

Effets d'un extrait aqueux de *Gomphrena celosioides* (Amaranthaceae) sur la pression artérielle et la réactivité vasculaire

D. S. SANOU¹, J. De LEIRIS², F. BOUCHER², M.-C. TOUFEKTSIAN², A. RAKOTAVAO², M.-G. JOUAN², S. GRAUZAM², R. G. BÉLEMTOUGRI¹, L. SAWADOGO¹

Résumé

Dans cette étude, nous avons évalué les effets d'un extrait aqueux de *Gomphrena celosioides*, une plante utilisée dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle chez des patients humains, d'une part sur la pression artérielle du lapin, d'autre part sur la contractilité d'anneaux vasculaires isolés de l'aorte de rat. La mesure de la pression artérielle des lapins soumis à des injections d'extrait aqueux de *Gomphrena celosioides* à doses croissantes (de 0,5 à 1 mg/Kg de poids corporel) permet de mettre en évidence un effet hypotenseur réversible et dose-dépendant. Par ailleurs, des doses de 10^{-3} µg/ml à 10 µg/ml de cet extrait aqueux induisent une relaxation dose-dépendante et endothélium dépendante sur des préparations d'aorte de rat. Ces observations suggèrent que l'extrait aqueux de *Gomphrena celosioides* comporte des composés ayant des effets hypotenseurs dont les mécanismes d'action seraient comparables à ceux de l'acétylcholine à 10^{-6} M. L'administration de cet extrait à des doses supérieures à la dose maximale utilisée, provoque toutefois des effets inhibiteurs sur la respiration du lapin. Cette étude justifie l'utilisation de *Gomphrena celosioides* dans le traitement traditionnel de l'hypertension artérielle. Une analyse détaillée de la composition chimique de l'extrait pourrait permettre de caractériser le mécanisme d'action cellulaire responsable des effets observés.

Mots clés : *Gomphrena celosioides*, pression artérielle, réactivité vasculaire, phytothérapie.

Pharmacological effects of a crude extract of *Gomphrena celosioides* (Amaranthaceae) on arterial pressure and vascular reactivity

Abstract

Gomphrena celosioides (GC), a plant belonging to the Amaranthaceae family, is traditionally used to treat hypertension in South America and in Central Africa. The aim of the present study was to check whether a crude extract of this plant is able to exert hypotensive properties and to modify the vascular reactivity in animal models often used in cardiovascular pharmacology. At doses of 0.5 to 0.75 mg/Kg b.w., a single intravenous injection of GC crude extract to an anesthetized rabbit led to a rapid but fully reversible reduction of arterial pressure. A higher dose (1 mg/Kg) produced marked reduction of arterial pressure and cardiac arrest. In an experimental model of rat aortic rings, precontracted with phenylephrine (10^{-6} M), GC at concentrations between 10^{-3} µg/ml to 10 µg/ml produced some degree of vascular relaxation even though this effect remains modest compared to that observed under the effect of acetylcholine 10^{-6} M). These

¹. Laboratoire de Physiologie animale, UFR/SVT, Université de Ouagadougou 03BP7021 03, Burkina Faso.

². Équipe Cœur et Nutrition, TIMC-PRETA UMR 5525, Université de Grenoble, France.

observations confirm that GC extract is able to exert some vasorelaxant effects. Further studies will be undertaken to precise the mechanisms of such effects.

Keywords: *Gomphrena celosioides*, Arterial pressure, vascular reactivity, Phytotherapy.

Introduction

Les maladies cardiovasculaires constituent la première cause de décès dans les pays industrialisés, mais leur incidence s'accroît également dans les pays émergents et en développement. L'hypertension artérielle constitue un facteur de risque majeur dans ce type de pathologies dans la mesure où, si elle n'est pas traitée, elle conduit à terme à l'insuffisance cardiaque et au décès des patients concernés. L'hypertension artérielle est devenue un motif courant de consultation en médecine générale au Burkina Faso (DRABO *et al.*, 1992) et dans de nombreux pays émergents. Malheureusement le recours à un traitement allopathique de bonne qualité reste très onéreux. Aussi, les malades de la plupart des pays en développement ont-ils fréquemment recours à la pharmacopée traditionnelle à base de plantes pour leur traitement (ABO *et al.*, 1996 ; LAGNIKA *et al.*, 2005 ; NACOULMA/OUEDRAOGO, 1996 ; ONGOKA *et al.*, 2004 ; SORO *et al.*, 2004). Ceci a amené de nombreux chercheurs africains à s'investir dans la valorisation des plantes médicinales (SAKANDE *et al.*, 2004 ; TRAORE *et al.*, 2002 ; NACOULMA/OUEDRAOGO, 1996), en recherchant leurs éventuels principes actifs et en évaluant leur toxicité pour donner une base scientifique à ces thérapies traditionnelles.

