

## Effets des extraits de *Brillantaisia nitens* Lindau (Acanthacées) sur la contraction de l'aorte de rat induite par le KCl ou la Noradrénaline

BOPDA MTOPI O. S.<sup>a</sup>, DIMO T.<sup>a</sup>, KAMTCHOUING P.<sup>a</sup>, ZAPFACK L.<sup>b</sup>, DONGO E.<sup>c</sup>, ASONGALEM E.A.<sup>d</sup>, RAKOTONIRINA S.V.<sup>a</sup>, NGUELEFACK T.B.<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire de Physiologie animale, Université de Yaoundé I; <sup>b</sup> Laboratoire de Botanique-Ecologie, Université de Yaoundé I; <sup>c</sup> Laboratoire de Chimie Organique, Université de Yaoundé I; <sup>d</sup> Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé I. B.P. 812 Yaoundé (Cameroun); <sup>e</sup> Laboratoire de Physiologie Animale, Université de Dschang B. P. 67 Dschang (Cameroun).

**Résumé** - *Brillantaisia nitens* Lindau est utilisée en médecine traditionnelle au Cameroun pour le traitement de diverses maladies. Les effets vasorelaxants des extraits au méthanol et au chlorure de méthylène/méthanol de *B. nitens* (Acanthacées) ont été évalués sur l'aorte intacte ou dénudée de rat, contractée par le KCl ou la noradrénaline. Les extraits ont provoqué une relaxation concentration-dépendante et endothélium-indépendante de la contraction, induite par le KCl ou la noradrénaline. L'extrait au chlorure de méthylène/méthanol (0,1 à 1,25mg/mL) a induit une relaxation de la contraction provoquée par le KCl (60mM) de 36 à 85% et de 13 à 97%, respectivement sur aorte intacte et dénudée. La contraction provoquée par la noradrénaline ( $10^{-4}$  M) a été réduite de 15 à 113% et de 21 à 90%, respectivement. L'extrait au méthanol aux mêmes concentrations a provoqué une réduction de la contraction induite par la noradrénaline respectivement de 7 à 54% et de 9 à 98%. Les effets vasodilatateurs des extraits seraient dus à une action directe sur le muscle lisse vasculaire et dépendraient en partie de la libération de prostacycline.

Mots clés : *Brillantaisia nitens* / Aorte / Contraction / Relaxation

**Abstract** - *Brillantaisia nitens* Lindau is traditionally used in Cameroon for the treatment of many diseases. We have studied its vasodilator effects in rat vascular smooth muscle. The results demonstrated that CH<sub>3</sub>OH or CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH leaf extracts of *B. nitens* inhibited the contractile responses induced in rat aortic strips by KCl or norepinephrine. This relaxation was concentration-dependant and endothelium-undependant. The CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH leaf extract (0.1-1.25mg/mL) caused a 36-85% and 13-97% reduction of KCl (60mM)-induced contraction, respectively on intact and endothelium-denuded aortic strips. On norepinephrine-induced contraction the reduction was 15-113% and 21-90%, respectively. At the same concentrations, méthanol extract reduced norepinephrine-induced contraction in the range of 7% to 54% and 9% to 98%, respectively. The vasodilator effects of extracts is possibly exerted directly on vascular smooth muscle and may partialy depend on the prostacycline liberation.

Key words : *Brillantaisia nitens* / Aorta / Contraction / Relaxation

Corresponding author - e-mail : [bopda@yahoo.fr](mailto:bopda@yahoo.fr)  
- Tél:937 25 86

## Introduction

*Brillantaisia nitens* Lindau (Acanthacées) est très répandue dans la région allant de la Guinée à l'Ouest-Cameroun, ainsi que dans l'Est-Cameroun (Burkill, 1985 ; Adjanohoun *et al.*, 1996). *B. nitens* est utilisée comme cataplasme contre les douleurs et les démangeaisons (Burkill, 1985), pour soigner le mal de dents (Adjanohoun *et al.*, 1996) et dans le traitement de divers troubles cardiovasculaires. La présente étude évalue les effets des extraits de feuilles de *B. nitens* sur la contraction de l'aorte isolée de rat, induite par le KCl ou la noradrénaline.

