

ACTIVITÉ ANTI-SÉCRÉTOIRE ET MUCOPROTECTEUR DE *VERNONIA CINEREA* (ASTERACEAE) CHEZ LE RAT

LOUTFI Y², TEMASOA Y^{1,2,3}, RAMIANDRISOA A J³, ROUKIA D^{1,2,3}

(1) Laboratoire de Recherche en Biotechnologie, Environnement et Santé (LRBES),

(2) Ecole Doctorale "Génie du Vivant et de Modélisation (EDGVM)",

(3) Faculté des Sciences, de Technologies et de l'Environnement (FSTE), Université de Mahajanga.

roukiadjoudi@gmail.com

Résumé

L'objectif de ce travail a été d'étudier l'activité antiulcéreuse de l'extrait de *Vernonia cinerea* chez le rat, *in vivo*. Son activité sur la sécrétion d'acide provoquée par la ligature du pylore et la protection de la muqueuse gastrique a été étudiée après une administration de l'alcool par voie orale à la dose de 1ml pour 200g de rat. La ligature de pylore augmente l'acidité du contenu gastrique dont le pH est égal à $1,66 \pm 0,33$ chez les animaux du lot témoin contre $4 \pm 0,57$ et $5,33 \pm 0,33$ chez les animaux des lots traités avec l'extrait de *Vernonia cinerea* aux doses respectives de 300 et 600mg/kg et avec le produit de référence (Oméprazole) est égal à $6 \pm 0,57$ ($P < 0,05$). L'administration de l'extrait aux doses de 300 et 600mg /kg chez les animaux, diminue la surface des lésions sur la muqueuse gastrique provoquées par l'alcool. La longueur de l'hyperhémie des animaux du lot témoin est égale à $98,33 \pm 13,01$ mm contre $32,66 \pm 16,58$ et $7,66 \pm 7,66$ mm chez les animaux traités avec *Vernonia cinerea* aux doses de 300 et 600 mg/kg et avec le produit de référence (Oméprazole), est égal à $16,66 \pm 4,40$ ($P < 0,05$). Par ailleurs, l'extrait de *Vernonia cinerea* diminue l'acidité gastrique provoquée par la ligature du pylore et protège la muqueuse gastrique contre l'agression de l'alcool. Il possède une activité antiulcéreuse. Les stéroïdes, les triterpènes et les saponines présents dans l'extrait pourraient être les responsables de l'activité antisécrétoire et mucoprotecteur. On peut dire que nos résultats confirment à l'utilisation de *Vernonia cinerea* en médecine traditionnelle comme antiulcéreux.

Mots clés : Antiulcéreux ; antisécrétoire ; mucoprotecteur ; *Vernonia cinerea*

Abstract

The objective of this work was to study the activity antiulcéreuse of the excerpt of *Vernonia cinerea* among the rat, *in vivo*. His/her/its activity on the secretion of acid provoked by the ligature of the pylorus and the protection of the gastric mucous membrane has been studied orally after an administration of the alcohol to the dose of 1ml for 200g of rat. The ligature of pylorus increases the acidity of the gastric content whose pH is equal to $1,66 \pm 0,33$ among the animals of the control share against $4 \pm 0,57$ and $5,33 \pm 0,33$ among the animals of the shares dealt with the excerpt of *Vernonia cinerea* to the respective doses of 300 and 600mg/kg and with the product of reference (Oméprazole) est equal to $6 \pm 0,57$ ($P < 0,05$). The administration of the excerpt to the doses of 300 and 600mg / kg orally among the animals decreases the surface of the lesions on the gastric mucous membrane provoked by the alcohol. The length of the hyperhémie of the mucous membrane of the animals of the control share is equal in $98,33 \pm 13,01$ mm against $32,66 \pm 16,58$ and $7,66 \pm 7,66$ mm among the animals dealt with the excerpt of *Vernonia cinerea* to the doses of 300 and 600 mg/kg and

with the product of reference (Oméprazole) is equal in $16,66 \pm 4,40$ ($P < 0,05$). Otherwise, the excerpt of *Vernonia cinerea* decreases the gastric acidity provoked by the ligature of the pylorus and protect the gastric mucous membrane against the aggression of the alcohol. He/it possesses an activity antiulcéreuse. The steroids, the triterpènes and the saponin present in the excerpt could be the persons responsible of the activity antisécrétoire and gastric mucoprotecteur. One can say that our results confirm to the use of *Vernonia cinerea* in traditional médecine as antiulcéreux.

