

Effet gastroprotecteur et potentiel mécanisme d'action antiulcéreuse d'extraits de fruits de *Acacia nilotica* var *adansonii* (Guill. et Perr.) O. Ktze (Mimosaceae)

Kamidini Venceslas COULIDIATI², Noufou OUEDRAOGO^{1,3*}, Lazare BELEMNABA¹, Mathieu NITIEMA¹, Moustapha ABDOULAYE GAMBO⁵, Geoffroy G. OUEDRAOGO¹, Kadiatou Tata TRAORE², Wendkouni L.M.E. KABRÉ³, Rainatou SONDE/BOLY¹, Sylvain ILBOUDO¹, Marius LOMPO¹, Sylvain OUEDRAOGO¹ et Innocent Pierre GUISSOU⁴

Résumé

Acacia nilotica est utilisée par les tradipraticiens dans la prise en charge des ulcères gastroduodénaux au Burkina Faso. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet gastroprotecteur et le potentiel mécanisme d'action des extraits aqueux et hydroéthanolique des fruits secs de *Acacia nilotica* L. (Mimosaceae) sur un modèle d'ulcère gastrique induit par l'éthanol chez la souris. Un criblage phytochimique et un dosage des composés phénoliques ont été réalisés sur les extraits aqueux et hydroéthanolique des fruits secs de *Acacia nilotica*. L'étude de la toxicité et de l'effet gastroprotecteur a été évaluée chez la souris. Ensuite, une évaluation de l'effet spasmolytique, du pouvoir antioxydant avec les méthodes DPPH et ABTS des extraits ont été réalisés. La forte teneur en composés phénoliques et flavonoïdes totaux a été obtenue avec le décocté. La toxicité aiguë étudiée a permis de classer les extraits étudiés comme des substances faiblement toxiques. Le macéré hydroéthanolique a présenté le meilleur effet spasmolytique. L'étude de l'activité antiradicalaire par la méthode de DPPH a permis d'obtenir des CI_{50} qui ont varié de $6,79 \pm 0,86$ à $9,39 \pm 0,01$ $\mu\text{g/ml}$ et la méthode ABTS a permis d'obtenir un TEAC qui a varié de 0,19 à 0,87 mg ET/g. Cependant le décocté aqueux a présenté le meilleur effet gastroprotecteur à la dose de 400 mg/kg avec 97,50 %. La forte teneur en composé phénoliques et les propriétés pharmacologiques des extraits pourraient justifier l'utilisation de *Acacia nilotica* par les tradipraticiens dans la prise en charge des ulcères gastroduodénaux.

Mots-clés : *Acacia nilotica*, gastroprotecteur, antioxydant, spasmolytique, ulcère

¹ Département Médecine et Pharmacopée Traditionnelles – Pharmacie (MEPHATRA-PH), Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS/CNRST), 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

² Laboratoire de Développement du Médicament (LADME), Ecole Doctorale de la Santé, Université Joseph Ki-Zerbo, 03 BP 7021, Ouagadougou 03, Burkina Faso.

³ Laboratoire de Biochimie et de Chimie Appliquée (LABIOCA), Université Joseph Ki-Zerbo, 03 BP 848 Ouagadougou 03, Burkina Faso

⁴ Faculté des sciences de la santé, Université Saint Thomas d'Aquin, 06 BP: 10212 Ouagadougou 06, Burkina Faso

⁵ Faculté des Sciences de la Santé, Université Abdou Moumouni De Niamey. BP: 10896 Niamey, Nige

* Auteur correspondant : OUEDRAOGO Noufou ; email : arnoufou2@yahoo.fr

Gastroprotective effect and potential anti-ulcer mechanism of action of fruit extracts of *Acacia nilotica* var *adansonii* (Guill. et Perr.) O. Ktze (Mimosaceae)

Abstract

In Burkina Faso, medicinal plants are used by traditional healers in the of peptic ulcers including *Acacia nilotica*. This study was aimed to evaluate the gastroprotective effect of aqueous and aqueous-ethanolic extracts of *A. nilotica* dry fruits on a model of gastric ulcer induced by ethanol in mice. Phytochemical screening and determination of the phenolic compounds were carried out on the aqueous and aqueous-ethanolic extracts of dry fruits from *A. nilotica*. Also, a study of the toxicity and the gastroprotective effect was evaluated in NMRI mice. Then, an evaluation of spasmolytic effect on contractions induced by acetylcholine and barium chloride, of the antioxidant power with DPPH and ABTS methods of extracts were carried out. The highest content of phenolic and flavonoids was obtained with the aqueous extract. Acute toxicity allowed to classify the extracts as weakly toxic substances. Hydroethanolic extract showed the best released effect on contractions induced by acetylcholine and barium chloride. Extracts IC₅₀ varied from 6.79 ± 0.86 to 9.39 ± 0.01 µg/mL using DPPH method, and ABTS method TEAC ranged from 0.19mgET / g to 0.87mg ET / g. However aqueous decoction showed a better protection against gastric mucosa at dose of 400 mg/kg with 97.50%. High content of phenolic compounds and pharmacological effects of extracts justify *Acacia nilotica* use by traditional healer in peptic ulcer management.