## Méthodologie

### I- Préparation des extraits de *B. nitens*

Les feuilles fraîches de *B. nitens*, récoltées dans la zone de Yaoundé, ont été séchées et broyées en une poudre fine. 1000g de poudre ont été mis à macérer dans 7L du mélange chlorure de méthylène/méthanol (1 : 1) pendant 48 heures. Après filtration, le solvant a été évaporé sous vide à la température de 80°C, ce qui a permis d'obtenir 170g d'extrait au chlorure de méthylène/méthanol. Une solubilisation différentielle de 70g de cet extrait, suivie de la concentration a permis d'obtenir 54g d'extrait au méthanol. L'extrait au méthanol a été dissout dans de l'eau distillée, alors que l'extrait au chlorure de méthylène/méthanol a été dissout dans le tween 20 à 4%.

### II- Préparation des tissus et mesure de tension

Les expériences ont été réalisées sur des fragments d'aorte de rats de souche *wistar*, âgés de 3 à 5 mois et pesant 150 à 250g. Le rat a été tué par décapitation. L'aorte a été prélevée et plongée dans une solution physiologique de type Mac Ewen oxygénée et maintenue à 37°C. La composition (en mM) de la solution était la suivante : NaCl 147 ; KCl 5,6 ; CaCl<sub>2</sub> 2,6 ; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,66 ; CO<sub>3</sub>NaH 11,9 ; MgCl<sub>2</sub> 0,24 ; Glucose 11. L'aorte débarrassée de tissus adipeux et conjonctif, a été coupée en spirale (1mm x 20mm). Dans certaines manipulations, l'aorte a été initialement débarrassée de l'endothélium. Le fragment d'aorte ainsi préparé, a été fixé par une de ses extrémités à la base d'une cuve à organe isolé (20mL) et par l'autre extrémité à un transducteur isométrique. La préparation a été équilibrée sous une tension de 1gf pendant 60 minutes. Pendant cette période, la solution physiologique était changée toutes les 15 minutes. La contraction du fragment d'aorte a été provoquée par une solution de KCl (60mM) ou de noradrénaline (10<sup>-4</sup> M). La contracture maximale a été atteinte au bout de 25 à 30 minutes. L'acétylcholine (10<sup>-3</sup> M) a été utilisée pour évaluer l'intégrité de l'endothélium. L'endothélium a été considérée intacte, lorsque l'acétylcholine provoquait une relaxation au moins égale à 60%. Un volume déterminé d'un extrait a été ajouté au milieu d'incubation contenant un fragment d'aorte présentant une contracture maximale. L'effet de *B. nitens* a été observé pendant 30 minutes.

La nifédipine et l'acétylcholine ont été utilisées comme substances pharmacologiques de référence. Le glibenclamide, le T.E.A. et l'indométacine ont été utilisés dans le but d'antagoniser l'action de *B. nitens*. Le glibenclamide ou le T.E.A. a été ajouté au milieu d'incubation après la contraction induite par le KCl (60mM) et 15 minutes avant l'administration de l'extrait ; alors que l'indométacine est introduite dans le milieu 15 minutes avant l'administration de la noradrénaline.

### III Analyse statistique des résultats

Les résultats sont présentés par la moyenne affectée de l'erreur standard (ESM). La comparaison entre deux séries de valeurs a été faite à l'aide du test non paramétrique de Mann Whithney. La différence entre deux séries de valeurs a été considérée comme significative pour  $P < 0,05$ .