Keywords : Antiulcéreux ; antisécrétoire ; mucoprotecteur ; *Vernonia cinerea*.

Introduction

Le traitement actuel d'ulcère gastrique repose sur l'utilisation de plusieurs médicaments, ces derniers montrent une efficacité limitée, et sont souvent associés à des effets secondaires graves. C'est pourquoi dans les pays en voie de développement, 80 % de la population se penchent vers la phytothérapie (OMS, 2010), en utilisant différentes plantes, ces dernières ont constitué une source importante de molécules bioactives dotées d'effets thérapeutiques puissants. À Madagascar, plusieurs plantes possèdent des vertus thérapeutiques, et nombreuses sont celles utilisées pour traiter l'ulcère gastrique, comme la décoction des feuilles de *Centella asiatica* (Talapatraka) et *Carica papaya* (papaye) (Nicolas, 2012), les feuilles de *Paederia foetida* (laingomaimbo) (RUBIACEAE) (Riviere et al. , 2005).

D'après les enquêtes ethnopharmacologiques effectuées auprès de la population de la commune urbaine de SAMBAVA, Région SAVA, le décocté des feuilles de *Vernonia cinerea* soulage la douleur épigastrique, et soigne les plaies. Ces données nous ont permis d'émettre une hypothèse que cette plante posséderait une activité antiulcéreuse. Des tests *in vivo* chez le rat ont été effectués pour étudier l'activité antiulcéreuse de l'extrait de *Vernonia cinerea*.

Matériels et méthodes

Enquête ethno pharmacologique

Des enquêtes ethnopharmacologies ont été effectuées auprès de la population de ville de Sambava en 2019. Des personnes âgées plus de 45 ans ont été enquêtées. Les enquêtes consistaient à se renseigner sur le mode d'utilisation, mode de préparation, la partie utilisée ainsi que la durée d'utilisation.

Partie chimique

Préparation de l'extrait

Les tiges feuillées de *Vernonia cinerea* ont été séchées et broyées. 300g de la poudre obtenue ont été macérés dans 3L de méthanol pendant 72 h. Le macérât a été filtré et évaporé à sec. L'extrait obtenu a été pesé pour avoir le rendement selon la formule suivante :

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

Criblage phytochimique

Un criblage phytochimique a été effectué pour détecter les familles chimiques présentes dans l'extrait de *Vernonia cinerea* en utilisant la méthode de FONG et ses collaborateurs en 1977.

Partie pharmacologique

Animaux d'expérimentation

Des rats de race WISTAR mâle et femelle, âgés de 8 à 9 semaines pesant entre 150 et 170 g, ont été choisis. Ils ont été élevés

dans l'animalerie de Laboratoire de Recherche en Biotechnologie, Environnement et de Santé (LRBES) de l'Université de Mahajanga.

*Étude de l'activité anti sécrétoire de l'extrait de *Vernonia cinerea**

Des animaux ont été mis à jeun pendant 24 h avant l'expérience, puis ils ont été répartis en 4 lots de 3 rats : les animaux du lot témoin ont reçu 10 ml/kg d'eau distillée par voie orale et les animaux du deuxième et troisième lot ont reçu de l'extrait de *V. cinerea* aux doses respectives de 300 et 600 mg/kg dans 10ml/kg d'eau distillée (Diel et Heinz, 2010). Un autre lot a reçu de l'Oméprazole à dose de 20 mg/Kg utilisée comme produit de référence. 1h après l'administration de l'eau distillée et de l'extrait, les rats ont été anesthésiés par inhalation de l'éther diéthylique (Kamguia et al., 2011). Une incision de 1 cm a été effectuée au niveau de la région épigastrique des animaux selon la méthode de (Shay *et al.*, 1945). 4h après la ligature de pylore, une laparotomie a été effectuée et l'estomac des animaux a été prélevé, puis son contenu a été versé dans un tube à essai. Après la centrifugation, le surnageant obtenu a été récupéré et le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre.

