

**ETUDE DES PROPRIETES ANTI-INFLAMMATOIRES
DE LA RACINE DE *PLUCHEA OVALIS* (PERS.) DC.
(ASTERACEAE) CHEZ LE RAT.**

AGBONON, A., AKLIKOKOU, K., AKPAGANA, K., et GBEASSOR, M.*

** Centre de Recherche et de Formation sur les Plantes Médicinales (CERFOPLAM)
Faculté des Sciences (Université de Lomé); Laboratoire JER 3006.*

Résumé

Les effets anti-inflammatoires et antipyrétiques de la racine de *Pluchea ovalis* ont été évalués sur les rats wistar de poids allant de 100 à 120 grammes.

Le décocté et l'extrait éthanolique de la racine de *P. ovalis* sont administrés par voie sous cutanée 30 minutes avant l'induction de l'inflammation (l'œdème de la plante de pied) par 0,1 ml de formaldéhyde à 1%. Le décocté inhibe l'inflammation de 67,21% à la dose de 2 g éq.mv/kg alors que l'extrait éthanolique à la dose de 750 mg/kg l'inhibe à 72,13%. La drogue de référence, utilisée est indocide, à la dose de 100 mg/kg inhibe l'inflammation de 47,41%.

L'extrait éthanolique de la racine de *P. ovalis* réduit également de manière significative l'hyperthermie induite par 2 ml/kg de la levure de bière à 12%.

Mots clés : *anti-inflammatoire, antipyrétique, oedème, Pluchea ovalis*

Summary : *The root of Pluchea ovalis (PERS.) DC. (Asteraceae) had been investigated for its anti-inflammatory and antipyretic effect on rats of either sex (100-120 g). Aqueous and ethanolic extracts of the root of P. ovalis administered subcutaneously inhibited significantly formaldehyde-induced paw oedema. Moreover, ethanolic extract inhibited brewers' yeast-induced hyperthermia.*

Key words: *Pluchea ovalis; anti-inflammatory; antipyretic; oedema.*

1. INTRODUCTION

Pluchea ovalis (PERS.) DC. (Asteraceae) est considérée au Togo comme une espèce rare. Elle n'a jamais fait l'objet d'une étude pharmacologique mais, l'espèce voisine, *P. indica* est étudiée en Inde par Sen et Nag (1991) pour ces propriétés anti-inflammatoires. D'autres espèces comme *P. lanceolata* et *P. odorata* sont utilisées en médecine traditionnelle dans les Antilles.

L'objectif visé dans ce travail est d'effectuer des tests préliminaires pour voir si *P. ovalis* possède des propriétés pharmacologiques similaires à celles de *P. indica*, car les maladies inflammatoires sont des pathologies fréquentes dans les milieux tropicaux. En effet, 58,9% des enfants de moins de quatre ans au Sud du Togo souffrent de maladies inflammatoires (Senayah, 1990).

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Matériels

Le matériel végétal est constitué par la racine de *P.ovalis* récoltée dans la zone lagunaire Est de Lomé en juillet 1998. Un échantillon de la plante est récolté et identifié par le Département de Botanique de la Faculté des Sciences de l'Université du Bénin où un spécimen est conservé.

Les rats Wistar adultes (100 à 120 grammes) sont utilisés pour les tests anti-inflammatoires et antipyrétiques. Pour cet intervalle de poids le volume du pied des animaux est de 0,8 ml. Ces animaux sont produits par le Département de Physiologie Animale de la Faculté des Sciences. Ils ont une alimentation composée de maïs (48%), blé (24%), poisson (22%), huile d'arachide (5%) et un supplément de sels minéraux et de vitamines.

Nous avons utilisé le dispositif de Bhatt et al., (1977) modifié pour évaluer le volume du pied des rats. Pour mesurer la température anale des rats nous avons utilisé une sonde thermique connectée au physiographe BIOPAC qui comporte un amplificateur SKT100 (Skin Temperature Amplifier) et un micro-ordinateur (système Acq MP100 sous windows 95).

