

ACTIVITE ANTI-CONTRACTURANTE DE L'EXTRAIT DE *KHAYA SENEGALENSIS* SUR L'ILEON DE COBAYE

Par

SABLIASSOU, K.; AKLIKOKOU, A. K.; GBEASSOR, M.

Centre de Recherche et de Formation
sur les Plantes Médicinales (CERFOPLAM)
Département de Physiologie Animale,
Faculté des Sciences - Université du Bénin,
B.P. 1515, (Lomé-TOGO).

Résumé :

L'extrait éthanolique des feuilles sèches de *Khaya senegalensis* exerce sur l'iléon de cobaye *in vitro* une action anti-spasmodique et spasmolytique.

A 1mg/ml, l'extrait fait chuter de 100% le plateau de la contracture induite par le spasmogène, Acétylcholine à 0,1 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Celle-ci ne reprend pas même si le milieu est enrichi en calcium. Ces mêmes effets sont obtenus lorsque l'extrait est remplacé par un bloqueur de canal calcique, Vérapamil à 0,5 mg/ ml. En présence d'un chélateur du calcium extracellulaire, EDTA à 0,5 mg/ml, le plateau est toujours réduit mais la contracture est récupérée jusqu'à 90 % après addition progressive du calcium dans le milieu.

Nos résultats laissent suggérer que l'extrait éthanolique des feuilles de *K. senegalensis* relaxe le muscle lisse iléal de cobaye en bloquant tout comme Vérapamil le canal calcique.

Mots clés : *Khaya senegalensis*, canal calcique, spasmogène, contracture, iléon de cobaye.

Introduction

Les organes de *K. senegalensis* (Desr.) A Juss.(Meliaceae) encore appelé caillédrot sont couramment utilisés en médecine traditionnelle pour traiter diverses affections (1).

D'après les données pharmacologiques, l'écorce de tronc a révélé des effets hypothermisant (9), anti-ulcéreux (2), anti-inflammatoire (14) et les feuilles ont montré des propriétés anti-diarrhéiques (13).

Les travaux phytochimiques (11) ont révélé la présence de limonoïdes dans les feuilles de cette plante.

Dans un précédent travail (13), nous avons rapporté que le décocté de feuilles de la plante relaxe l'iléon de cobaye.

Le présent travail a pour objectif d'élucider le mécanisme par lequel l'extrait de *K. senegalensis* agit sur le muscle lisse iléal de cobaye; il s'agit plus précisément d'apprécier l'action de l'extrait sur le mouvement du calcium au niveau de l'iléon car dans le muscle lisse intestinal tout comme les autres types de muscles, le calcium joue un rôle important dans le mécanisme de la contraction.

Matériel et Méthodes

1- Préparation de l'extrait :

Les feuilles de *K. senegalensis* sont récoltées dans le jardin botanique de la Faculté des Sciences, identifiées par le Département de Botanique de la Faculté où un spécimen est déposé dans l'herbier. Les feuilles sont séchées à l'ombre au Département de Physiologie Animale puis réduites en poudre. Celle-ci est laissée en macération dans l'éthanol pendant 48 heures en agitation continue puis filtrée sur du coton hydrophile. Le filtrat est évaporé à 45°C dans un évaporateur rotatif. Le produit obtenu, extrait éthanolique de consistance pâteuse est soluble dans l'alcool.

2- Enregistrement de l'activité biologique :

Le cobaye sans distinction de sexe pesant 300 à 450 g est mis à jeun pendant 24 heures avec accès libre à l'eau. Quelques heures avant l'opération il est privé d'eau. Il est saigné après dislocation cervicale. Après laparotomie, l'iléon est prélevé et placé dans une solution de Mac Ewen. Un morceau de 2 cm environ est découpé et monté dans la cuve à organe isolé rempli de Mac Ewen oxygéné et relié à l'enregistreur GOULD 8000S par le capteur mécanique. La tension de base est maintenue à 0,5 g et la température du bain à 37 °C.

3- Protocole expérimental : Deux types de protocoles ont été expérimentés:

- Le test préventif: Ce test permet de mettre en évidence la propriété anti-spasmodique de l'extrait (10). On fait agir sur le tonus de base l'extrait suivi 1mn plus tard du spasmogène, Acétylcholine (Sigma) à 0,2 µg/ml. La contracture obtenue est comparée à celle produite par le spasmogène seul.