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle dans la région de Ouagadougou au Burkina Faso. Nous avons utilisé la technique des anneaux perfusés pour caractériser l'activité de *Gomphrena celosioides*, une plante herbacée annuelle de la famille des Amaranthaceae fréquemment utilisée par les tradipraticiens pour le traitement de l'hypertension. C'est une herbe poilue possédant des tiges et des rameaux contractés aux nœuds. Ses feuilles sont pétiolées et très aigues. Elle possède de petites fleurs blanches. C'est une espèce répandue en Afrique sub-sahélienne et utilisée au Burkina Faso pour le traitement de plusieurs maladies comme l'ictère, l'asthme, l'hypertension artérielle, les courbatures, les dysménorrhées et certaines maladies infectieuses (NACOULMA/OUEDRAOGO 1996). Elle est également utilisée au Bénin et au Togo pour traiter le paludisme, l'ictère et la constipation (ADJANOHOUN, 1978). Des travaux préliminaires ont montré que *Gomphrena celosioides* contient divers composés potentiellement actifs, comme des alcaloïdes, des bétalaïnes (gomphrénine), des tripénoïdes et des stéroïdes (NACOULMA/OUEDRAOGO, 1996). Le but de la présente étude a consisté à mettre en évidence sur des modèles animaux classiquement utilisés en pharmacologie vasculaire (mesure de la pression artérielle chez le lapin anesthésié, mesure de la réactivité aortique sur des préparations d'anneaux isolés d'aorte de rat), d'éventuels effets vasomoteurs et hypotenseurs d'un extrait aqueux de *Gomphrena celosioides*.

Matériels et méthodes

Préparation de l'extrait aqueux brut de *Gomphrena celosioides*

La plante entière est récoltée dans la ville de Ouagadougou, nettoyée et séchée au laboratoire de Physiologie Animale. Elle est ensuite broyée au mortier et la poudre tamisée est mise en infusion pendant 24 heures en raison de 40 grammes par litre d'eau distillée. La solution obtenue est filtrée sur papier whatman, congelée et lyophilisée. La poudre marron obtenue est utilisée comme extrait brut de *Gomphrena celosioides* pour nos expériences.

Les animaux

Les lapins

Les lapins utilisés ont un poids corporel compris entre 2,5 et 2,90 kg. Ils ont été achetés sur les marchés de Ouagadougou et acclimatés pendant deux semaines dans l'animalerie du laboratoire de Physiologie Animale. Les lapins, dans les conditions de température et d'humidité constantes avec un cycle jour-nuit standard (12 h/12 h), avaient un accès libre à l'eau et à la nourriture. Ils avaient reçu des soins en accord avec la directive de la Communauté Européenne sur l'utilisation des animaux de laboratoire (L358-86/609.EE).

Les rats

Des rats mâles de souche wistar (Charles River ou Harlan) d'un poids corporel entre 200 à 300 grammes ont été utilisés pour les expériences sur la réactivité vasculaire. Les rats, dans les conditions de température et d'humidité constantes, avec un cycle jour-nuit standard de (12 h/12 h), avaient un accès libre à l'eau et à la nourriture dans le laboratoire de l'Université Joseph Fourier de Grenoble. Ils avaient reçu des soins en accord avec la directive de la Communauté Européenne sur l'utilisation des animaux de laboratoire (L358-86/609.EE).

Techniques d'enregistrement

Enregistrement de la pression artérielle

Le dispositif expérimental utilisé pour l'enregistrement de la pression artérielle est un oscillographe de type Palmer Biosciences.