Keywords: *Acacia nilotica*, gastroprotective, antioxidant, spasmolytic, ulcer

Introduction

Les lésions gastriques représentent un problème de santé publique en termes de taux de morbidité et de mortalité et affectent environ 10% de la population mondiale (1). L'ulcère gastroduodéal (UGD), une lésion gastrique, entraîne une perte de substances plus ou moins étendue de la paroi digestive qui atteint la couche musculaire. La pathogenèse de l'ulcère gastroduodéal est associée à des modifications des paramètres physiologiques tels que la sécrétion excessive de l'acide gastrique, la perturbation de la barrière muqueuse, la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), la peroxydation des lipides et la libération de médiateurs inflammatoires. La sécrétion gastrique est induite par l'histamine dont la libération par les cellules pariétales est stimulée par l'acétylcholine. Plusieurs facteurs peuvent contribuer à la formation d'un ulcère. La bactérie *Helicobacter pylori* reste la principale cause des ulcères gastroduodéaux. En effet la prévalence de l'infection *H. pylori* est 96,1 % au Burkina Faso (2). En plus, le mode de vie, l'alcool, le café, le tabac et le stress sont depuis longtemps considérés comme facteurs de risques. Aussi, l'utilisation régulière de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), les maladies comme l'hypertension, l'obésité et le diabète de type II augmenteraient-ils les risques d'ulcères (3). Les traitements modernes utilisés dans la prise en charge des UGD sont essentiellement les antisécrétoires, les antiacides et pansements gastrique, les antibiotiques anti *Helicobacter pylori* et la Chirurgie. Toutefois, des remèdes traditionnels à base de plantes sont également utilisés dans la prise en charge des UGD. En effet les fruits secs de *Acacia nilotica* var *adansonii* (Guill. et Perr.) O. Ktze (Mimosaceae) est l'une des plantes médicinales les plus utilisées par les tradipradiciens dans la prise en charge des ulcères gastroduodéaux au Burkina Faso (4).

L'objectif du présent travail était d'évaluer l'effet gastroprotecteur des extraits aqueux et hydro-éthanolique des fruits secs de *Acacia nilotica* L. contre l'ulcère induit par l'éthanol chez les souris, et d'étudier le possible mécanisme des propriétés gastroprotectrices des extraits ; et enfin de faire une analyse qualitative et quantitative des différents composés chimiques.

I. Matériel et méthodes

I.1 Matériel végétal

Les fruits secs de *Acacia nilotica* var *adansonii* ont été récoltés en Janvier 2017 au secteur 1 de la ville de Ouahigouya (Burkina Faso). Ils ont ensuite été broyés à l'aide d'un broyeur à lames, et la poudre obtenue a été conservée dans des pots en plastiques hermétiquement fermés.

I.2 Réactifs

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), azinobis (3-ethylbenzolin-6-sulphonate) (ABTS), potassium persulfate (K₂S₂O₈) trolox, éthanol absolu, l'acétylcholine (Ach) et le Chlorure de baryum (BaCl₂) ont été obtenus à Sigma (St Louis, USA).

I.3 Animaux

Des souris mâles et femelles de souche NMRI avec un poids moyen de $30 \pm 1,6$ g, et des rats Wistars mâles et femelles avec un poids moyen de $260 \pm 15,8$ g ont été utilisés pour les tests toxicologiques et pharmacologiques. Ces animaux ont été fournis par l'animalerie de l'Institut de recherche en Sciences de la Santé (IRSS) et ont été élevés à une température ambiante de 23-25°C et 60 % d'humidité. Ils ont été nourris au tourteau de blé enrichi en protéines à 29% et à l'eau courante de robinet. Ces animaux ont été soumis à 12h d'éclairage et 12 h d'obscurité.

I.4 Méthode d'extraction

Un décocté aqueux, un infusé aqueux et un macéré hydroéthanolique ont été préparés dans le but de comparer les propriétés pharmacologiques et le profil en composés phytochimiques des différents extraits à tester.

- **Décoction aqueuse** : 100 g de la poudre végétale a été mélangée dans un 1 litre d'eau distillée et laissé en macération pendant 30 min ; puis le mélange a été porté à ébullition pendant 30 min. Le mélange a été ensuite filtré, centrifugé à 2000 tr /min pendant 10 min puis lyophilisé pour les tests biologiques.
- **L'infusion** : 100 g de la poudre végétale a été additionnée dans 1 litre d'eau distillée préalablement portée à ébullition. Le mélange a été gardé en infusion pendant 30 min puis filtré après refroidissement. Le filtrat a été centrifugé à 2000 trs/min pendant 10 min. L'infusé obtenu a été lyophilisé pour les tests biologiques.
- **La macération hydroéthanolique** : 100 g de poudre végétale a été additionnée 1 litre d'une solution hydroéthanolique à 80 % (v /v) et le mélange a été gardé en macération pendant 24 h à température ambiante. L'extrait a été filtré sur du papier wattman puis concentré sous pression réduite au rotavapor (BÜCHI, R11). L'extrait concentré a été lyophilisé pour les tests biologiques.

I.5 Criblage phytochimique (6)

Le criblage phytochimique des échantillons a été réalisé à partir des extraits mis en solution dans des tubes à essais. A cet effet, la méthode décrite par Ciulei (5) a été utilisée avec une légère modification. Le criblage a utilisé le réactif de Liebermann-Buchard pour les stéroïdes et/ou triterpènes, le test de Shibata pour les flavonoïdes, le réactif de Bornträger pour les anthracénosides, le réactif de Feigl pour les coumarines, le réactif de Kedde pour les Cardénolides, le réactif de Bate-Smith pour les anthocyanosides, le trichlorure de fer pour les tanins, le test de mousse pour les saponosides, et le réactif de Dragendorff pour les alcaloïdes.

I.6 Dosage des phénoliques et flavonoïdes totaux

I.6.1 Dosage des phénoliques totaux

Les composés phénoliques totaux ont été dosés selon la méthode de Singleton *et al.* (6). Les composés phénoliques réagissent avec le Folin Ciocalteu Reagean (FCR) en milieu alcalin. Le mélange réactionnel a été constitué de 1 mL d'extrait, 1 mL de FCR (2N) et 3 mL d'une solution de carbonate de sodium 20 %. Le mélange a été laissé au repos à la température ambiante pendant 40 min puis l'absorbance est mesurée à 760 nm au spectrophotomètre (Agilent 8453) équipé d'un logiciel UV-Visible chemstation. Dans le tube témoin blanc, l'extrait a été remplacé par l'eau distillée. Une courbe étalon a été tracée avec l'acide tanique ($R^2 = 0.999$). Les résultats ont été exprimés en gramme équivalent acide tanique pour 100 g de matière sèche (g EAT/ 100 g MS).