- Le test curatif : Il est utilisé pour apprécier le potentiel spasmolytique de l'extrait (3). L'iléon est précontracté par le spasmogène. Une fois le plateau obtenu on fait agir l'extrait.

Pour reconstituer le milieu en calcium, lors des expériences réalisées en milieu sans calcium, 4 injections de 1,2mg chacune de chlorure de calcium ont été effectuées, soit 4,8 mg c'est-à-dire 0,24 mg/ml (concentration de chlorure de calcium dans le Mac Ewen normal) à la quatrième injection.

4- Les solutions : La solution de référence utilisée est le Mac Ewen.

L'extrait est solubilisé dans l'éthanol à 1%, dose qui n'a aucun effet sur le paramètre physiologique.

Vérapamil (Sigma) et EDTA, Ethylène Diamine Tétracétique (Sigma) sont préparés de manière à avoir les concentrations finales de 0,5 mg/ ml.

Remarque : Pour chaque protocole expérimental, 4 essais au moins ont été effectués.

Résultats

1- Effets de l'extrait éthanolique sur l'iléon:

L'Acétylcholine (ACH) à 0,2 μg /ml induit sur le muscle iléal une contracture d'environ 3,5 g d'intensité. L'effet se maintient à 2g pendant plusieurs minutes (Fig.1). Le tonus de base est retrouvé après lavage.

Lorsque le spasmogène est précédé de l'extrait 10^{-4} g/ml, l'intensité de la contracture est réduite. L'effet se stabilise au bout de 4 mn avec un taux de réduction de 80%. A 10^{-3} g/ml, le taux de diminution est estimé à 87,5 % à l'état stable (Fig.2 : a, b).

L'extrait à 10^{-3} g/ml appliqué au niveau du plateau de la contracture provoquée par le spasmogène relaxe le muscle lisse jusqu'au tonus de base au bout de 3mn environ (100 % de réduction). Cet effet est suivi d'une hypotonie (Fig. 3).

2 - Activité anti-calcique de l'extrait :

En milieu sans calcium, l'effet de l'ACH est supprimé. Cet effet est restauré progressivement après addition de doses croissantes de chlorure de calcium (Fig. 4).

Le milieu sans calcium provoque une hypotonie du muscle; le tonus de base est récupéré par l'addition au milieu du chlorure de calcium (Fig.5). Lorsque l'extrait est ajouté au milieu sans calcium, le tonus de base n'est pas restauré par l'apport des ions Ca^{2+} (Fig. 6)

K. senegalensis à 10^{-3} g/ml relaxe le muscle précontracté en présence de ACH. L'apport supplémentaire de calcium ne présente aucun effet (Fig.7a). Lorsque l'extrait est remplacé par EDTA à 0,5 mg/ml, la contracture est récupérée à environ 90 % en

présence de calcium (Fig. 7b). Par contre l'addition de calcium n'inverse pas l'effet de relaxation induite par Vérapamil à 0,5 mg /ml sur l'iléon précontracté (Fig. 7c).

Discussion et conclusions

L'extrait éthanolique de feuilles de *K. senegalensis* tout comme le décocté réduit le tonus de base, inhibe l'action de l'ACH et relaxe le muscle précontracté par le spasmogène. Il a une action anti-spasmogène et présente des propriétés spasmolytiques.

D'après nos résultats, le calcium est indispensable pour la manifestation de l'effet contracturant de l'ACH puisque l'effet du spasmogène qui est supprimé en milieu sans calcium est restauré après addition du calcium dans le milieu. En effet la contraction du muscle lisse est sous-tendue par le calcium (12,15), surtout l'augmentation du calcium intracellulaire. Celle-ci peut provenir de la libération du calcium des sites intracellulaires, de l'influx calcique par le canal voltage-dépendant ou récepteur-dépendant (8) ou de l'efflux actif du calcium. L'ACH en favorisant l'ouverture des canaux calciques du muscle iléal facilite l'influx calcique, accroît la concentration calcique intracellulaire et provoque la contracture (7, 4, 12).

L'EDTA et le Vérapamil sont des anti-calciques. L'EDTA est un chélateur de calcium et rend par conséquent inefficace le calcium extracellulaire (5). Il relaxe le muscle précontracté par l'ACH mais l'augmentation du calcium extracellulaire permet d'inverser à 90 % l'effet. Le Vérapamil par contre relaxe l'iléon de façon irréversible même après augmentation du calcium dans le bain. Il empêche l'entrée du calcium dans la cellule par blocage du canal calcique (6).