*Étude de l'activité gastro protectrice de l'extrait de *Vernonia cinerea**

4 lots de 3 rats ont été utilisés, un lot témoin a reçu de l'eau distillée et un autre lot a reçu de l'Oméprazole à la dose de 20 mg/kg utilisée comme produit de référence. Les 2 autres lots ont été traités avec l'extrait aux doses de 300 et de 600 mg/kg de poids corporel. Le produit de référence, l'extrait, l'eau distillée ainsi que l'éthanol ont été administrés

par voie orale. 1h après l'administration de ces produits, tous les animaux ont reçu 1 ml d'éthanol (Sairam et al., 2002). 1h après l'administration de l'éthanol, les animaux ont été sacrifiés puis leur estomac a été prélevé pour mesurer de l'hyperhémie provoquée par l'alcool. Les résultats ont été exprimés par la moyenne de la longueur des hyperhémies et aussi par le pourcentage d'inhibition des hyperhémies chez les animaux traités par rapport aux animaux témoins. L'indice d'ulcère (IU) de chaque estomac a été exprimé comme la somme des points et le pourcentage de protection (PP) a été calculé par rapport au groupe témoin selon la formule suivante :

$$PP = \frac{IU(\text{témoin}) - IU(\text{traitée})}{IU(\text{témoin})} \times 100$$

Où PP : Pourcentage de Protection

IU : indice d'Ulçère

Toxicité aiguë

Les souris ont été réparties en 2 lots de 3 souris et mises à jeun, 24 h avant le test. Elles ont eu accès libre à l'eau. Le volume administré a été fixé à 0,5 ml par souris âgée de 12 semaines de poids de 22 à 30 g par voie orale. Un lot de souris qui a reçu l'eau distillée a servi de témoin et ceux de l'extrait de *Vernonia cinerea* aux doses respectives de 1000 ; de 2000 g/kg ont servi de lots traités. L'observation des signes d'intoxication a été effectuée à 5, 10, 20, 30 min et à 1, 2, 3 jusqu'à 72 h.

Analyses des résultats

Les résultats obtenus ont été exprimés sous forme de moyenne \pm écart type réduit (m \pm e.s.m.). Le test « t » de Student a été utilisé

pour comparer les moyennes entre elles avec un degré de signification $P < 0,05$. (Schwartz D., 1963)

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\left[\frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)} \right] \left(\frac{n_1 + n_2}{n_1 n_2} \right)}}$$

Résultats

Résultats des enquêtes ethnopharmacologiques

Cinquante – cinq (55) personnes dont 35 femmes et 20 hommes, âgées de 45 à 62 ans ont été enquêtées dans la ville de Sambava. 7 plantes ont été recensées. Le mode de préparations est uniquement la décoction. Le mode d'administration est seulement par voie orale et la feuille est l'organe la plus utilisée. Parmi les 55 individus enquêtés, 37% utilisent *Vernonia cinerea*, 18% *Paederia farinosa*, 16% *Annona senegalensis*, 11% *Piper betle*, 7% *Azadirachta indica* et *Leea guineensis* et 4 *Euphorbia hirta* pour traiter la douleur épigastrique.

Résultats phytochimiques

Rendement de l'extraction

A partir de 300 g de poudre du *Vernonia cinerea* macérée dans 3L de méthanol, 42 ;987 g d'extrait sec a été obtenu avec le rendement de 14,329%.

Résultats du criblage phytochimique

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait de *Vernonia cinerea* révèle la présence des triterpènes et stéroïdes en teneur moyenne et les saponines en faible teneur.