I.6.2 Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode décrite par Abdel-Hameed (7). 100 μ L d'extrait (10 mg/mL) dans le méthanol ont été mélangés avec 100 μ L de trichlorure d'aluminium (20%) dans du méthanol et une goutte d'acide acétique, puis le volume a été porté à 5 mL avec du méthanol. Après 40 min d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 415 nm à l'aide du spectrophotomètre (Agilent 8453) équipé d'un logiciel UV-Visible chemstation. Le tube témoin blanc a été constitué de 100 μ L d'extrait et d'une goutte d'acide acétique et complété à 5 mL de méthanol. Une courbe étalon avec la quercétine a été tracée ($R^2 = 0.999$). Les résultats sont exprimés en gramme équivalent quercétine pour 100 g de matière sèche (g EQ/ 100 g MS).

I.7 Toxicité aiguë

L'étude de la toxicité générale aiguë avait pour but de déterminer la dose limite d'utilisation des extraits de *Acacia nilotica* lors des expérimentations in vivo. La toxicité générale aiguë a été évaluée selon les lignes directrices 423 de l'Organisation du Développement et de la Coopération Economiques (OCDE) (8). Au total 12 souris NMRI mâles et femelles ont été réparties en 4 lots de 3 souris dont un lot témoin et trois lots tests, puis mises à jeun de nourriture avec accès libre à l'eau pendant 3 h. Une dose unique de 2000 mg/kg de chaque extrait (en solution aqueuse) a été administrée par voie orale. Après administration des extraits les animaux ont été mis en observation toutes les 30 min durant les 2 heures qui ont suivi l'administration des extraits. Au bout des deux heures d'observation, les animaux ont été alimentés puis mis en observation quotidiennement pendant 14 jours.

I.8 Evaluation de l'effet gastroprotecteur

Des souris de poids moyen de $30 \pm 1,6$ g ont été mises à jeun pendant 24 heures avant l'expérimentation mais avaient accès libre à l'eau. Au début du test, des lots de 6 souris ont été constitués et les animaux ont reçu par voie orale le décoté aqueux aux doses de 100 ; 200 et 400 mg/kg, l'infusé aqueux aux doses de 200 ; 400 et 600 mg/kg, le macéré hydroéthanolique aux doses de 200 ; 400 et 600 mg/kg. L'oméprazole (30 mg/kg) a été utilisé comme produit de référence. Une heure après le traitement, chaque souris a reçu 0,3 ml d'éthanol absolu selon la méthode décrite par Sofidiya *et al.* (9) légèrement modifié. Une heure après l'administration de l'alcool, les souris ont été sacrifiées. L'estomac de chaque souris a été prélevé, ouvert selon la grande courbure à l'aide d'une paire de ciseaux, lavé avec une solution physiologique (NaCl, 0,9 %). Après lavage, chaque estomac a été bien étalé sur une tablette pour mieux observer à l'œil nu les ulcères formés.

L'évaluation de la capacité gastroprotectrice des extraits a été faite en utilisant deux méthodes :

- L'indice d'ulcération (IU)

La longueur de chaque ulcération a été mesurée à l'aide d'une règle graduée en millimètre (mm). Le nombre et la gravité des ulcères ont été déterminés selon un score allant de 0 à 7 ; 0 = pas de lésion ; 1 = 1 à 3 petites lésions (PL) ; 2 = 4 à 10 petites lésions (PL) ; 3 = 10 PL à 3 lésions moyennes (LM) ; 4 = 4 à 6 lésions moyennes (LM) ; 5 = 5 LM à 3 grandes lésions (GL) ; 6 = 4 à 6 grandes lésions (GL) ; 7 = plus de 7 grandes lésions (GL).

NB : PL < 2mm, LM : 2 à 4 mm, GL > 4 mm

L'indice d'ulcération (IU) et le pourcentage de protection (PP) ont été calculés selon les formules suivantes :

$$IU = \frac{\text{Somme des cotations} \times \% \text{ des estomacs présentant des ulcères}}{\text{nombre d'animaux}}$$

$$PP = \frac{IU_{\text{témoin}} - IU_{\text{traité}}}{IU_{\text{témoin}}} \times 100$$

IU : Indice d'ulcération ; PP : Pourcentage de protection

- **Surface d'ulcération** : Mesure des ulcérations avec le logiciel Image J sur les images des estomacs ouverts. Avec ce logiciel, les valeurs de surface d'ulcération ont été obtenues avec des valeurs absolues.

I.9 Etude *in vitro* de l'effet des extraits sur les contractions du muscle lisse intestinal induites par l'acétylcholine (Ach) et le Chlorure de baryum (BaCl₂) sur le duodénum isolé de rat (11)

L'effet spasmodique des extraits avait pour but d'évaluer la capacité des extraits d'inhiber de manière indirecte la libération d'histamine responsable de la sécrétion d'acide gastrique. Des rats Wistar de poids moyen de $260 \pm 15,8$ g, préalablement mis à jeun pendant 16 à 18 h, ont subies