Le lapin est anesthésié par injection intra péritonéale à l'uréthane à 40 % à raison de 1 gramme par kg de poids corporel. Sa carotide gauche est mise à nu et intubée à l'aide d'un cathéter (PE₁₀) qui est relié à un capteur de pression du type Elcomatic EM. 750 SER n° 2203. Les variations de pression artérielle sont transcrites à l'aide d'un stylet relié à un coupleur FC 137 (amplificateur) sur un papier millimétré. La trachée mise à nu est intubée avec une canule qui permet à l'animal de respirer spontanément. L'extrait de *Gomphrena celosioides* est dissous dans l'eau distillée à raison de 5 mg/ml et injecté par la veine saphène aux différentes doses testées.

Enregistrement de la contractilité des anneaux d'aorte

Les rats sont anesthésiés par injection intrapéritonéale d'un mélange 1:1 de kétamine-xylazine (respectivement 50 mg et 10 mg), puis reçoivent une injection intraveineuse (veine saphène)

d'héparine (100 UI/100 g de poids corporel). Après prélèvement du cœur, un segment d'environ 5 cm de l'aorte thoracique descendante est rapidement prélevé et placé dans une solution physiologique de Krebs-Hepes de composition suivante : NaCl 133,8 mM ; KCl 4,75 mM ; MgSO₄ 7 H₂O 1,19 mM ; Hepes 5 mM ; D-glucose 11 mM ; CaCl₂ 2H₂O 2,4 mM ; pH 7,4.

Il est rincé, nettoyé de tout tissu conjonctif et adipeux et découpé en segments transversaux d'environ 2 mm d'épaisseur.

Les expériences sont réalisées en parallèle dans 4 cuves de périfusion identiques contenant 150 ml de Krebs-Hepes thermostaté à 37 °C et oxygéné en permanence.

Le dispositif de mesure de la contractilité est constitué de 2 pointeaux dont l'un est fixe et l'autre relié à un transducteur isométrique, lui-même relié à un amplificateur connecté à un système d'acquisition informatique. Chaque anneau est placé horizontalement sur les 2 pointeaux du dispositif d'enregistrement dans la cuve de périfusion.

L'anneau est tendu une première fois à 2 g (2 x 10⁻² N), puis laissé en stabilisation pendant une heure avant d'être de nouveau tendu à 2 g et stabilisé à nouveau durant 15 minutes. L'anneau subit ensuite un test d'intégrité afin d'évaluer la qualité fonctionnelle de sa composante musculaire lisse et de sa composante endothéliale.

L'intégrité de la composante musculaire lisse se traduit par sa capacité à se contracter en réponse à divers agonistes, notamment l'épinéphrine (EP). Si la composante musculaire lisse est normale, l'addition de EP, à la concentration finale de 10⁻⁶ M, doit induire une contraction de l'anneau d'au moins 10⁻³ N. L'intégrité de l'endothélium entraîne, après l'obtention du plateau de contraction à l'EP, une relaxation de 50 % au moins, par addition de 10⁻⁶ d'Ach dans la cuve de perfusion.

Protocoles expérimentaux

Mesure de pression artérielle

Après l'anesthésie du lapin et installation des différents cathéters et une stabilisation de 20 à 30 minutes, la pression artérielle est mesurée. Un enregistrement témoin est fait après l'injection de la solution de perfusion, le NaCl 9 ‰. Ensuite, nous injectons les différentes doses de GC, 0,5 mg/kg ; 0,75 mg/kg et 1 mg/kg de poids corporel dans la veine saphène.

Mesure de la contractilité vasculaire:

Après le montage des anneaux dans les cuves et une stabilisation de 45 à 60 minutes, chaque anneau subit le test d'intégrité. Les anneaux qui sont intègres, vont subir, après une nouvelle stabilisation, une précontraction à l'EP 10⁻⁶ M et ensuite une relaxation dose dépendante avec des doses de 10⁻³ µg/ml à 10 µg/ml de GC, obtenues à partir d'une solution mère de 100 g/l de poudre diluée de 10⁻⁵ à 10⁻⁹ dans de l'eau distillée. Une étude comparative avec des concentrations de 10⁻⁹ à 10⁻⁵ M d'acétylcholine est réalisée dans les mêmes conditions. Les différentes variations de relaxation induites par GC et d'Ach sur la contraction de EP sont enregistrées.