#### Résultats

##### I- Effets des extraits au méthanol et au chlorure de méthylène/méthanol sur la contraction induite par la Noradrénaline

Les extraits n'ont pas provoqué de modifications significatives du tonus basal du muscle lisse vasculaire. L'addition de l'extrait au chlorure de méthylène/méthanol ou au méthanol dans le milieu d'incubation a provoqué une relaxation concentration-dépendante de la contraction tonique induite par la noradrénaline ( $10^{-4}$  M). L'extrait au méthanol a provoqué une relaxation de la contraction induite par la noradrénaline de 7% à 54% sur aorte intacte et de 9% à 98% sur aorte dénudée (Tableau 1). Les  $DE_{50}$  déterminées graphiquement ont été respectivement de  $0,90 \pm 0,01$ mg/mL et de  $0,71 \pm 0,01$ mg/mL. La relaxation provoquée par l'extrait au chlorure de méthylène/méthanol a évolué de 15% à 113% sur aorte intacte et de 21% à 90% sur aorte dénudée (Tableau 1). Les  $DE_{50}$  déterminées graphiquement pour l'extrait au chlorure de méthylène/méthanol ont été respectivement de  $0,25 \pm 0,01$ mg/mL et  $0,43 \pm 0,01$ mg/mL. On peut dès lors remarquer que la vasorelaxation induite par l'extrait au chlorure de méthylène/méthanol de *B. nitens* semble plus importante que celle provoquée par l'extrait au méthanol. Le pré-traitement de l'aorte intacte avec l'indométacine ( $3\mu$ M) a provoqué une diminution significative de la relaxation induite par l'extrait au chlorure de méthylène/méthanol. La relaxation de l'aorte intacte de 55% et 111% aux concentrations de 0,25mg/mL et 1mg/mL n'est plus que de 11% et 57%, respectivement (Tableau 1).

Tableau 1 : Effets relaxants (% de relaxation) des extraits au méthanol et au chlorure de méthylène/méthanol des feuilles de *B. nitens* sur l'aorte de rat pré-contractée par la noradrénaline ( $10^{-4}$  M).

Traitement (mg/mL)	Extrait au méthanol		Extrait au chlorure de méthylène/méthanol		Indo + Extrait au chlorure de méthylène/méthanol
	+E	-E	+E	-E	
0,1	7 ± 3	9 ± 3	15 ± 4	21 ± 3	-
0,25	17 ± 3	11 ± 5	55 ± 9	30 ± 3*	11 ± 2 *
0,5	36 ± 7	28 ± 6	60 ± 4	52 ± 2	-
0,75	46 ± 6	52 ± 7	68 ± 9	64 ± 5	-
1	52 ± 9	70 ± 8	111 ± 6	80 ± 7*	57 ± 3*
1,25	54 ± 6	98 ± 5*	113 ± 15	90 ± 8	-

Chaque valeur représente la moyenne ± E.S.M., n = 5, \*  $P < 0,05$  (différence significative entre les effets en +E et en -E ; ou entre les effets en présence et en absence d'Indo).

+E (Présence de l'endothélium), -E (Absence de l'endothélium), Indo (indométacine).

## II- Effets de l'extrait au chlorure de méthylène/méthanol sur la contraction induite par le KCl

L'addition de l'extrait au chlorure de méthylène/méthanol dans le milieu d'incubation a provoqué une relaxation de la contraction tonique induite par le KCl (60mM). Sur les fragments d'aorte intacte et dénudée, l'extrait (0,1mg/mL à 1,25mg/mL) a provoqué une réduction de la contraction induite par le KCl de 36% à 85% et de 13% à 97%, respectivement (Tableau 2). Les valeurs des DE<sub>50</sub>, déterminées graphiquement, ont été de 0,15 ± 0,01mg/mL sur aorte intacte et de 0,22 ± 0,01mg/mL, sur aorte dénudée. L'acétylcholine (10<sup>-4</sup>M) a provoqué une relaxation endothélium-dépendante de la contraction de l'aorte de rat induite par le KCl (60mM). La nifédipine (40µg/mL), utilisée dans les mêmes conditions expérimentales, a induit une relaxation endothélium-indépendante de l'aorte. La relaxation a été de 103% sur aorte intacte et de 118% sur aorte dénudée. (Tableau 2).