une dislocation cervicale. Le duodénum a été ensuite repéré à la base de l'estomac puis une section au tiers antérieur de l'intestin a été prélevée et immédiatement plongée dans une solution de Tyrode. Les adhérences ont été ensuite éliminées et la partie duodénale a été récupérée pour la manipulation. Le morceau de duodénum a été sectionné de façon à obtenir un morceau de 1 à 1,5 cm de long. Une des extrémités de l'organe a été fixée à un support fixe et l'autre à un capteur isotonique à l'aide d'un fil qui était lui-même relié à un enregistreur (type Harvard Student oscillographe numéro de série 194149) par l'intermédiaire d'un amplificateur (type Harvard numéro de série K10231). Après avoir attaché soigneusement les deux bouts du duodénum, il a été placé dans une cuve à organe isolé contenant la solution de Tyrode et oxygéné par un bulleur d'aquarium. Une fois le fragment de l'intestin monté, on a observé une période de stabilisation de 60 min au cours de laquelle la solution de survie a été renouvelée toutes les 10 min. Une concentration de 2 μM d'acétylcholine a été injectée dans la cuve afin de provoquer les contractions du duodénum. Ensuite un test en mode cumulative des extraits a été réalisé aux concentrations de 100 $\mu\text{g/ml}$, 200 $\mu\text{g/ml}$, 300 $\mu\text{g/ml}$; 600 $\mu\text{g/ml}$; 1000 $\mu\text{g/ml}$ 1500 $\mu\text{g/ml}$; 2000 $\mu\text{g/ml}$ et 3000 $\mu\text{g/ml}$: Le mode opératoire susmentionné a été également adopté pour le chlorure de baryum à la concentration de 10 mg/ml . L'antagonisme de l'acétylcholine à la concentration de 2 μM avec l'atropine aux concentrations de 1 μM , 3 μM , 6 μM , 10 μM , 15 μM et celui du chlorure de baryum à la concentration de 10 mg/ml avec la papavérine aux concentrations de 10 $\mu\text{g/ml}$, 30 $\mu\text{g/ml}$, 60 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ et 150 $\mu\text{g/ml}$ a été réalisé selon le même mode opératoire.

Les amplitudes de relâchement ont été déterminées et le pourcentage de relâchement a été calculé selon la formule suivante :

$$P = \frac{\text{HO} - \text{HO}}{\text{HO}} \times 100$$

Avec P : pourcentage de relâchement H : hauteur de relâchement de l'extrait et HO : hauteur des contractions induites par l'acétylcholine ou le chlorure de baryum.

I.10 Activités antioxydantes

I.10.1 Test de réduction du radical DPPH

La capacité des extraits à réduire les radicaux libres de la DPPH a été déterminée par la méthode de Kim *et al.* (10). Dans chaque puits de la microplaque, 10 μL de l'extrait ou du trolox (substance de référence) ont été ajoutés à 200 μL de la solution de DPPH. Après 30 minutes d'incubation, l'absorbance a été lue à 490 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS Biorad model 680. Une courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH a été tracée en fonction de la concentration de l'échantillon. Sur la courbe, la concentration nécessaire pour dégrader 50 % de DPPH (IC₅₀) a été déterminée. Le pouvoir anti radicalaire (anti radical power : ARP) a été déterminée par la formule :

$$\text{ARP} = \frac{1}{\text{IC}_{50}}$$

IC₅₀ : concentration inhibitrice à 50 % exprimée en $\mu\text{g/ml}$ d'extrait ; ARP: anti radical power

I.10.2 Test de réduction du radical ABTS

Ce test est basé sur le mécanisme d'oxydo-réduction de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2, 2'- azino bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) décrit par Lompo et al. (11). 20 µL de différentes concentrations des extraits ou de trolox (substance de référence) et 200 µL de la solution d'ABTS ont été mélangés dans les puits de la microplaque. L'ensemble a été mis à l'abri de la lumière pendant 30 minutes à 25°C et les absorbances ont été lues à 734 nm au spectrophotomètre UV-VIS Biorad model 680. Le TEAC a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{TEAC} = \frac{\text{AR}_{\text{Pech}}}{\text{AR}_{\text{trolox}}}$$

TEAC: Trolox Equivalent Antioxydant Capacity

I.11 Traitement statistique des résultats

Les résultats ont été analysés à l'aide des logiciels Microsoft Excel 2010, Image J et Graph Pad Prisme version 5.03. Toutes les données ont été exprimées sous forme de moyenne ± écart type. La significativité des différences entre les groupes traités et témoins a été évaluée par le test t de Student. Les différences étaient considérées significatives pour $p < 0,05$.

II. Résultats

II.1 Résultat du Criblage phytochimique

Le criblage chimique en tube a permis de mettre en évidence dans les différents extraits de l'étude la présence des groupes phytochimiques d'intérêts biologiques. Le profil phytochimique des différents extraits est consigné dans le tableau I.

Tableau I : Caractérisation des groupes chimiques dans les extraits de *Acacia nilotica*.

Groupes chimiques	Extrait MHE	Infusé aqueux	Décocté aqueux
Stéroïdes et triterpènes	+	-	-
Coumarines	+	-	-
Saponosides	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	+
Tanins	+	+	+
Anthracénosides	+	+	+
Coumarines	+	+	+
Alcaloïdes	-	-	-
Anthocyanosides	+	+	+

Légende : + : Présence ; - : Absence MHE : macéré hydroéthanolique

II.2 Teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes totaux

La figure 1 présente les teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes totaux des extraits.