Partie pharmacologique

Effet de l'extrait de *Vernonia cinerea* sur la sécrétion acide

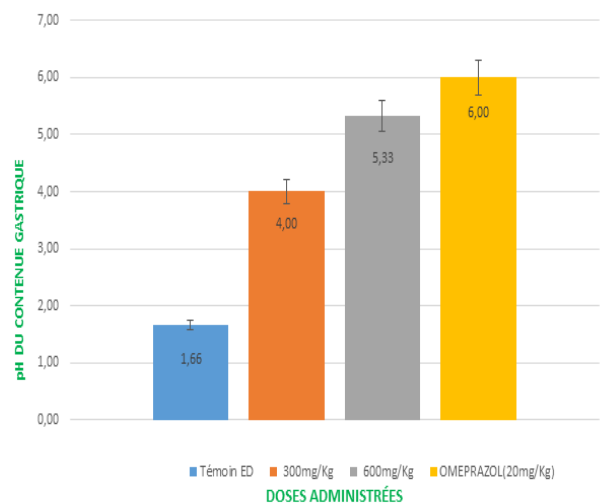


Figure1 Variation du pH du contenu gastrique après la ligature de pylore chez les animaux témoin les animaux traités avec l'extrait de *Vernonia cinerea* administré par voie orale à des doses 300mg/Kg et 600mg/Kg ainsi que l'Oméprazole à dose de 20 mg/Kg ($\bar{X} \pm s.m.$, $p < 0,05$)

Après 4h de la ligature du pylore, le pH du suc gastrique des animaux du lot témoin est inférieur à celui des animaux traités avec l'extrait de *V. cinerea*. Le pH du contenu gastrique des animaux témoins est égal à $1,66 \pm 0,33$ contre $4 \pm 0,57$ et $5,33 \pm 0,33$ chez les animaux ayant reçu de *V. cinerea* à la dose respective de 300 et 600 mg /kg ($p < 0,05$) ainsi que l'Oméprazole à la dose 20mg/Kg est $6 \pm 0,57$. Ces résultats montrent que le pH gastrique des animaux traités avec *V. cinerea* est supérieur à celui des animaux du lot témoin.

Résultats statistiques de pH du contenu gastrique et surface des lésions au niveau de l'estomac

Les valeurs du pH des contenus gastriques obtenus à partir des animaux traités avec *Vernonia cinerea*, présentent une différence significative par rapport au lot témoin avec ($p = 0,02 < 0,05$ et $p = 0,001 < 0,05$).

Par contre, par rapport à la référence, les valeurs du pH sont inférieures à celle de référence, donc il n'y a pas de différence significative avec ($p= 0,07 > 0,05$ et $p=0,37 > 0,05$).

hyperhémies gastriques chez le rat. La longueur de l'hyperhémie gastrique au niveau de la muqueuse gastrique des animaux de lot traités avec l'extrait de *Vernonia cinerea* était inférieure à celle du lot témoin et du lot de référence.

Activité mucoprotectrice de Vernonia cinerea sur la muqueuse gastrique

L'administration de l'alcool de 1ml pour le rat de 200g par voie orale provoquait des