2.2. Méthodes

2.2.1. Préparation des extraits

Les racines de *P.ovalis* sont coupées en petits morceaux et séchées à l'ombre puis réduites en poudre. L'extrait éthanolique est préparé en macérant 230 grammes de poudre dans 3 litres d'alcool à 95° pendant 72 heures en agitation continue. Après la décantation le surnageant est filtré et le filtrat est évaporé sous vide à 35°C dans un évaporateur rotatif. Nous avons 24,38 grammes d'extrait éthanolique sont ainsi obtenus. Cet extrait sera rendu soluble par le Tween 80. Le volume de Tween 80 utilisé n'a aucun effet sur les paramètres physiologiques testés.

Le décocté est préparé à partir de la même poudre soit 10 grammes dans 15 ml d'eau distillée en ébullition pendant 15 minutes. Le volume final recueilli est ajusté à 5 ml ce qui donne une concentration de 2 g éq.mv/ml .

2.2.2. Induction et détermination du volume de l'œdème

L'œdème est provoqué par l'injection dans l'aponévrose de la plante du pied de 0,1ml de formaldéhyde à 1% (Sen et Nag, 1991). Les mesures du volume du pied sont effectuées à 0; 30; 60; 120 et 180 minutes après l'injection du formaldéhyde.

Trente minutes avant l'injection du formaldéhyde, les rats à traiter ont reçu par voie sous cutanée 50, 100, 500 et 750mg/kg d'extrait éthanolique ou 0,2; 0,5 ; 1 et 2g éq. mv/kg du décocté de *Pluchea ovalis*. L'indocide est utilisé comme produit de référence à la dose de 100mg/kg.

Le volume du pied est déterminé par immersion qui provoque une augmentation du niveau d'eau. Nous ramenons le niveau de l'eau à sa position initiale dans la grande seringue à l'aide des deux petites seringues. Le volume du pied qui correspond à la quantité d'eau déplacée est directement lu sur les petites seringues. Le volume de l'œdème V_T à un temps t donné est :

$$V_T = V_t - V_o$$

- V_o : le volume initial du pied,
- V_{ti} : le volume du pied au temps t .

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème est selon Szekely et al., (1997) :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 (V_{Tf} - V_{Tp}) / V_{if}$$

- V_{Tf} : le volume de l'œdème chez les rats témoins ayant reçu uniquement le formaldéhyde,
 - V_{Tp} : le volume de l'œdème chez les rats traités avec les extraits de *P. ovalis*.
- Le nombre de rats utilisé pour chaque dose est de 6 (six).

2.2.3. Evaluation de l'activité antipyrétique

L'hyperthermie est induite chez les rats par l'administration sous cutanée au niveau de l'abdomen de la levure de bière (Lb) à 12%, à la dose de 2ml/kg. Trente minutes avant cette induction les rats à traiter reçoivent par voie sous cutanée les doses de 500 et 750mg/kg d'extrait éthanolique de *P. ovalis* ou 50mg/kg d'acide acétylsalicylique (Aspégic^R) (Abena et al., 1997). Les rats témoins reçoivent uniquement de la levure de bière. La mesure de la température anale est faite à 3; 5 et 7 heures à l'aide de la sonde thermique. Le nombre de rats utilisé pour chaque dose est de 5 (cinq).

Dans tous les cas, les différences entre les groupes témoins et les groupes traités sont étudiés par le test "t" de Student par le logiciel SYSTAT sous WINDOWS 95.

3. RÉSULTATS

3.1. Les tests sur l'œdème

Le volume de l'œdème (l'état inflammatoire) induit par le formaldéhyde augmente avec le temps. Après trois heures il est de $0,61 \pm 0,02$ ml chez les rats témoins (Tableau 1). Cette valeur correspond à un pourcentage d'augmentation de 76,25% par rapport au volume initial du pied.

Les différentes doses de l'extrait aqueux administrées par voie sous cutanée 30min avant l'injection du formaldéhyde réduisent l'œdème (tableau I). Ces résultats sont significatifs par rapport aux témoins ($P < 0.01$ et $P < 0.001$). Les pourcentages d'inhibition sont 9,83% ; 42,62% ; 50,82% et 67,21% respectivement pour les doses 0,2 ; 0,5 ; 1 et 2 g.ég.mv/kg trois heures après l'induction de l'œdème. L'effet est donc fonction de la dose. Pour ces mêmes doses, le pourcentage d'inhibition est croissant dans le temps sauf pour 0,2 g ég. mv./kg puisque à cette dose le degré d'inhibition est évalué à 19,44% ; 3,83 % et 9,83 % respectivement pour 30; 120 et 180min les valeurs entre parenthèses dans le tableau 1).