L'effet de l'extrait étant comparable à celui de Vérapamil, ce qui suggère que l'extrait de *K. senegalensis* relaxe l'iléon de cobaye en bloquant le canal calcique ou en empêchant l'entrée du calcium dans le cytosol.

Remerciements :

Les auteurs remercient l'AUPELF-UREF qui a apporté son soutien financier à ce travail dans le cadre du Programme JER 3006.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- **ADJANOHOUN E.J.; AHYI M.R.A.; AKE ASSI L. et Coll. (1986)**
Contribution aux études ethnobotaniques floristiques au TOGO.
ACCT, 389-392.
- 2- **AKLIKOKOU A.K. ; GBEASSOR M. et NAPO K. (1995)**
Action anti-ulcéreuse de quelques plantes médicinales.
Pharm. Méd. trad. afric. VIIIe colloque ; 55-60.
- 3- **AL-KHALIL S; AQEL M.; AFIFI F. et al- EISAWI D. (1990)**
Effects of an aqueous extract of *Ferula ovina* on a rabbit and guinea pig smooth muscle. *J. Ethno-pharmacology* ; 30 (1) ;35-42.
- 4- **BOLTON, TB (1979)**
Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. *Physiological Reviews* ; 59 (3) ; 607-718.
- 5- **EHILE, E.E.; OUEDRAOGO, L. et AKA, K.J. (1990)**
Effet inotrope positif d'un extrait de *Mansonia altissima* (A Chev.) sur le duodénum isolé de lapin. *Méd. Pharm. Trad. Afric.* 4 (1); 3-16
- 6- **FLECKENSTEIN, A. (1983)**
History of calcium antagonists. *Circ.Res.*,33, 612-626
- 7- **GILLIS, J-M (1977)**
Le couplage excitation-contraction dans la fibre musculaire squelettique et cardiaque. *J. Physiol.* 73 (6), 863-876.
- 8- **KARAKI, H. et WEISS, G.B. (1988)**
Calcium release in smooth muscle. *Life Sc.* 42, 111-122.
- 9- **LOMPO, M.; GUISSOU, I.P.; KABORE, SAWADOGO, M. (1995)**
Effet hypothermisant et toxicité générale aigüe chez les souris des écorces de tronc de KASE. *Pharm.Méd.trad; afric.*; VIIIe colloque ; 73-80.

- 10- **NOAMESI, B.K.; BOGALE, M. et DAGNE, E. (1990)**
Intestinal smooth muscle spasmolytic actions of the aqueous extract of the roots of *Taverniera abyssinica*. *J. Ethnopharmacol.* 30 (1); 107-113.
- 11- **OLMO, L.R.V. ; da SILVA, M.F.G.F.; FO, E.R.; VIEIRA, P.C.; FERNANDES J.B.; PINHEIRO AL et VILELA EF (1997)**
Limonoids from leaves of *Khaya senegalensis*. *Phytochemistry* ,44 (6); 1157-1161.
- 12- **RODGER, I.W. (1985)**
Excitation-contraction coupling and uncoupling in airway smooth muscle. *British J. Chemical Pharmacol.*20, 255S-266S.
- 13- **SABLASSOU, K. (1996)**
Etude des Propriétés Pharmacologiques de quelques plantes à action anti-diarrhéique. Mémoire de DEA Pharmacologie-Physiologie. Lomé (TOGO).
- 14- **THIOUNE, O.; POUSSET, J.L. et LOI, I. (1997-1998)**
Contribution à l'étude de l'action anti-inflammatoire des écorces de *Khaya senegalensis* (Desr) A Juss. *Rev. Méd. Pharm. Afr.*; 11-12 ; 131-142
- 15- **YAU, W.M.; DORSETT, JA et PARR, F.L. (1989)**
Characterization of acetylcholine release from enzyme-dissociation myenteric ganglia. *Am. J. Physiol* 256 (1); G233-G239.