Le pré-traitement de l'aorte intacte avec le glibenclamide (5µM) ou le T.E.A.(5µM) n'a pas provoqué de modification significative de la relaxation induite par l'extrait au chlorure de méthylène/méthanol (1mg/mL). La relaxation est passée de 81% sur aorte non traitée à 78% après pré-traitement au glibenclamide ou au T.E.A.

Tableau 2 : Effets relaxants de l'extrait au chlorure de méthylène/méthanol de feuilles de *B. nitens* sur l'aorte de rat pré-traitée par le KCl.

Substance administrée	% de Relaxation	
	+E	-E
Extrait (mg/mL)		
0,1	36 ± 5	13 ± 1 *
0,25	62 ± 4	57 ± 6
0,5	72 ± 4	69 ± 8
0,75	74 ± 5	70 ± 9
1	81 ± 3	75 ± 5
1,25	85 ± 2	97 ± 9
Acétylcholine (10 <sup>-4</sup> M)	47 ± 4	2,07 ± 0,05 *
Nifédipine (40µg/mL)	103 ± 5	118 ± 7

Chaque valeur représente la moyenne ± E.S.M., n = 5, \* P < 0,05 (différence significative entre les effets en +E et en -E).

+E (Présence de l'endothélium), -E(Absence de l'endothélium).

### Discussion

Les résultats de cette étude ont montré que les extraits au CH<sub>3</sub>OH et au CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH des feuilles de *B. nitens* sont capables de provoquer une relaxation concentration-dépendante et endothélium-indépendante de la contraction de l'aorte de rat induite par le KCl ou par la noradrénaline. Dans cette étude, il a été montré que l'acétylcholine, contrairement aux extraits de *B. nitens*, ne provoque le relâchement de la contraction de l'aorte que si l'endothélium est intact. Ces résultats peuvent s'expliquer en admettant que l'acétylcholine agit par fixation aux récepteurs muscariniques des cellules endothéliales, ce qui ne serait pas le cas des extraits de *B. nitens*. La vasorelaxation provoquée par les extraits de *B. nitens* a été indépendante de la présence de l'endothélium. Les résultats de cette étude ont montré qu'aux concentrations de 0,25 mg/mL et de 1mg/mL, la relaxation

induite par l'extrait au chlorure de méthylène/méthanol sur la contraction induite par la noradrénaline, est plus importante sur aorte intacte que sur aorte dénudée ; cependant aucune différence significative n'a été notée à d'autres concentrations entre les effets de l'extrait, en fonction de l'état de l'endothélium. Ces résultats suggèrent que ces extraits provoqueraient la relaxation vasculaire par action directe au niveau des fibres musculaires lisses. L'effet relaxant de l'extrait au chlorure de méthylène/méthanol sur l'aorte intacte, mise en contraction par la noradrénaline, a été partiellement inhibé par l'indométacine (inhibiteur de la cyclooxygénase, Lechat *et al.*, 1990 ; Dayer, J. C et Schorderet, 1992). La vasorelaxation causée par l'extrait au chlorure de méthylène/méthanol pourrait s'expliquer par une libération de prostacycline.

Il est généralement admis que la contraction du muscle lisse vasculaire dépend de la concentration de  $Ca^{2+}$  libre cytoplasmique. La contraction du muscle lisse vasculaire induite par un milieu riche en  $K^+$  est une réponse à la stimulation de l'influx de  $Ca^{2+}$  à travers les canaux calciques voltage-dépendants de type L (Godfraind *et al.*, 1986). Les extraits ont provoqué une relaxation de la composante tonique de la contraction de façon concentration-dépendante. Ces résultats peuvent s'expliquer en admettant une action inhibitrice des substances actives contenues dans *B. nitens* sur l'influx calcique transmembranaire. Duarte *et al.* (1995) ont montré que la composante tonique de la contraction résulte d'une augmentation de l'entrée de  $Ca^{2+}$  extracellulaire. *B. nitens* contiendrait des substances capables d'inhiber la composante de la contraction induite par un influx calcique à travers les canaux calciques potentiel-dépendants de type L. Les effets de *B. nitens* rappellent l'action de la nifédipine. La nifédipine, antagoniste calcique, est capable d'induire la relaxation de la fibre musculaire lisse, soit par inhibition de l'influx calcique transmembranaire, soit en empêchant la libération du  $Ca^{2+}$  des réserves membranaires et intracellulaires, soit éventuellement en gênant la fixation du  $Ca^{2+}$  à la calmoduline (Waeber *et al.*, 1989).