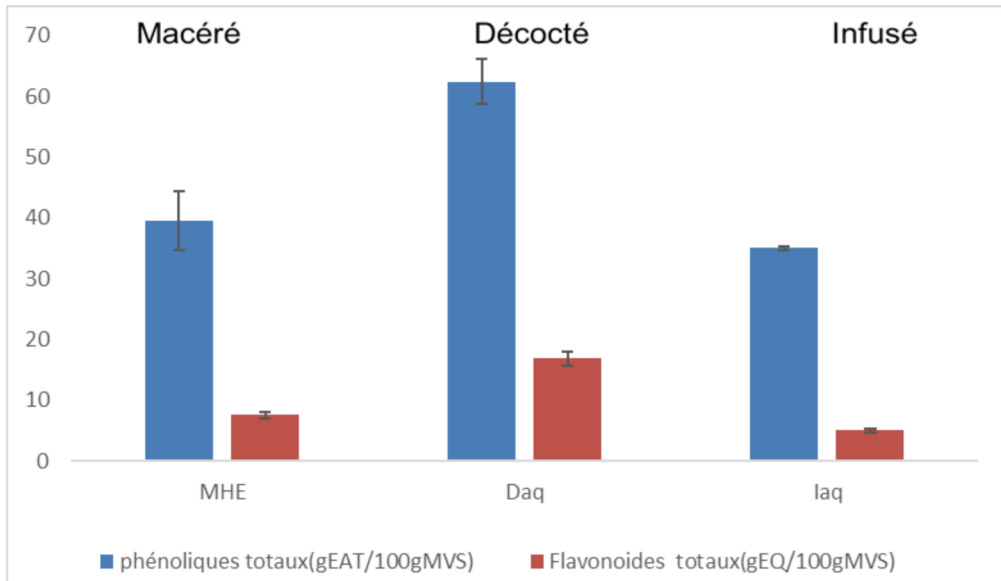


Figure 1 : Teneurs en phénoliques et en flavonoïdes totaux des différents extraits (n=3).

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ESM, MHE : macéré hydroéthanolique ; Daq : décocté aqueux ; Iaq : infusé aqueux ; matière végétale sèche (MVS).

L'analyse de cet histogramme montre que les teneurs en phénoliques totaux ont varié de $35,02 \pm 0,3$ gEAT/100 gMVS pour l'infusé aqueux à $62,41 \pm 3,68$ gEAT/100 gMVS pour le décocté aqueux. La plus forte teneur en flavonoïdes totaux a été obtenue avec le décocté aqueux $16,83 \pm 1,15$ gEQ/100 gMVS et la plus faible avec l'infusé aqueux ($5 \pm 0,34$ gEQ/100gMVS). Il n'y a pas eu de différence statistique entre les teneurs en phénoliques totaux de l'infusé aqueux et du macéré hydroéthanolique.

II.3 Toxicité générale aiguë des extraits de *Acacia nilotica*

L'étude de la toxicité générale aiguë des différents extraits a montré que les extraits hydroalcooliques et aqueux des fruits secs de *Acacia nilotica* var *adansonii* ne provoquent pas de symptômes d'intoxication (toxidrome) ni de mortalité jusqu'à la dose de 2000 mg/kg chez les souris NMRI au cours des 72 h d'observation qui ont suivi l'administration des extraits et au bout des deux semaines d'observation.

II.4 Résultats de l'étude pharmacologique

Effet gastroprotecteur des extraits de *Acacia nilotica*

L'effet gastroprotecteur des extraits est présenté dans la figure 2 et les indices d'ulcérations et les pourcentages de protections sont présentés dans le tableau III.

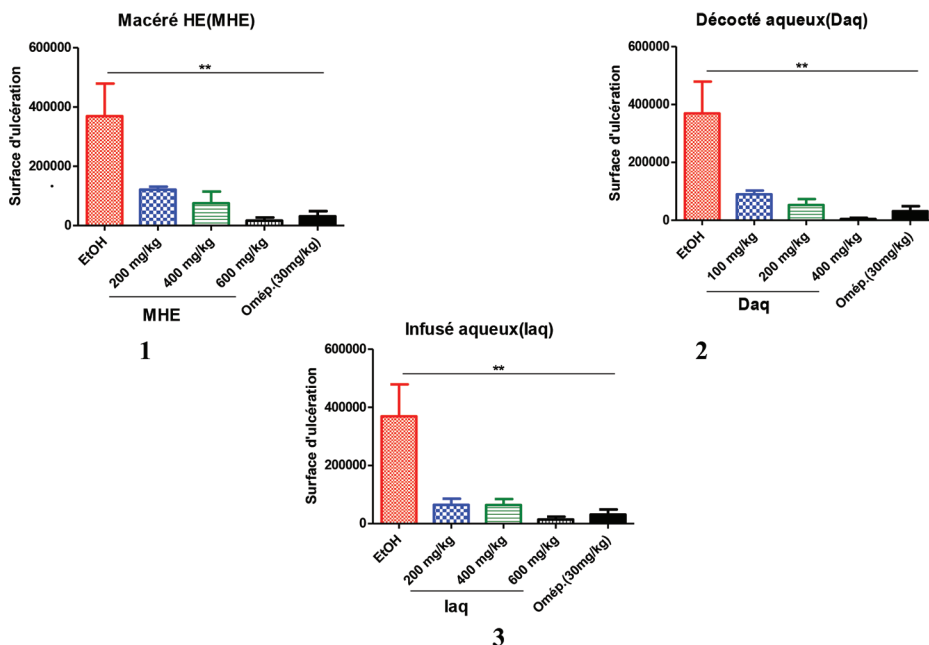


Figure 2 : Effet gastroprotecteur doses dépendantes du MHE (1), du décocté aqueux (2) et de l'infusé aqueux (3).

EtOH : Ethanol (lot Témoin); Omép. : Oméprazole (** : $p < 0,05$; $n = 6$)

L'analyse de la figure 2 montre que tous les extraits ont présenté une action protectrice la muqueuse gastrique contre les ulcérations provoquées par l'administration de l'éthanol absolu chez la souris NMRI. Le meilleur effet de protection a été obtenu avec le décocté aqueux à la dose de 400 mg/kg.

Tableau II : Indice d'ulcération (IU) et pourcentage de protection (PP) des extraits

Extraits	Dose (mg/kg)	Indice d'ulcération	Pourcentage de protection (%)
Control positif	---	$6,8 \pm 1,09$	---
Macéré hydroéthanolique	200	$4,33 \pm 1,70$	36,32
	400	$2,67 \pm 1,77$	60,73
	600	$0,67 \pm 0,89$	90,15
Infusé aqueux	200	$4,17 \pm 2,83$	38,68
	400	$2,5 \pm 1,00$	63,23
	600	$1,83 \pm 2,44$	73,09
Décocté aqueux	100	$4,17 \pm 1,50$	38,68
	200	$2,5 \pm 1,70$	63,23
	400	$0,17 \pm 0,28$	97,50
Oméprazole	30	$2,67 \pm 2,00$	60,73

Le décocté aqueux a présenté le meilleur effet gastroprotecteur.