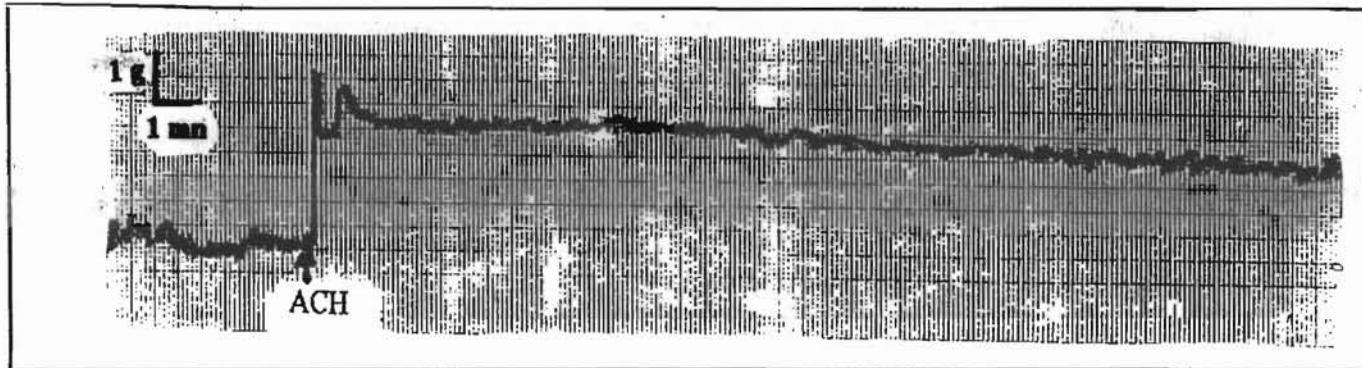


Fig.1: Effet contracturant de l'acétylcholine (ACH) à 2.10^{-8} g/ml sur l'iléon de cobaye *in vitro*