Analyse statistique

Les données sont exprimées en moyennes ± erreur standard à la moyenne (EMS) ; n est le nombre des expériences et la concentration effective moyenne et le p EC 50 = - log EC50, est

exprimé en concentration en $\mu\text{g/ml}$ dans la solution qui permet obtenir 50 % de réduction de la contraction de EP avec 95 % d'intervalles de confiance. L'analyse statistique appliquée est le t-student. La différence de $P < 0,05$ est considérée comme significative : (Computer program GRAPH PAD PRISM).

Résultats

Effets doses dépendantes d'extrait de *Gomphrena celosioides* sur la pression artérielle de lapin

L'injection intraveineuse de l'extrait aqueux de *Gomphrena celosioides* à des doses croissantes de 0,5 mg/kg, 0,75 mg/kg ou 1 mg/kg de poids corporel induit une diminution dose dépendante de la pression artérielle. La valeur de la pression artérielle témoin du lapin déterminée dans nos conditions expérimentales correspond au premier graphe de la figure 1. Il est obtenu par l'injection d'une solution de perfusion qui est le Nacl 9 %. On ne note aucun effet sur la pression artérielle du lapin. Par contre l'injection des différentes doses de GC induit une hypotension dose dépendante (graphes 2, 3 et 4 de la figure 1). La durée de l'hypotension est de l'ordre 50 secondes, calculée sur les graphes de 2 et 3 de la figure 1, sachant que la vitesse de déroulement du papier millimétré est de l'ordre de 1 mm par secondes. Dans le dernier graphe, la pression artérielle ne retourne plus à sa valeur normale. *Gomphrena celosioides* à des doses comprises entre 0,5 et 1 mg/kg de poids corporel et à l'instar de l'hypotension, il est noté une diminution de l'amplitude et une légère augmentation de la fréquence cardiaque. A partir de 0,75 mg/kg de poids corporel, *Gomphrena celosioides* entraîne une hypotension plus intense et à la dose de 1 mg/kg la pression artérielle n'est plus réversible et aboutit à l'arrêt cardiaque.

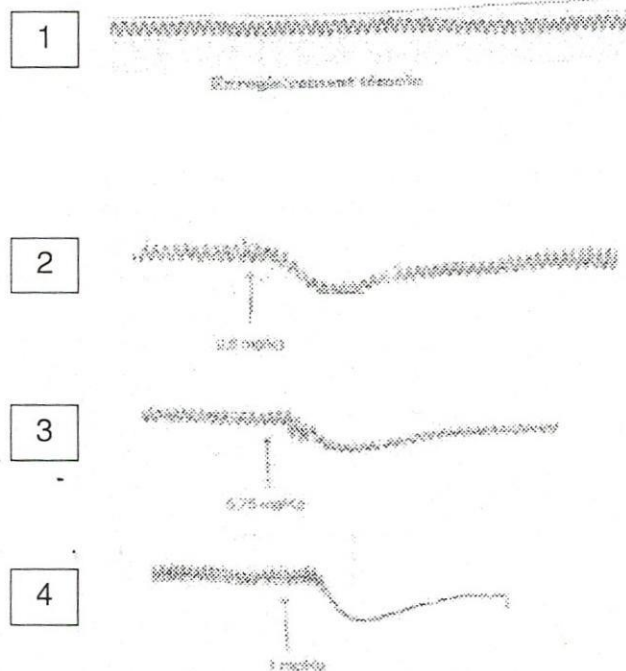


Figure 1. Etat de l'extrait aqueux du *Gomphrena celosioides* sur la pression artérielle chez le lapin.