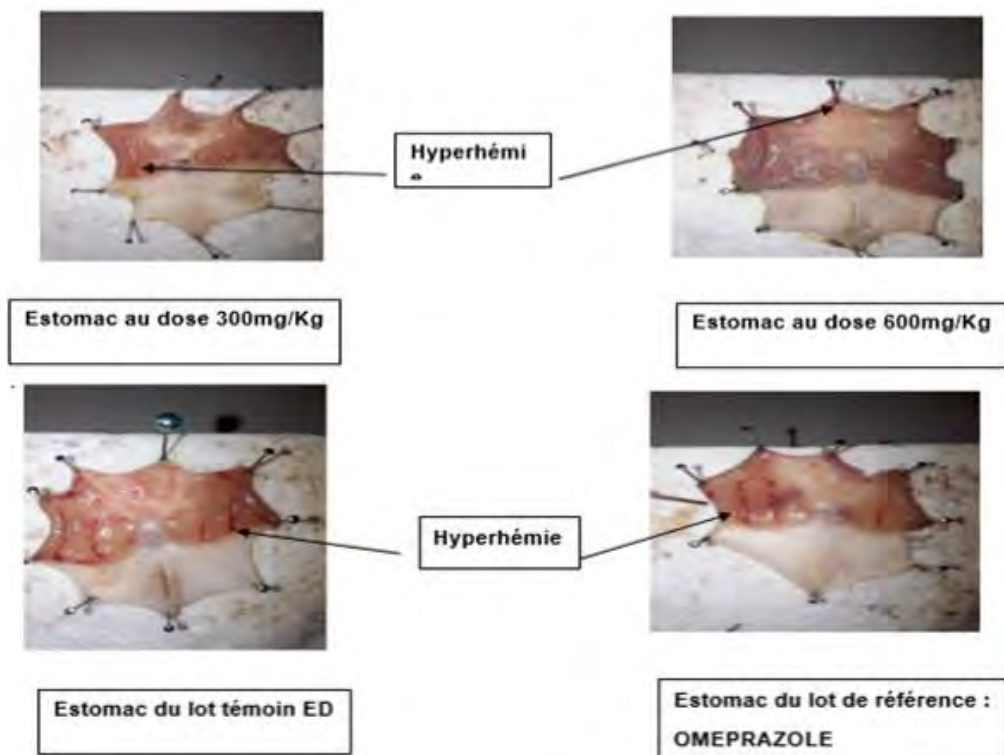


Figure 1' : Hyperhémie provoquée par l'administration de l'alcool à la dose de 1ml pour 200g au niveau de la paroi gastrique (lot témoin ; lot de référence ; lots traités aux doses 300mg/Kg et 600mg/Kg)

Chez le lot témoin ED, la longueur de l'hyperhémie observée au niveau de la surface de l'estomac des animaux est égale à $98,33 \pm 13,01$ mm contre $32,66 \pm 16,58$ mm et $7,66 \pm 7,66$ mm chez les rats traités avec l'extrait de *Vernonia cinerea*, administré par voie orale, aux doses de 300 mg/kg et 600 mg/kg et $16,66 \pm 4,40$ mm pour l'OMEPRAZOLE (20 mg/Kg).

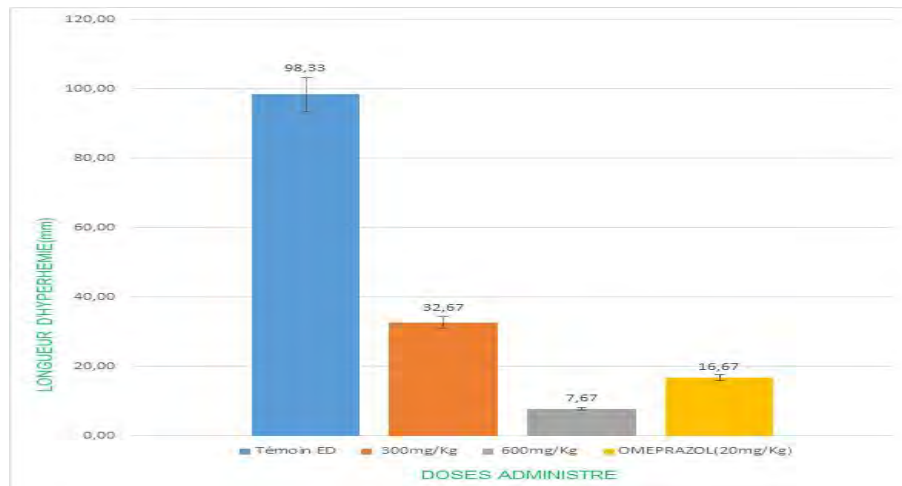


Figure2 Variation de la longueur de l'hyperémie provoqué par l'alcool, administré par voie orale à la dose de 1 ml pour 200g de rats, observé de la paroi gastrique chez les animaux du lot témoin ED de l'OMEPRAZOLE au dose de 20mg/Kg et des lots traités avec l'extrait de *Vernonia cinerea* à des doses de 300mg/ et 600mg/kg (P=0,05)

Ces résultats montrent que l'administration de l'alcool provoque de l'hyperémie au niveau de la paroi gastrique. Toutefois, la longueur de l'hyperémie au niveau de l'estomac des animaux traité avec l'extrait de *V. cinerea* est inférieure à celle observée chez les animaux du lot témoin.

Test toxicité

L'administration par voie orale de *Vernonia cinerea*, aux doses de 1, 2g/kg chez la souris ne provoque aucune mortalité, pendant tout le temps d'observation.