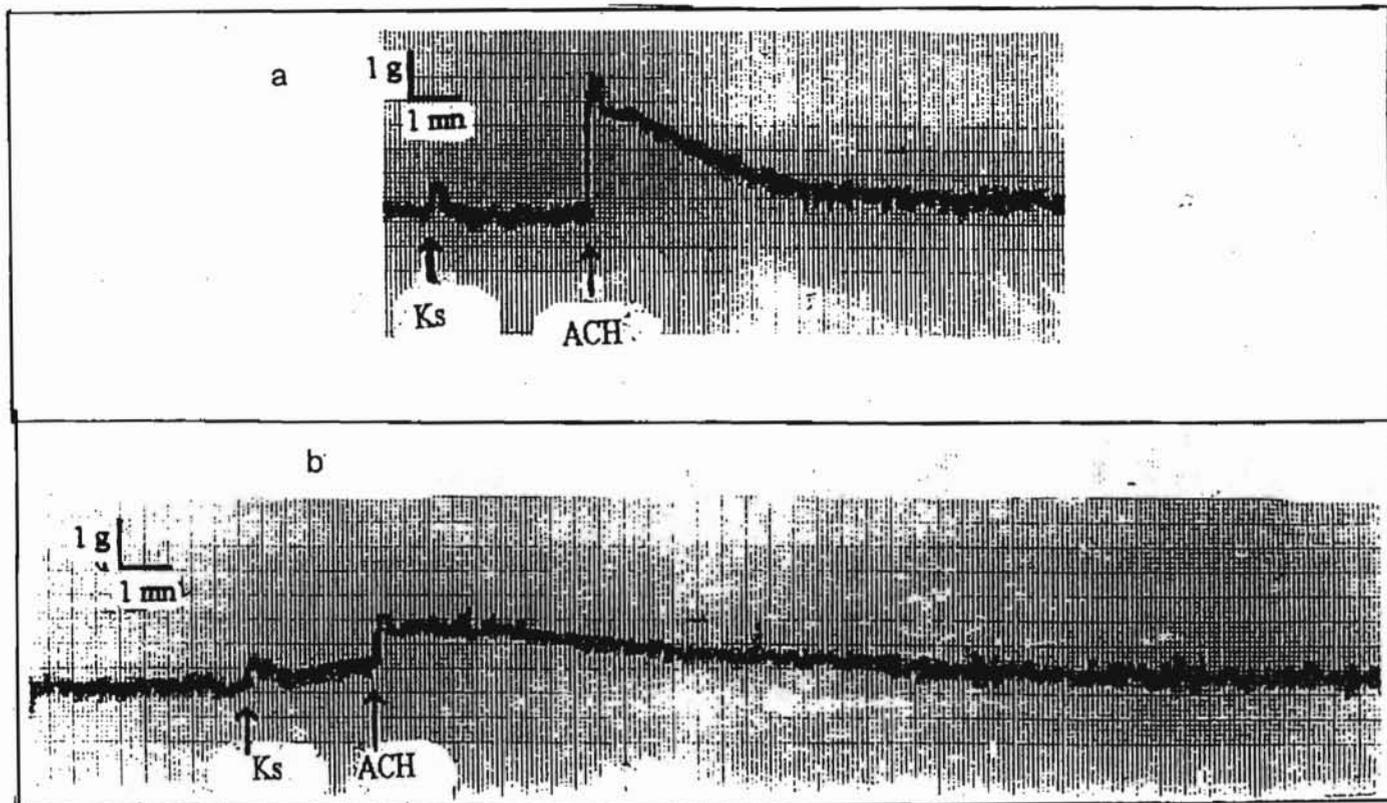


Fig 2 : Action antispasmodique (préventive) de l'extrait éthanolique des feuilles sèches

de *Khaya senegalensis* (Ks) sur l'iléon de cobaye *in vitro* :

a : à 10^{-4} :g/ml

b : à 10^{-3} :g/ml

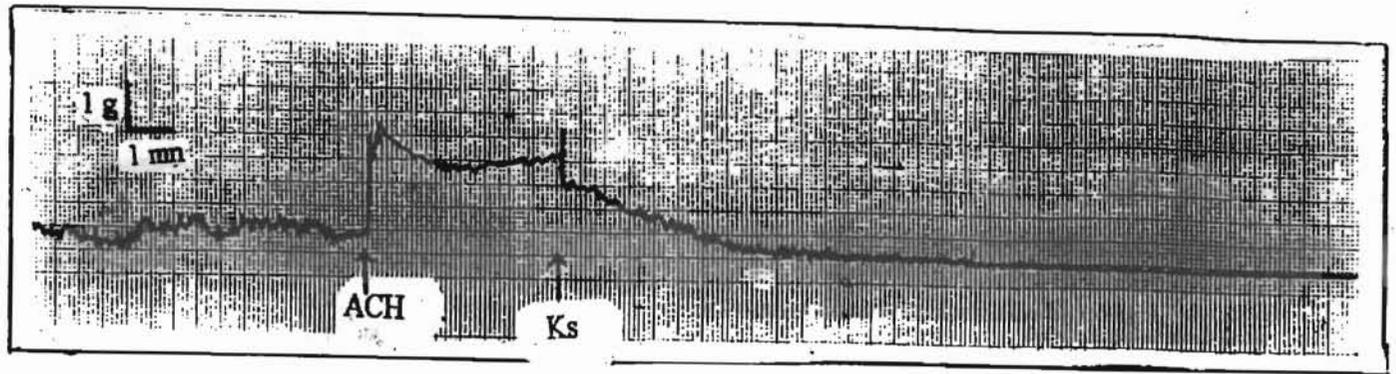
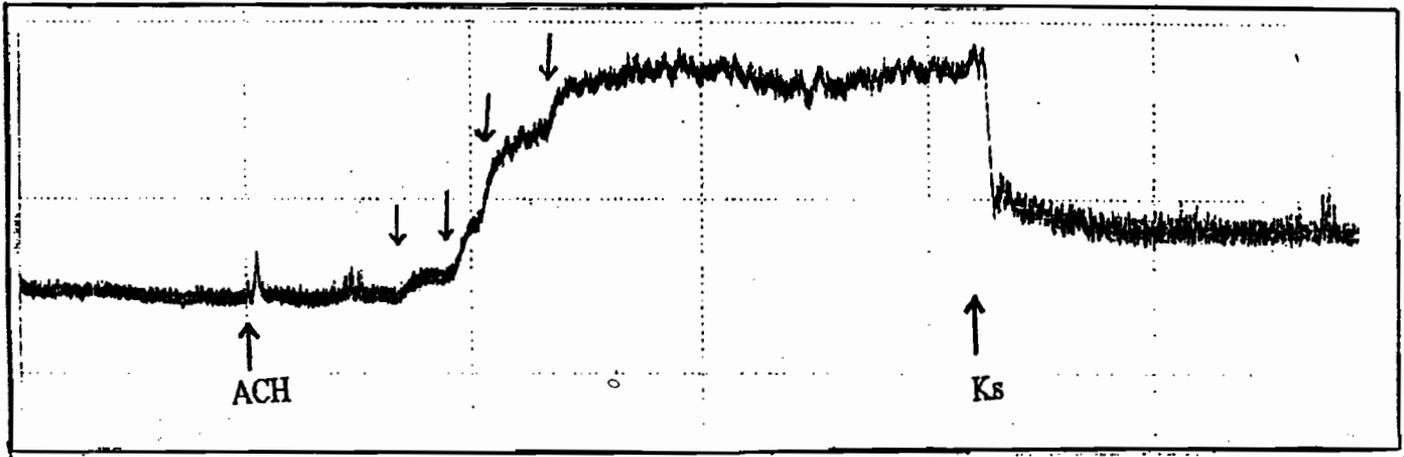