L'extrait éthanolique de *P. ovalis* administré dans les mêmes conditions que précédemment, réduit aussi considérablement l'œdème (tableau 1). Les résultats sont très significatifs pour 500 et 750 mg/kg ($P < 0.01$ et $P < 0.001$) après trois heures d'induction de l'œdème (Tableau 1).

Tableau I: Effet de différentes doses du décocté et de l'extrait éthanolique de *P. ovalis* sur le volume de l'œdème (ml)

Traitement	Doses (g.éq et mg / kg)	Volume de l'œdème (ml) dans le temps (min).mv/kg			
		30	60	120	180
Formaldéhyde	-	0,36 ± 0,1	0,47 ± 0,02	0,52 ± 0,02	0,61 ± 0,02
Décocté	0,2	0,29 ± 0,08** (9,83)	0,42 ± 0,05 (19,44)	0,5 ± 0,07 (10,63)	0,55 ± 0,06* (3,84)
	0,5	0,25 ± 0,1* (30,55)	0,3 ± 0,07** (36,17)	0,34 ± 0,03** (34,61)	0,35 ± 0,04*** (42,62)
	1	0,19 ± 0,06** (47,22)	0,24 ± 0,06** (48,93)	0,26 ± 0,03*** (50)	0,3 ± 0,05** (50,82)
	2	0,17 ± 0,02*** (52,77)	0,17 ± 0,04*** (63,83)	0,19 ± 0,02** (63,46)	0,2 ± 0,018** (67,21)
Ext. Éthanolique	50	0,22 ± 0,012** (38,34)	0,3 ± 0,02** (34,46)	0,44 ± 0,15* (13,84)	0,56 ± 0,02* (9,43)
	100	0,17 ± 0,04*** (50,92)	0,23 ± 0,03*** (50,71)	0,35 ± 0,02** (32,05)	0,45 ± 0,05*** (24,86)
	500	0,22 ± 0,01*** (49,31)	0,24 ± 0,02** (53,72)	0,25 ± 0,1** (55,76)	0,24 ± 0,02*** (57,78)
	750	0,17 ± 0,01*** (61,68)	0,18 ± 0,01*** (61,71)	0,18 ± 0,02*** (62,5)	0,17 ± 0,03*** (72,13)
Indocide (mg/kg)	100	0,28 ± 0,03 (23)	0,29 ± 0,02 (38,6)	0,31 ± 0,02 (42,4)	0,32 ± 0,04 (47,6)

Les drogues sont administrées par voies sous cutanée 30 minutes avant l'induction de l'œdème.

Les valeurs sont des moyennes ± E.S.M (erreur standard sur la moyenne) avec n = 6; * $P < 0,1$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ par rapport aux Témoins; les valeurs entre parenthèses sont les % d'inhibition ; g.éq.mv/kg = gramme équivalent de matière végétale par kilogramme; Ext. = extrait.

3.2. Test antipyrétique

L'hyperthermie est induite par l'injection par voie sous cutanée de 2ml/kg de la levure de bière à 12%. La température qui était à $38,13 \pm 0,17^{\circ}\text{C}$ passe à $40,2 \pm 0,52^{\circ}\text{C}$ sept heures après injection de la levure (Tableau 2).

L'injection sous cutanée de l'extrait éthanolique de *P. ovalis* ou de la drogue de référence, 30 min avant l'induction de l'hyperthermie, réduit l'augmentation de la température (Tableau II).