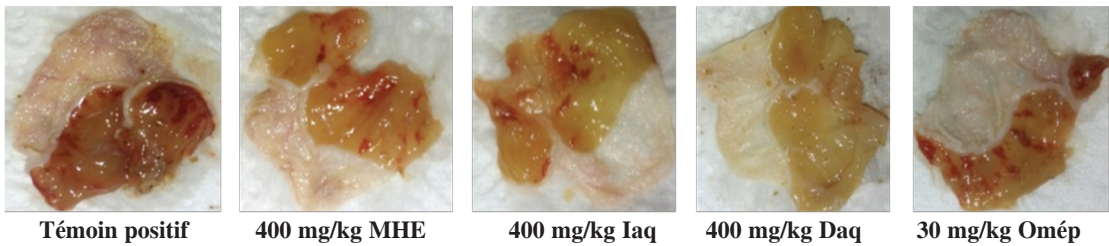


Figure 3 : Photos illustratives des effets gastroprotecteurs de *Acacia nilotica var adansonii* (Mimosaceae).

Ces photos sont typiques des estomacs ouverts. MHE : extrait hydroéthanolique ; IaQ : infusé, DaQ : décocté, Omép : oméprazole.

II.5 Effet des extraits de *Acacia nilotica* sur les spasmes induits par l'acétylcholine (Ach) sur le duodénum de rat Wistar.

L'administration de l'Ach a provoqué une contraction soutenue sur le duodénum isolé de rat Wistar. Les résultats de l'effet des extraits des fruits secs de *Acacia nilotica* sur le spasme sont représentés sur la figure 4.

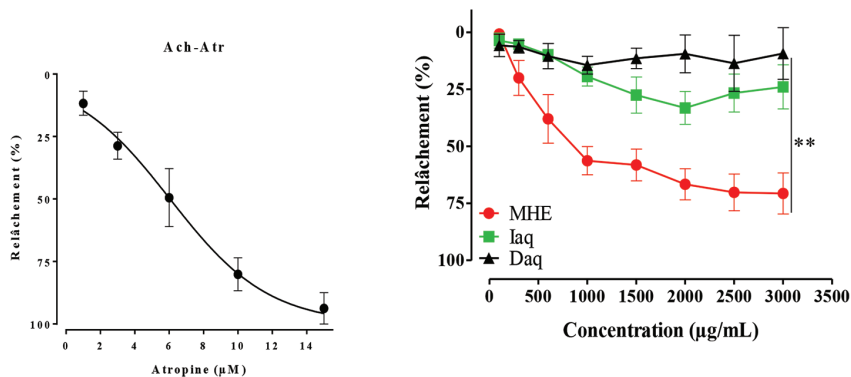


Figure 4 : Courbes doses réponses des extraits (1) et de l'atropine (2) sur les spasmes induits par l'acétylcholine (Ach) ($p < 0,05$ versus Daq; $n = 3-5$)

L'analyse de la figure 4 montre que le macéré hydroéthanolique a présenté le meilleur effet de relâchement des spasmes induits par l'Ach au niveau du duodénum de manière concentration-dépendante avec un effet de relâchement maximum de $70,66 \pm 18,03\%$ à $2500 \mu\text{g/ml}$. L'analyse de la figure 4 montre également que l'atropine pris comme référence provoque un relâchement total ($E_{\text{max}} = 100\%$) avec une CI_{50} de $5,58 \pm 1,56 \mu\text{M}$ sur les spasmes provoqués par l'Ach au niveau du duodénum du rat.

II.6 Effet des extraits de *Acacia nilotica* sur les spasmes induits par le chlorure de baryum (BaCl₂) sur le duodénum de rat Wistar

L'injection du chlorure de baryum dans la cuve contenant le duodénum de rat Wistar a entraîné une contraction de l'organe. Les résultats de l'effet des extraits des fruits secs de *Acacia nilotica* sur le spasme sont représentés sur la figure 5.

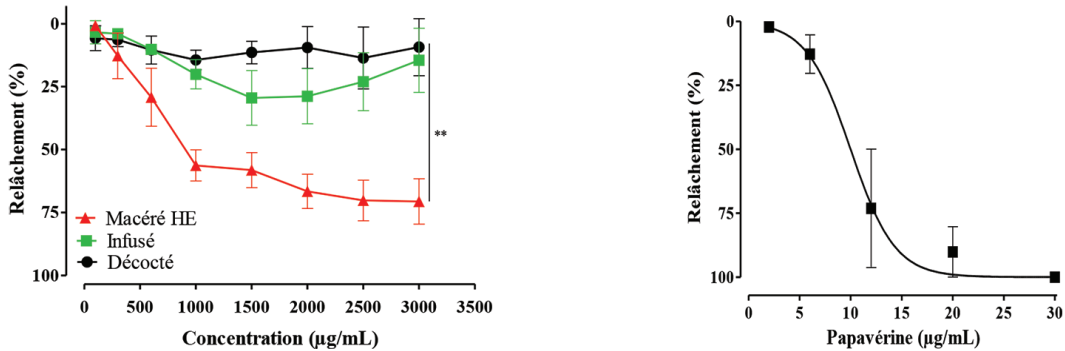


Figure 5 : courbes doses réponses des extraits aqueux et MHE (1) et de la papavérine (2) sur les spasmes induits par le chlorure de baryum (BaCl₂). (p < 0,05 versus Daq; n = 3-4).