Fig 3: Effet spasmolytique (curatif) de l'extrait éthanologique des feuilles sèches de *Khaya senegalensis* (Ks) à 10^{-3} g/ml sur l'iléon de cobaye *in vitro*



**Fig. 4: Importance de Ca dans l'action contracturante de l'acétylcholine (ACH)
sur l'iléon de cobaye *in vitro***

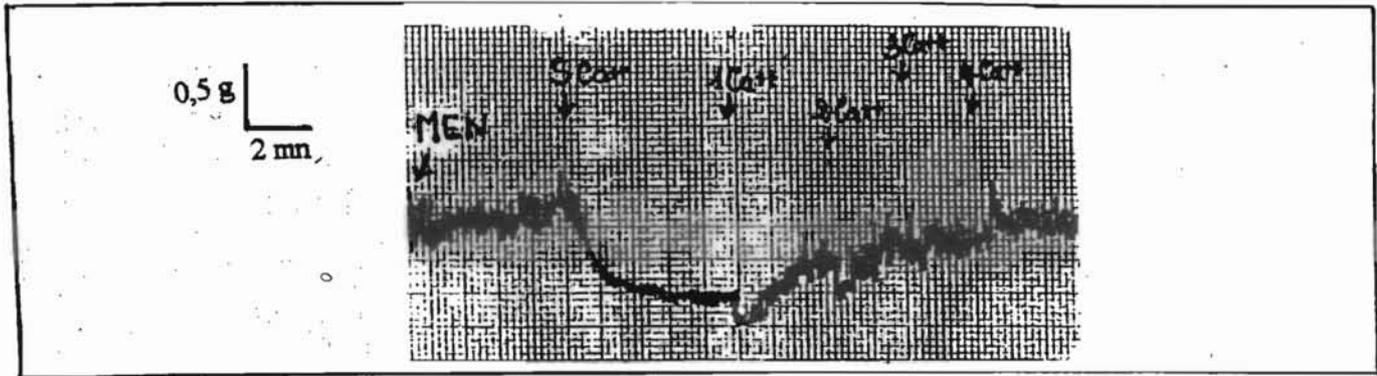


Fig 5: Influence du Ca sur le tonus de base de l'iléon de cobaye *in vitro*

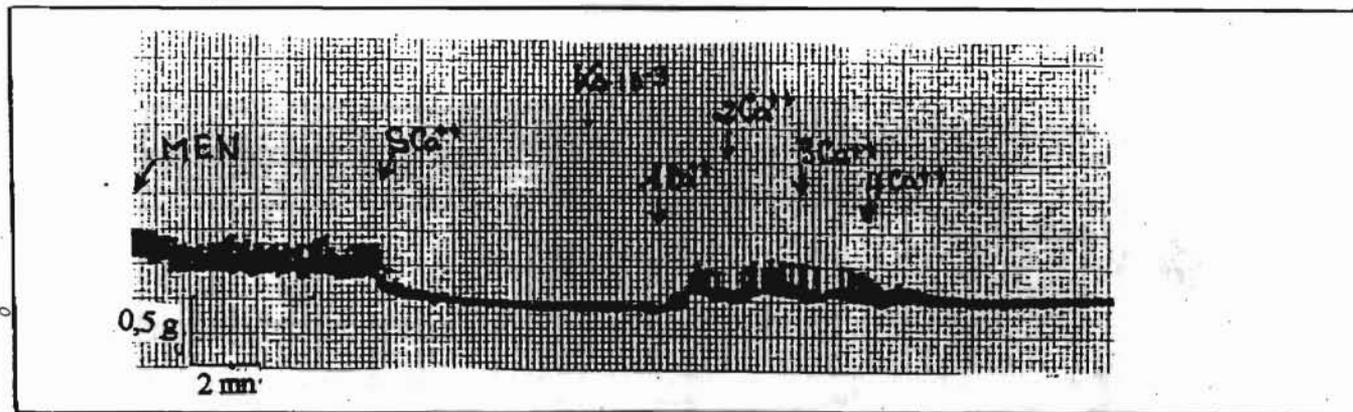


Fig 6: Effet du Ca sur le tonus de base de l'iléon de cobaye *in vitro* en présence de Ks à 10^{-3} g/ml