Discussion

L'étude phytochimique réalisée lors de cette étude a permis de révéler la présence des triterpènes, stéroïdes, et de saponine dans l'extrait méthanolique des tiges feuillées de *Vernonia cinerea*.

D'après les résultats obtenus, le pH du contenu gastrique des animaux traités avec l'extrait de *Vernonia cinerea* est supérieur à celui des animaux témoins. L'augmentation du pH du suc gastrique des animaux traités avec l'extrait par rapport au lot témoin, indique une diminution de l'acidité gastrique. D'après les études effectuées sur des feuilles de *Wilbrandia bracteata*, les terpènes inhiberaient la sécrétion de l'histamine (Vasconcelos *et al*, 2010), un puissant stimulant de la sécrétion d'acide gastrique. L'effet anti sécrétoire de notre extrait pourrait être attribué à la présence des terpènes

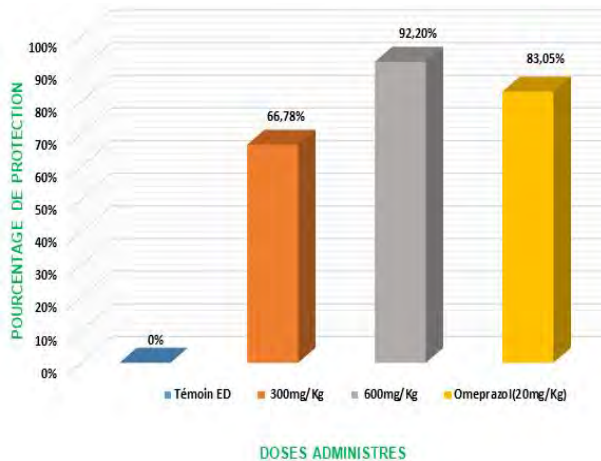


Figure3 Pourcentage de protection gastrique de la formation de l'ulcère provoqué par alcool chez le rat du lot témoin ED produit de référence (oméprazole 20mg/Kg) dose 300mg/ Kg de l'extrait de *Vernonia cinerea* et dose 600mg/Kg

Taux de protection de l'hyperhémie

Par rapport au lot témoin, les lots traités avec l'extrait de *Vernonia cinerea* présentent une différence significative par contre avec l'oméprazole, ils n'ont aucune différence significative.

contenus dans l'extrait, en diminuant l'acidité du suc gastrique et la production totale d'acide. Nous pouvons en déduire que *Vernonia cinerea* inhibe la sécrétion de l'ion H⁺.

Des analyses statistiques montrent que les pH du contenu gastrique des animaux des lots traités avec l'extrait de *Vernonia cinerea* aux doses respectivement 300 et 600mg/Kg, ont une différence significative par rapport au lot témoin. Donc l'extrait a un effet anti sécrétoire. En outre, par rapport à la référence oméprazole (20mg/kg), il n'y a pas une différence significative aux doses 300 et 600mg/Kg de l'extrait, cela veut dire qu'ils ont un effet similaire à la référence.

En administrant l'éthanol, des hyperhémies apparaissent au niveau de la muqueuse gastrique des rats. La résistance de la muqueuse face aux agresseurs endogènes comme l'acide et la pepsine stimulés par des agents irritants comme l'alcool et les AINS, est attribuée à cette architecture particulière (Iyyam et al., 2010). Les résultats de nos tests montrent que la longueur de l'hyperhémie au niveau de la paroi gastrique des animaux traités avec l'extrait de *Vernonia cinerea*, est inférieure à celle des animaux des lots témoins. Et cette longueur diminue en augmentant la dose de l'extrait administré. Cela nous permet de dire que l'extrait protège la paroi gastrique contre l'effet de l'alcool.