Le pré-traitement de l'aorte intacte de rat avec un inhibiteur sélectif des canaux potassiques ATPase-dépendants, le glibenclamide (Calixto et Cabrini, 1997) ou un inhibiteur non spécifique des canaux potassiques, le tétraéthylammonium (Dubois et al, 1999), n'a pas provoqué de modification significative de l'effet vasorelaxant induit par *B. nitens*. L'extrait au  $CH_2Cl_2/CH_3OH$  des feuilles de *B. nitens* ne contiendrait pas de substances agissant par activation des canaux potassiques ATPase-dépendants.

En conclusion, la présente étude a montré que les extraits des feuilles de *B. nitens* provoquent une relaxation de la contraction de l'aorte de rat induite par le KCl ou la noradrénaline. Cette activité vasorelaxante de *B. nitens* est endothélium-indépendante et résulterait au moins en partie de la libération de prostacycline.

## Références

1. Adjanohoun, J. E. ; Aboubakar, N. ; Dramane, K. ; Ebot, M. E. ; Ekpere, J.A. ; Enow-Orock, E. G. ; Focho, D. ; Gbile, Z.O. ; Kamanyi, A. ; Kamsu Kom, J. ; Keita, A. ; Mbeukum, T. ; Mbi, C. N. ; Mbiele, A. L. ; Mbome, I. L. ; Mubiru, N. K. ; Nancy, W. L. ; Nkongmeneck, B. ; Satabie, B. ; Sofowora, A. ; Tamze, V. and Wirmum, C. K. (1996) : *Contribution to ethnobotanical and floristic studies in Cameroon*. Edition Centre National de Production des Manuels Scolaires, Benin, PP. 19.
2. Burkill, H. M. (1985) : *The useful plants of west tropical Africa*. Edition Royal Botanic Gardens Kew, PP. 7.

3. Calixto, J. B. and Cabrini, D.A. (1997) : Herbal medicine Catuama induces endothelium-dependent and independent vasorelaxant action on isolated vessels from Rats, Guinea pigs and Rabbits. *Phytotherapy Research*, 11, 32-38.
4. Dayer, J. C et Schorderet (1992) : Physiopathologie de la fièvre de la douleur et de l'inflammation. Dans *Pharmacologie des Concepts Fondamentaux aux Applications Thérapeutiques*. 2<sup>ème</sup> éd. Frisson Roche et Slatkine. Paris, Genève, pp 512-630
5. Duarte, J. ; Perez-Vizcaino, F. ; Torres, A. I. ; Zarzuelo, A. ; Jimenez, J. ; Tarmago, J. (1995) : Vasodilator effects of visnagin in isolated vascular smooth muscle. *European Journal of Pharmacology*, 286, 115-122.
6. Dubois J. M. ; Combettes, L. ; Coraboeuf, E. ; Faivre, J. F. (1999) : Les canaux ioniques cellulaires. Edition Economica, Paris, PP. 88.
7. Godfraind, T. ; Miller, R. and Wibo, M. (1986) : Calcium antagonists and calcium entry blockade. *Pharmacology Review*, 38, 324.
8. Lechat, P. ; Calvo, F. ; Cremoux, de P. ; Giroud, J. P. ; Lagier, G. ; Lechat, Ph. ; Rouviex, B. et Wer, S. (1990) : *Pharmacologie médicale*. Edition Masson, France, PP. 35-462.
9. Waeber ; Nussbeger, J. ; Brunner, H.R. (1989) : Anti-hypertenseurs. Dans *pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques*. Edition Frison-roche, Genève, 127-149.