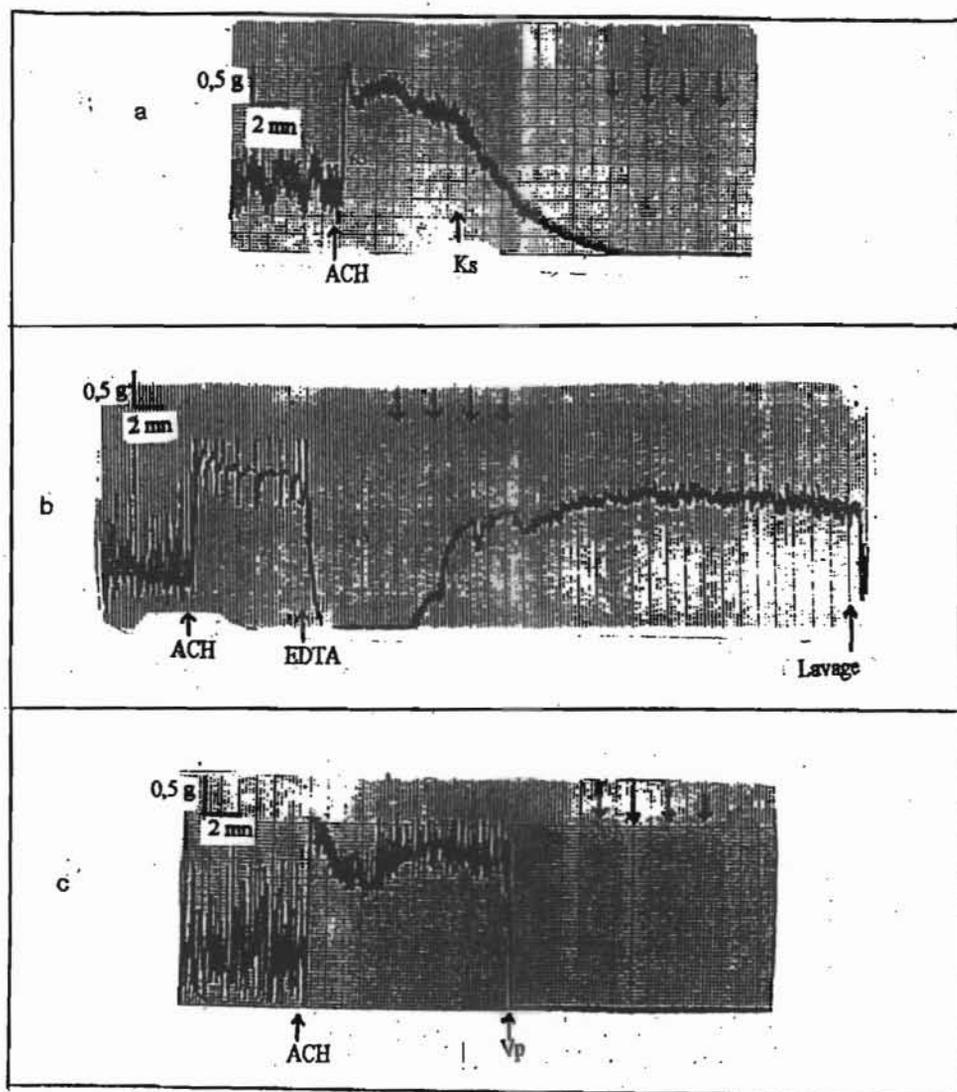


Fig 7: Influence d'une addition de Ca sur l'effet spasmolytique de:

- a: l'extrait éthanolique des feuilles sèches de *Khaya senegalensis* (Ks) à 10^{-3} g/ml
- b: l'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) à 0,5mg/ml
- c: Vérapamil (Vp) à 0,5mg/ml