L'analyse de la figure 5, montre que le macéré hydroéthanolique a présenté le meilleur effet de relâchement des spasmes induits par BaCl₂ au niveau du duodénum de manière concentration-dépendante avec un effet de relâchement de 71,06 ± 18,03 % à 2500 µg/ml. La papavérine pris comme référence a provoqué un relâchement total (E_{max} = 100%) avec une CI₅₀ de 12,32±4,53 µg/ml sur les spasmes provoqués par le chlorure de baryum au niveau du duodénum du Rat.

II.7 Propriétés antioxydantes des extraits de *Acacia nilotica*

Les résultats du pouvoir antioxydant des différents extraits par les deux méthodes (DPPH et ABTS) sont présentés dans le tableau ci-après.

Tableau III : Pouvoir antioxydant des différents extraits (n=3)

Extraits	DPPH		ABTS	
	CI ₅₀ (µg/ml)	ARP	CI ₅₀ (µg/ml)	TEAC
Macéré hydroéthanolique	6,79 ± 0,86	0,15	5,98 ± 0,18	0,87
Décocté aqueux	9,39 ± 0,01	0,11	7,56 ± 0,35	0,69
Infusé aqueux	9,06 ± 0,31	0,11	10,05 ± 0,60	0,19
Trolox	7,66 ± 0,12	0,13	5,23 ± 0,48	---

ARP : activité antiradicalaire ; TEAC : trolox equivalent antioxidant capacity

L'étude de l'activité antiradicalaire par la méthode au DPPH nous a permis d'obtenir des CI_{50} qui ont variés de $6,79 \pm 0,86$ à $9,39 \pm 0,01$ $\mu\text{g/ml}$. Le pouvoir réducteur du cation radicalaire ABTS⁺. (TEAC) a varié de 0,19 mgET/g pour l'infusé à 0,87 mgET/g pour le macéré hydroéthanolique. La meilleure activité a été obtenue avec le macéré hydroéthanolique.

III. Discussion

L'objectif de notre étude était d'établir une base scientifique de l'utilisation de *Acacia nilotica* qui est une des plantes les plus utilisée en médecine traditionnelle au Burkina Faso, dans la prise en charge des ulcères gastroduodénaux. La présente étude a montré que les extraits de *Acacia nilotica* possèdent des effets pharmacologiques tels que gastroprotecteur, antioxydant et antispasmodique. De même que des groupes phytochimiques ont été caractérisés et dosés.

Les extraits de *Acacia nilotica* de l'étude ont donné des profils phytochimiques similaires. Ce profil est comparable à celui rapporté par Nacoulma (4). Les tannins, les flavonoïdes, les stérols et triterpènes qui sont les plus impliqués dans les activités antiulcéreuses (3) ont été mis en évidence dans les extraits de l'étude. La teneur la plus forte en composés phénoliques est comparable à celle obtenue dans des extraits de *Acacia nilotica* par Sulaiman et Gopalakrishnan (12). Bansal *et al.* (13) en Inde ont trouvé $17,00 \pm 0,6\%$ de phénoliques totaux et $4,20 \pm 0,27\%$ de flavonoïdes totaux pour le macéré hydroéthanolique (70/30) des jeunes fruits sans graines de *A. nilotica*. Ces différences pourraient être dues à la méthodologie utilisée, aux diversités des sols mais aussi au degré de maturité des fruits.

L'étude de la toxicité générale aiguë avait pour but de déterminer la dose limite d'utilisation des extraits de *Acacia nilotica* L. L'absence de mortalité à la dose de 2000 mg/kg a permis d'estimer la dose létale (DL_{50}) à 5000 mg/kg de poids corporel selon la ligne directrice 423 de l'OCDE (8). Ces valeurs de DL_{50} permettent de classer les extraits étudiés comme des substances faiblement toxiques. Cependant une hépatotoxicité avec une élévation des transaminases, a été rapportée par Alli *et al.* (14) sur une administration de 5000 mg/kg/jour durant 28 jours des extraits aqueux des racines de *Acacia nilotica*.

L'effet gastroprotecteur des extraits a été évalué en utilisant l'éthanol absolu qui est un des ulcérogènes les plus utilisés dans l'investigation préclinique des propriétés antiulcéreuses des substances.

L'éthanol conduit à une hémorragie, un œdème, une accumulation massive de calcium, la production des radicaux libres et l'inhibition de la synthèse des prostaglandines (15). L'ulcère induit par l'éthanol est caractérisé également par un processus inflammatoire traduisant par la libération des cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL 1 β , IL6) (16).

Le macéré hydroéthanolique, l'infusé aqueux et le décocté aqueux de la plante, administrés par voie orale à des doses différentes, ont protégé la muqueuse gastrique contre les ulcérations provoquées par l'éthanol. Cela pourrait être dû à l'action antagoniste des extraits contre le processus ulcérogène. Dans nos conditions expérimentales, le décocté aqueux a présenté une meilleure protection de la muqueuse gastrique que les autres extraits aux doses utilisées. Ceci pourrait être dû à une abondance en composés phénoliques et flavonoïdes totaux comme rapporté dans la littérature (17) pour les mêmes activités biologiques. L'effet gastroprotecteur des différents extraits à la dose de 400 mg/kg est supérieur à celui de l'oméprazole (30 mg/kg). L'oméprazole, un antisécrétoire d'acide gastrique,

réduit l'ulcère induit par l'éthanol absolu. Ce qui suggère que l'effet antiulcéreux de nos extraits pourrait être dû à une réduction de la sécrétion d'acide gastrique.

C'est dans ce sens que des investigations ont été menées sur l'effet antisécrétoire (antiacide) des extraits. Les extraits de *Acacia nilotica* ont été étudiés pour leur effet spasmodique possible sur l'intestin isolé du rat. Les extraits ont manifesté une action relaxante sur des contractions spasmodiques induites par l'acétylcholine et le chlorure de baryum sur l'intestin isolé du rat Wistar. L'effet anti-spasmodique des extraits était concentration-dépendante, et faible comparativement à celui de l'atropine et de la papavérine qui sont respectivement un antagoniste de l'acétylcholine et du chlorure de baryum.