Effets doses dépendantes d'extrait de *Gomphrena celosioides* sur la contractilité vasculaire

Les effets d'inhibition de GC sur la contraction induite par l'épinéphrine (EP) sur les anneaux d'aorte de rat ont été réalisés avec des doses croissantes de 10^{-3} $\mu\text{g/ml}$ à 10 $\mu\text{g/ml}$. Ces expériences sont réalisées après le test d'intégrité de l'endothélium avec l'acétylcholine qui doit donner une relaxation d'au moins 50 % de la contraction maximale de EP. Les résultats obtenus avec GC et ceux de l'acétylcholine avec des concentrations de 10^{-9} M à 10^{-5} M, dans les mêmes conditions expérimentales donnent une relaxation relativement croissante avec un maximum qui s'obtient à 10^{-4} $\mu\text{g/ml}$ de GC. L'effet maximal de relaxation de GC est de $72 \pm 12,54$ pour $n = 5$ comparé à l'effet maximal de l'Ach qui est de $307,02 \pm 47,33$ avec $n = 3$ donnent une différence significative avec $p < 0,0009$. Il induit une relaxation de la contraction de EP sur les aortes de rat avec une pEC 50 de $7,61 \pm 2,82$ contre un pEC 50 de l'Ach qui est de $6,65 \pm 0,42$ ou des valeurs de Ec 50 de $2,44 \cdot 10^{-8}$ $\mu\text{g/ml}$ pour le *Gomphrena celosioides* et de Ec 50 $2,23 \cdot 10^{-7}$ M pour l'acétylcholine.

Discussion

L'injection des doses croissantes de *Gomphrena celosioides* de 0,5 mg/kg, 0,75 mg/kg et 1 mg/kg a induit une baisse dose dépendante de la pression artérielle qui est illustrée par la figure 1. Cette hypotension est temporaire et la pression artérielle reprend sa valeur initiale après quelques secondes. Ces effets de vasodilatation sont comparables à ceux de l'acétylcholine. Nos résultats sont comparables à ceux observés par TRAORE *et al.* (2000 et 2004) sur le duodénum de lapin à ceux de N'GUESSAN *et al.* (2004) sur la pression artérielle de lapin et à ceux de SORO *et al.* (2004) sur le système cardiovasculaire de mammifères. Ils confirment la présence de substances ayant des effets cholinergiques. *Gomphrena celosioides* en extrait aqueux ayant des effets hypotenseurs sur la pression artérielle de lapin pourrait justifier l'utilisation d'extraits de cette plante dans le traitement de l'hypertension artérielle. L'injection de l'épinéphrine entraîne une contraction d'au moins 2 g en 7 minutes et l'acétylcholine doit induire une relaxation de 50 % au moins, en 3 minutes pour que le test soit validé.

Les mêmes résultats ont été obtenus sur plusieurs anneaux d'aorte de rat. La figure 2 montre une représentation type de l'effet de la contraction de l'épinéphrine suivi de la relaxation induite par l'acétylcholine. Les anneaux qui ont répondu au test d'intégrité sont soumis aux essais préliminaires d'extrait aqueux de *Gomphrena celosioides* qui donnent des pourcentages de relaxation des anneaux, illustrées par la figure 3. La courbe de relaxation se stabilise entre les concentrations 10^{-1} $\mu\text{g/ml}$ et 1 $\mu\text{g/ml}$. Ces résultats préliminaires confirment les effets obtenus sur la pression artérielle du lapin, une hypotension dose dépendante. En effet, l'extrait aqueux de *Gomphrena celosioides* entraîne une relaxation du système vasculaire. Cet extrait pourrait agir comme l'acétylcholine par la voie des récepteurs muscariniques (FIEDS *et al.* (1978) et NARGEOT (1978). Le retour à la valeur initiale au bout quelque temps montre la présence d'autres molécules antagonistes de type adrénérgiques. Une étude plus approfondie permettra de préciser la composition de l'extrait. A des doses plus fortes, une contracture intense aboutit à l'arrêt cardiaque si l'expérience se prolonge. Cette contracture est peut être liée à une toxicité aiguë qu'on trouve dans de nombreux extraits de plantes, surtout dans les extraits bruts (SORO, 2000 ; TRAORE *et al.*, 2000). Ceci nécessite une étude chimique plus poussée afin de déterminer la dose efficace de la plante pour des traitements en thérapie traditionnelle et éviter des intoxications de la population.