Tableau II : Effet antipyrétique de *P. ovalis*

Traitement	Doses mg/kg	Température ($^{\circ}\text{C}$) en fonction du temps (heures)			
		0	3	5	7
Témoins	-	$38,13 \pm 0,36$	$38,1 \pm 0,49$	$39,54 \pm 0,26$	$40,2 \pm 0,52$
Ext.éthanolique	500	$38,13 \pm 0,36$	$37,6 \pm 0,55$	$38,94 \pm 0,49$	$39,54 \pm 0,1^*$
	750	$38,08 \pm 0,41$	$37,81 \pm 0,35$	$38,4 \pm 0,78^*$	$39,13 \pm 0,6^{**}$
Acide AS.	50	$38,04 \pm 0,1$	$37,64 \pm 0,59$	$38,17 \pm 0,08$	$38,21 \pm 0,06$

Les valeurs sont des moyennes \pm E.S.M. avec $n = 5$; * $P < 0,05$; ** $P < 0,005$.
Acide AS. : Acide acétylsalicylique.

4. DISCUSSION

Dans nos conditions expérimentales le formaldéhyde a provoqué l'œdème dont le volume est maximal au bout de trois heures (Singla et al., 1990; Ivanovska et al., 1997); Viana et al., 1998). Le formaldéhyde provoque l'inflammation locale lorsqu'il est injecté dans l'aponévrose de la plante du pied (Sen et Nag, 1991; Singh et al., 1997; Suzuki et al., 1996) tout comme la carragénine (Bhatt et al., 1977; Ossipov et al., 1995). La cause de cette réaction inflammatoire est la lésion tissulaire. Cette lésion tissulaire induit la synthèse de l'histamine, des prostaglandines, des leucotriènes

(Ammon et al., 1993), du PAF (facteur d'activation plaquettaire), des cytokines, du NO (monoxyde d'azote) et du TNF (facteur de nécrose tumorale) (Clarke et al., 1996).

Les effets de la racine de *P.ovalis* sur l'oedème s'expliqueraient par l'inhibition de la synthèse des substances pro-inflammatoires. Cette hypothèse nous paraît vraisemblable dans la mesure où l'extrait éthanolique de *P.ovalis* inhibe l'hyperthermie induite par la levure de bière. L'hyperthermie qui accompagne les réactions inflammatoires est provoquée par certaines substances pro-inflammatoires comme les cytokines et les prostaglandines.

5. CONCLUSION

Nos résultats indiquent que le décocté et l'extrait éthanolique de la racine de *P. ovalis* inhibent de façon temps et dose-dépendante l'oedème induit par le formaldéhyde à 1%. De plus l'extrait éthanolique inhibe l'hyperthermie (induite par 2 ml/kg de levure de bière à 12%). La réduction de ces deux symptômes (œdème et fièvre) nous montre que la racine de *P.ovalis* posséderait des principes actifs anti-inflammatoires qu'il faudrait extraire, purifier et caractériser.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- Abena, A.A ; Ouamba, J.M. ; Keita, A.** Activité anti-inflammatoire et antipyrétique de l'huile essentiel de *Ageratum conizoides*; *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine* 1997; IX: 48-55.
- Ammon H.P.T.; Safayhi H.; Mack T.; Sabieraj J.** Mechanism of antiinflammatory actions of curcumin and bowellic acids; *J.of Ethnopharmacology* 1993; 38:113-119.
- Bhatt, K.R.; Mehta, R.K.; Shrivastana, P.N.** A simple method of recording anti-inflammatory effects on rat paw oedema; *Indian J. of Physiology and Pharmacology* 1977 ; 21: 399-400.
- Clarke, J.M.; Sabrena, M.B.; Edward, C.; Jo Rae, W.** Surfactant protein A protects growing cells and reduces TNF-alpha activity from LPS-stimulated macrophages; *American Journal of Physiology* 1996; 271: L310-L319.
- Ivanovska, N.; Philipov, S.; Istatkova, R.** Evaluation of anti-inflammatory activity of plants used in Bulgarian folk medicine; *FITOTERAPIA* 1997; LXVIII (5), 417-422.
- Ossipov, M.H.; Kovelowski, C.J.; Porreca, F.** The increase in morphine antinociceptive potency produced by carrageenan-induced hindpaw inflammation is blocked by naltrexone, a selective delta-opioid antagonist; *Neuroscience Letter*.1995; 184: 173-176.
- Senayah, K. E.** Etude des relations entre les infections, les processus inflammatoires la supplémentaire en Fer; *Memoire de D.U.T* 1990, Université du Bénin, IUT-Santé.
- Sen, T.; Nag C. A.K.** Antiinflammatory evaluation of *Pluchea indica* root extract *J. of Ethnopharmacology* 1991; 33: 135-141.