Pour réduire l'action agressive de l'alcool, l'extrait de *Vernonia cinerea* pourrait agir directement sur les cellules à mucus, pour produire du mucus et du bicarbonate, ou en se conduisant comme un analogue de prostaglandines, ou en stimulant la synthèse des prostaglandines. En effet, ces dernières activent la synthèse de mucus et du bicarbonate sur la surface de la muqueuse qui

assurent sa protection contre les agents agresseurs (Sherwood, 2006). Les saponines, grâce à sa propriété surfactante, il stimule la sécrétion de mucus comme chez *Momordica charantia*. Les saponines présentes dans l'extrait de *Vernonia cinerea* pourraient également être responsables de cet effet. Par ailleurs, le potentiel mucoprotecteur de notre extrait, peut être du à la richesse de notre plante aux différents métabolites secondaires. Les terpenoïdes agissent en tant qu'antioxydants, réduisent le niveau de peroxydation lipidique et augmentent l'activité des enzymes antioxydants. Donc, on peut dire que le prétraitement des rats par l'extrait méthanolique de *Vernonia cinerea* a fourni un soutien antioxydant à l'estomac.

Conclusion

Les résultats des tests pharmacologiques que nous avons effectués, démontrent que l'extrait de *Vernonia cinerea* est capable d'inhiber l'hypersécrétion acide et de protéger la muqueuse gastrique contre des agents ulcérogènes. L'administration par voie orale de *Vernonia cinerea* aux doses de 1.g/kg jusqu'à 2g/kg ne provoque aucune mortalité chez la souris Ainsi, dans la perspective de la mise au point d'un médicament traditionnel à base de cette plante, il nous est apparu nécessaire d'approfondir les recherches sur l'isolement, la purification et la détermination de sa composition chimique, notamment la mise en évidence de molécule active.

Références bibliographiques

- Dielh -Heinz K. (2010).A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including rats and volume. *Journal Applied Toxicology*, **21** : 15-23.

- Fong. H. H. S., Tin-Wa M., Farnsworth N. R. (1977). Phytochemical Screening. *College of pharmacy*, University of Illinois, Chicago, (USA), 275 – 277.
- Iyyam P. S., Kandaswamy M., Subramanian S. (2010). Antiulcerogenic and ulcerhealing effects of Indian propolis in experimental rat ulcer models. *J. Apiprod. ApiMed. Sci.*, **2** (1): pp 21-28.
- Kamguia G. H. F., Fokunang C., Ngameni B., Njinkio N. B., Tembafokunang (2011). Effet cytoprotecteur de l'extrait aqueux des racines de *Dorstenia psilurus* sur l'ulcère gastrique chez les rats mâles de la souche Wistar. *Health Sci. Dis.*, **12** : 1 - 11.
- Nicolas J. P. (2012). *Plantes médicinales du Nord de Madagascar. Ethnobotanique Antakarana et information scientifique*. Ed. Jardin du monde, France, pp 66-76.
- OMS (2010). L'infection à *Helicobacter pylori* chez 755 patients présentant des symptômes digestifs : Institut Pasteur du Maroc, 1998-2007. *J. East. Mediter. Health*, **7** (16) : pp 75-80.
- Riviere C., Nicolas J.P., Caradec M. L., Desiré O., Schmitt A. (2005). Les plantes médicinales de la Région Nord de Madagascar : une approche ethnopharmacologie. *Bull. Soc. Fr. Ethnopharmacol., Soc. Eur. Ethnopharmacol.* : 36-49.
- Sairam K., Renata DE C.G., Flavia B., Denise D.D., Leonardo N.S., Rao C.V., Dora B.M., Vijay C.K., Agrawal V.K., Goel R.K. (2002). Antiulcerogenic effect of methanolic extract of *Emblica officinalis*: an experimental study. *Journal Ethnopharmacol.*, **82** : 1-9.
- Shay H., Komarov S. A., Fels S. S., Meranz D., Gruenstein M., Siple H. (1945). A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. *Gastroenterol.*, **5** : 43 – 61.
- Sherwood L. (2006). *Physiologies humaines*. 2ème Ed. De Boeck, (Paris), pp 452-462.
- Vasconcelos P.C.P., Andreo M.A., Vilegas W., Hiruma-Lima C.A., Pellizzon C.H. (2010). Effet de MouririPusa tanins et flavonoïdes sur la prévention et le traitement contre l'ulcère gastrique expérimentale. *J. Ethnopharmacol.* **131** : 146-153.