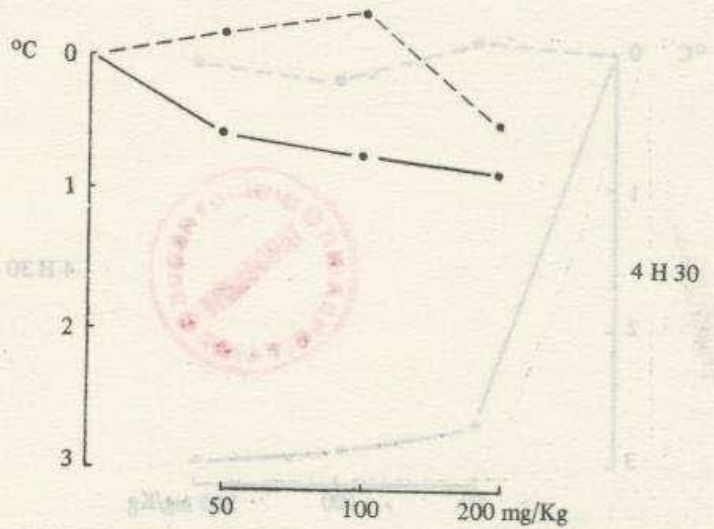
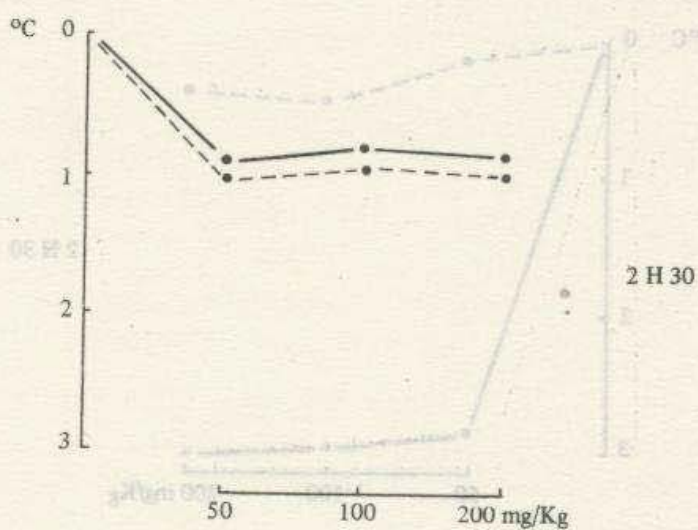
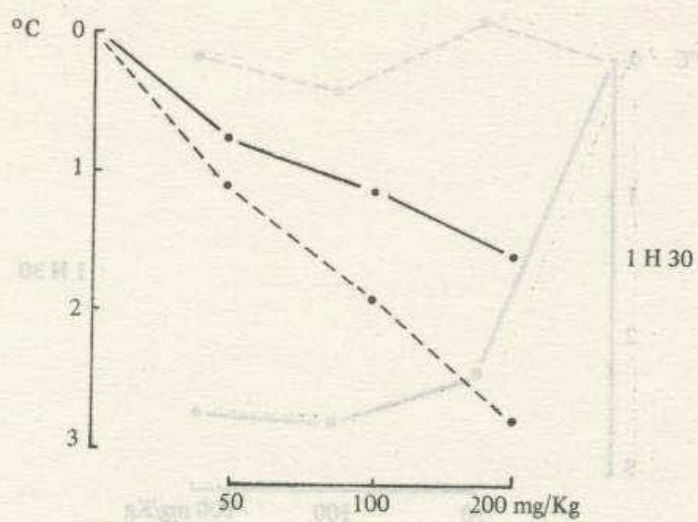
Donc, la fraction méthanolique de RP 009 est un anti-pyrétique qui respecte la thermorégulation, et son action ne se manifeste que si l'hyperthermie est installée.





patte normale      patte enflammée

Figure 5 : Effet anti-pyrétique du phénylbutazone sur la patte enflammée chez le Rat. Effet nul sur la patte normale.



● - - - ● patte normale      ● - - - ● patte enflammée

Figure 6 : Effet anti-thermique de l'extrait méthanolique de RP 009 sur les pattes normale et enflammée chez le Rat.



**Tableau 1 :** Contrôle de la thermorégulation. Chaque chiffre représente la moyenne de la température de 3 prises journalières de 14 mâles. Le traitement avec RP 009 E.M. et l'aspirine a commencé au jour J<sub>1</sub>.