- Singh, S.; Bani, S.; Singh, S. B.; Gupta, B. D.; Banerjee, S. K. ; Singh, B.** Anti-inflammatory activity of lupeol; *FITOTERAPIA* 1997; LXVIII (1): 9-16.
- Singla, A. K.; Pathak, k.** Topical antiinflammatory effects of *Euphorbia prostrata* on carrageenan-induced footpad oedema in mice ; *Journal. of Ethnopharmacology* 1990; 29: 291-294.
- Suzuki, T.; Kishimoto, Y.; Misawa, M.** Formalin-and carrageenan-induced inflammation attenuates place preferences produced by morphine, methamphetamine and cocaine; *Life Science* .1996; 59: 1667-1674.
- Szekely, J.I.; Kedves, R.; Mate, I.; Torok, K.; Tarnawa, I.** Apparent antinociceptive and anti-inflammatory effects of GYKI 52466; *European Journal of Pharmacology* 1997; 336, 143-154.
- Viana, C. F. G.; Aragao, A. G. M.; Ribeiro, R. A.; Magalhaes, J. F. G.; Vale, M. R.** Effectsof *Ageratum conyzoides* in nociception and inflammation response induced by zymosan; *FITOTERAPIA* 1998; LXIX (4): 349-354.

Tableau I: Effet de différentes doses du décocté et de l'extrait éthanolique de *P. ovalis* sur le volume de l'œdème (ml)

Traitement	Doses (g.éq et mg / kg)	Volume de l'œdème (ml) dans le temps (min).mv/kg			
		30	60	120	180
Formaldéhyde	-	0,36 ± 0,1	0,47 ± 0,02	0,52 ± 0,02	0,61 ± 0,02
Décocté	0,2	0,29 ± 0,08** (9,83)	0,42 ± 0,05 (19,44)	0,5 ± 0,07 (10,63)	0,55 ± 0,06* (3,84)
	0,5	0,25 ± 0,1* (30,55)	0,3 ± 0,07** (36,17)	0,34 ± 0,03** (34,61)	0,35 ± 0,04*** (42,62)
	1	0,19 ± 0,06** (47,22)	0,24 ± 0,06** (48,93)	0,26 ± 0,03*** (50)	0,3 ± 0,05** (50,82)
	2	0,17 ± 0,02*** (52,77)	0,17 ± 0,04*** (63,83)	0,19 ± 0,02** (63,46)	0,2 ± 0,018** (67,21)
Ext. Éthanolique	50	0,22 ± 0,012** (38,34)	0,3 ± 0,02** (34,46)	0,44 ± 0,15* (13,84)	0,56 ± 0,02* (9,43)
	100	0,17 ± 0,04*** (50,92)	0,23 ± 0,03*** (50,71)	0,35 ± 0,02** (32,05)	0,45 ± 0,05*** (24,86)
	500	0,22 ± 0,01*** (49,31)	0,24 ± 0,02** (53,72)	0,25 ± 0,1** (55,76)	0,24 ± 0,02*** (57,78)
	750	0,17 ± 0,01*** (61,68)	0,18 ± 0,01*** (61,71)	0,18 ± 0,02*** (62,5)	0,17 ± 0,03*** (72,13)
Indocide (mg/kg)	100	0,28 ± 0,03 (23)	0,29 ± 0,02 (38,6)	0,31 ± 0,02 (42,4)	0,32 ± 0,04 (47,6)

Les drogues sont administrées par voies sous cutanée 30 minutes avant l'induction de l'œdème.

Les valeurs sont des moyennes ± E.S.M (erreur standard sur la moyenne) avec n = 6; * P < 0,1; ** P < 0,01; ***P < 0,001 par rapport aux Témoin; les valeurs entre parenthèses sont les % d'inhibition ; g.éq.mv/kg = gramme équivalent de matière végétale par kilogramme; Ext. = extrait.