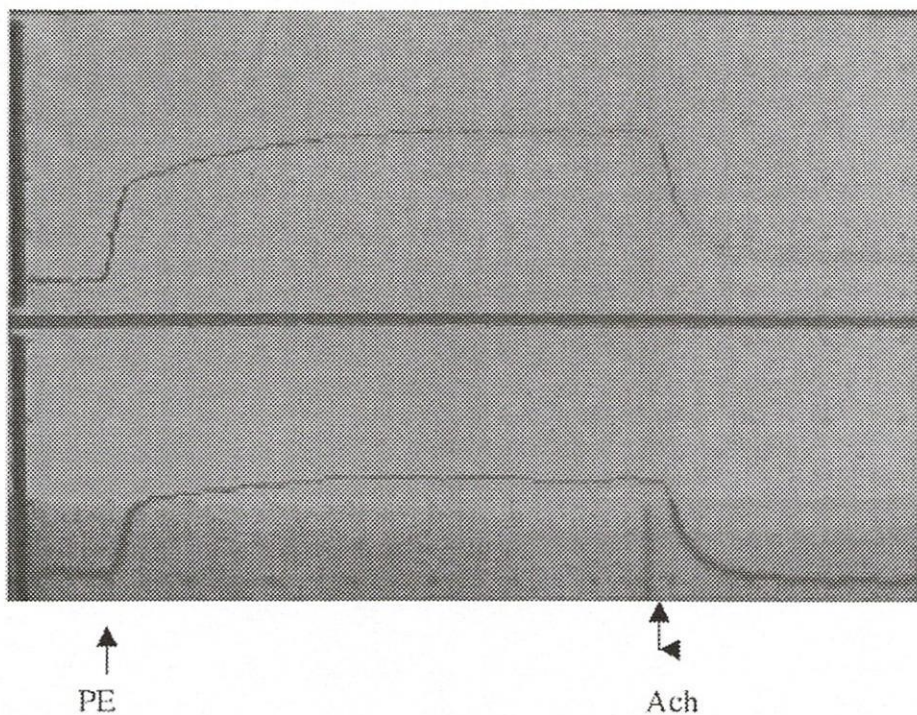


Figure 2. Test d'intégrité d'anneau d'aorte de rat réalisé au cours de nos expériences pour la mise en œuvre de la méthode.

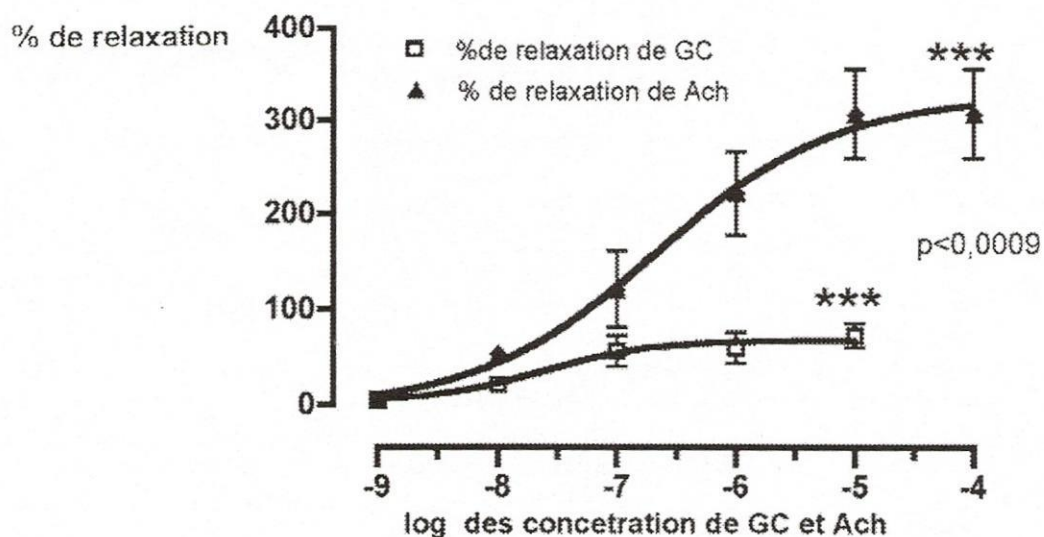


Figure 3. Effets d'inhibition de GC et Ach de la contraction induite par EP sur les anneaux d'aorte de rat.