	Eau distillée T° C ± s.e.m.	Aspirine 100 mg/Kg T° C ± s.e.m.	RP 9 E.M. 1,2 mg/Kg T° C ± s.e.m.
	37,8 ± 0,17	38,0 ± 0,11	37,7 ± 0,10
	38,1 ± 0,18	38,1 ± 0,16	37,8 ± 0,11
	38,2 ± 0,20	38,0 ± 0,17	38,0 ± 0,17
	37,9 ± 0,15	38,1 ± 0,14	37,7 ± 0,16
J <sub>1</sub>	37,9 ± 0,09	37,9 ± 0,08	37,7 ± 0,15
J <sub>3</sub>	37,8 ± 0,19	37,8 ± 0,12	37,7 ± 0,17
J <sub>5</sub>	37,7 ± 0,09	37,9 ± 0,08	37,7 ± 0,15
J <sub>7</sub>	37,7 ± 0,10	37,8 ± 0,16	37,6 ± 0,14
J <sub>9</sub>	37,7 ± 0,14	37,8 ± 0,13	37,6 ± 0,12
J <sub>11</sub>	37,2 ± 0,18	37,4 ± 0,12	37,3 ± 0,12
J <sub>13</sub>	37,3 ± 0,16	37,5 ± 0,08	37,2 ± 0,11
J <sub>15</sub>	37,4 ± 0,21	37,5 ± 0,10	37,9 ± 0,12

s.e.m. : standard error of the mean.



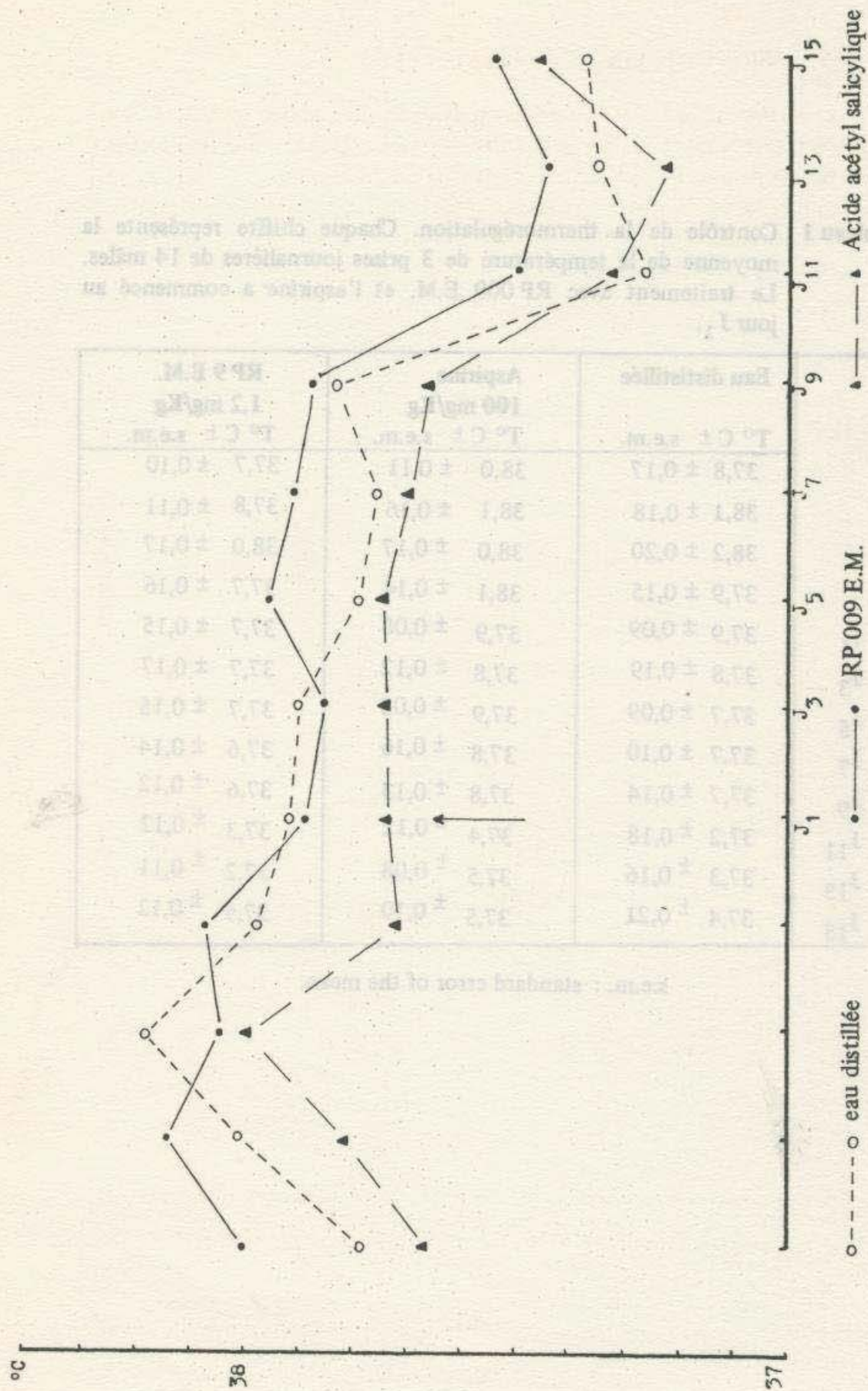


Figure 7: Thermorégulation. La flèche indique le début du traitement.  
 Les produits testés respectent la thermorégulation.



## V - DISCUSSIONS ET CONCLUSIONS FINALES :

L'expérimentation clinique a mis en évidence une action anti-pyrétique du RP 009, accompagnée de la stérilisation des crachats mucopurulents. On pouvait donc penser que la disparition de l'hyperthermie était la conséquence indirecte de l'activité anti-infectieuse, objet d'autres études. Mais ce travail a montré que RP 009 renferme de(s) constituant(s) doué(s) d'activité anti-pyrétique propre. Leur isolement à l'état pur permettra de poursuivre les investigations sur leur mécanisme d'action.

3. CORSTON M.  
Proposal for an evaluation schedule of potential CNS activity of various agents.  
*Pharmac. Therap.*, 1979, 2, 423-429.
4. HIKINO H., OGATA K., KASAHARA Y., KONNO C.  
*Pharmacology of ephedroxanes.*  
*Jour. Jinnopharmac.*, 1985, 13 (2), 173-191.
5. KHATTAK S. G., GHANI S. N., IRKAM M.  
Antipyretic studies on some indigenous Pakistani medicinal plants.  
*Jour. Jinnopharmac.*, 1985, 14 (1), 43-51.
6. RANBYLL L. O.  
2. Prop-narcotic analgesics. *Physiological Pharmacology*. Ed. Hoot.  
*Academic Press, London and New York*, 1963, 313-416.
7. RANAVO-HARIMANANA J.  
Etude de l'activité anti-tumorale de RP 009 en pathologie des vésicules  
malignes.  
*Arch. C.N.R.F., Madagascar*, 1984, 3, 133-136.
8. RATIMBARON M., ANRIANTIRAKANAR.  
Etude au point de vue de quelques techniques pharmacologiques au Centre  
National de Recherches Pharmaceutiques.  
*Arch. C.N.R.F., Madagascar (sous presse)*.
9. RATIMBARON M., RAHARIMANANA LIM SOON V.  
Note préliminaire sur l'étude de la toxicité aiguë de la plante codée  
RP 009.  
*Arch. C.N.R.F., Madagascar (sous presse)*.
10. RUMKE G. L., DEJONGE H.  
*Design: Statistical Analysis and Interpretation.*  
Chap. 3 in: *Evaluation of Drug Activities: Pharmacometrics.*  
Ed. G. L. RUMKE and A. J. BACHARACH.  
*Academic Press, London and New York*, 1964, 1, 47-110.



## BIBLIOGRAPHIE

1. ANDRIANTSIFERANA R., RAJAOMARIA M., RANDRIANTSOA A.  
Contribution à l'étude de l'action anti-tussive de *Baseonema* sp. (Asclépiadacées).  
Arch. C.N.R.P., Madagascar, 1983, 2, 133-140.
2. COLOT M.  
Notions techniques de pharmacologie générale.  
Masson, ed., Paris, France, 1972, 137 p.
3. CORSICO M.  
Proposal for an evaluation schedule of potential CNS activity of various agents.  
Pharmac. Therap., 1979, 5, 427-429.
4. HIKINO H., OGATA K., KASAHARA Y., KONNO C.  
Pharmacology of ephedroxanes.  
Journ. Ethnopharmac., 1985, 13 (2), 175-191.
5. KHATTAK S. G., GILANI S. N., IRKAM M.  
Antipyretic studies on some indigenous Pakistani medicinal plants.  
Journ. Ethnopharmac., 1985, 14 (1), 45-51.
6. RANDALL L. O.  
2. Non-narcotic analgesics. Physiological Pharmacology. Edit. ROOT Hofmann.  
Academic Press, London and New-York, 1963, 313-416.
7. RANAIVO-HARIMANANA L.  
Etude de l'activité anti-tussive de RP 009 en pathologie des voies respiratoires.  
Arch. C.N.R.P., Madagascar, 1984, 3, 133-136.
8. RATSIMBASON M., ANDRIANTSIFERANA R.  
Mise au point de quelques techniques pharmacologiques au Centre National de Recherches Pharmaceutiques.  
Arch. C.N.R.P., Madagascar (sous presse).
9. RATSIMBASON M., RAHARIMANANA, LIM SOON V.  
Note préliminaire sur l'étude de la toxicité aiguë de la plante codée RP 009.  
Arch. C.N.R.P., Madagascar (sous presse).
10. RUMKE C. L., DE JONGE H.  
Design ; Statistical Analysis and interpretation.  
Chap. 3 in : Evaluation of Drug Activities : Pharmacometrics.  
Edit. D.R. LAURENCE and A. L. BACHARACH.  
Academic Press, London and New-York, 1964, 1, 47-110.