Conclusion

L'analyse des effets pharmacologiques de *Gomphrena celosioides* sur le système cardiovasculaire du lapin et du rat rentre dans le cadre global de valorisation des plantes médicinales d'Afrique pour l'amélioration de la santé des populations. Les anomalies de la vasomotricité sont impliquées dans un certain nombre de maladies au premier rang desquelles l'hypertension artérielle. Le modèle d'étude de la réactivité vasculaire sur préparations d'anneaux vasculaires nous a permis de tester les effets d'extraits aqueux de la plante. Les résultats préliminaires de *Gomphrena celosioides* entraînent une hypotension qui est totalement réversible chez le lapin avec des doses d'extraits aqueux de 0,5 mg/kg et 0,75 mg/kg et une relaxation des anneaux d'aorte de rat avec la concentration de 1 µg/ml d'extrait aqueux. Ces résultats confirment la présence de principes hypotenseurs et justifient son utilisation dans le traitement de l'hypertension artérielle. Une analyse approfondie de l'extrait aqueux permettra de mieux caractériser son activité et son mécanisme d'action sur les cellules endothéliales et permettra son utilisation dans de très bonnes conditions de sécurité.

Références bibliographiques

- ABO K JC., 1996.** Effets pharmacologiques d'un extrait aqueux de *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae) sur l'activité cardiaque de mammifères. Thèse de troisième cycle, Université d'Abidjan – Cocody.
- ADJANOHOUN E. et AKÉ A., 1979.** Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Centre National de Floristique.
- DRABO YJ., DEMBÉLÉ A., OUANDAOGO BJ., SERMÉ D., 1992.** Traitement de l'hypertension artérielle au centre hospitalier Régional de Fada N'Gourma à propos de 110 cas ; Médecine d'Afrique Noire, 39, 1, 37-41.
- FIELDS JZ., ROESKE W R., MORKIN E. and YAMURA H L., 1998.** Cardio muscarine cholinergic receptors. Biochemical identification and characterization. J.Biol. Chem., 253, 3251-3258.
- FURCHGOTT RF, ZAWADZKI JV., 1980.** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature, 288:373-376
- N'GUESSANN J.D., TREBISSOU N.D., BAHI C., ZIRIHI G.N., GUEGUE-GUINA F., 2004.** Effets de BGG, F5 fraction chromatographique de *Morinda morindoides* sur la pression artérielle carotidienne de lapin. Revue Med. Pharm. Vol/ 18 : 35-53.
- NARGEOT J., 1978.** Etude électrophysiologique des récepteurs cholinergiques des fibres myocardiques. Thèse de doctorat ès Sciences.
- ONGOKA P. R., ABENA A.A., MOTOM M., NGOLIELE A., EKOUYA A., 2004.** Etude Ethnopharmacologique de quelques plantes anthelminthiques du Congo Brazzaville. Revue Med. Pharm. Vol.18 :153-159.
- SORO T. Y., 2000.** Etude toxicologique de *Swartzia madagascarensis* (Cealpiniaceae) et de ses effets pharmacologiques sur la contractilité intestinale et le système vasculaire des mammifères. DEA de Physiologie Animale. Université d'Abidjan – Cocody.
- TRAORÉ F., SORO T. Y., ABO K.J.C. et EHOUMAN E., 2000.** Effets pharmacologiques de *Swartzia madagascarensis* (Cealpiniaceae) et *Erythrina senegalensis* (Babaceae). Revue Ivoir. Sc. Techn. 3:
- TRAORÉ F., MBONGUE N. B., GUEGUE-GUINA F., KONÉ P.P., 2004.** Effet utérotonique d'un extrait aqueux de *Mareya* (Euphorbiaceae) sur les contractions spontanées de l'utérus de rate. Revue Med. Pharm. Vol. 18 :1-15.
- LAGNIKA, L., 2005.** Etude phytochimique et activité biologique des substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de l'Université de Strasbourg.
- NACOULMA/OUÉDRAOGO., 1996.** Plantes médicinales et pratiques médicales au Burkina Faso. Thèse de l'Université de Ouagadougou. P 285.