L'acétylcholine affecte aussi indirectement les cellules pariétales en augmentant la libération d'histamine et de la gastrine. Ces derniers médiateurs stimulent la sécrétion de l'acide gastrique. L'acétylcholine est un agoniste des récepteurs muscariniques (M_1 et M_3) dont l'action provoque une augmentation du tonus et des contractions au niveau de l'intestin via une élévation de la quantité de calcium (Ca^{2+}) cytosolique qui stimule la sécrétion acide gastrique par la pompe H^+/K^+ ATPase (18). Pour spécifier cet effet antagoniste, la suite des travaux a été portée sur les spasmes induits par le chlorure de baryum sur l'intestin isolé de rat Wistar. Les ions baryum B^{2+} dépolarisent la membrane musculaire lisse provoquant l'ouverture des canaux Ca^{2+} voltage-dépendant avec pour conséquence un influx de Ca^{2+} (19).

Dans nos conditions expérimentales, le macéré hydroéthanolique a présenté le meilleur effet spasmodique. Le décocté aqueux qui a présenté le plus faible effet spasmodique nous permet de suggérer que son effet gastroprotecteur ne serait pas lié à la voie cholinergique mais à sa forte teneur en composés phénoliques. En effet, les tanins sont connus pour leur effet inhibiteur de la motilité intestinale en diminuant le taux de calcium intracellulaire ou en activant la pompe calcique (20, 21).

L'ulcère induit par l'éthanol absolu se traduit aussi par la production de lésions sur la muqueuse et une libération de radicaux libres qui vont entraîner une dégradation des mastocytes, une inhibition de la production des prostaglandines entraînant une diminution du mucus et une activation de la voie des lipoxygénases. Les substances possédant un potentiel antioxydant ont des effets gastroprotecteurs (22). Ainsi, deux méthodes (DPPH et ABTS) ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des fruits secs de *Acacia nilotica* var *adansonii*. Ces méthodes sont distinctes, chacune évaluant l'activité antioxydante de façon différente mais restent complémentaires. Les résultats obtenus nous permettent de dire que tous les extraits sont doués de propriétés antioxydantes. En effet le macéré hydroéthanolique a présenté le meilleur pouvoir antioxydant. Le résultat du macéré hydroéthanolique présentant le meilleur pouvoir antiradicalaire est inférieure à celui de Sadiq *et al.* (23) en Inde qui trouvaient une $CI_{50}=4,16 \mu\text{g/ml}$ avec les écorces de tronc de *A. nilotica* et de Abdel-Farid *et al.* (24) en Arabie-Saoudite qui trouvaient un $ARP=2,01$ avec les feuilles de *A. nilotica*. Ce résultat pourrait aussi être dû à la présence de composés lipophile comme le préconisait Prior *et al.* (25). Les effets gastroprotecteurs de nos extraits pourraient s'expliquer par leur pouvoir antioxydant en piégeant les radicaux libres produit lors des lésions dus à l'alcool.

Conclusion

Cette étude a permis de caractériser et de doser les principaux groupes phytochimiques, de comparer les effets pharmacologiques (gastroprotecteur, antioxydant, spasmolytique) du décocté, de l'infusé et de l'extrait hydroéthanolique des fruits secs de *Acacia nilotica* var *adansonii* ainsi que l'innocuité des extraits. Ce travail apporte des données scientifiques à des différentes préparations de cette plante en médecine traditionnelle pour traiter l'ulcère gastroduodéal.

Références bibliographiques

- 1-Farraga Abdel Razik H., Heba M.I. Abdallah, Amira R. Khattab, Abdelsamed I. Elshamyd, Abd El-Nasser G. El Gendyf, Tarik A. Mohamedg et al. Antiulcer activity of *Cyperus alternifolius* in relation to its UPLC-MS metabolite fingerprint: A mechanistic study. *Phytomedicine* 62 (2019) 152970.
- 2-Werme Karidia, Cyrille Bisseye, Issiaka Ouedraogo, Albert Théophile Yonli, Djénèba Ouermi, Florencia Djigma, et al. Diagnostic moléculaire d'*helicobacter pylori* par PCR chez les patients en consultation gastroentérologique au Centre Médical Saint Camille de Ouagadougou. *Pan African Medical Journal*. 2015; 21:123 doi:10.11604/pamj.2015.21.123.6001
- 3-Sharifi-Rad Mehdi, Patrick Valere Tsouh Fokou, Farukh Sharopov, Miquel Martorell, Adedayo Oluwaseun Ademiluyi, Jovana Rajkovic, et al. Antiulcer Agents: From Plant Extracts to Phytochemicals in *Healing Promotion*. *Molecules* 2018, 23, 1751; doi:10.3390/molecules23071751
- 4-Nacoulma Ouédraogo. Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso : cas du plateau central. Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles. Faculté des Sciences et Techniques de l'Université de Ouagadougou ;1996, 320p.
- 5-Ciulei I. Methodology for analysis of vegetable drug. Practical manual on industrial utilization of medicinal and aromatic plants, *Bucharest, Ministry of Chemical industry*, 1982, 67 p.
- 6-Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. Analysis of phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalceou Reagent. *Methods in Enzymology*, 1999; 299, 152-178.
- 7-Abdel-Hameed E-SS. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. *Food Chemistry*. ; 2009; 114(4) :1271-7.
- 8-OCDE. Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. Essai n° 423: Toxicité orale aiguë - Méthode par classe de toxicité aiguë. Adoptée le 17 Décembre 2001.
- 9-Sofidiya Margaret O, Lilian Agufobi, Abidemi J Akindede, Johnson A Olowe and Oluwole B Familoni. Effect of *Flabellaria paniculata* Cav. extracts on gastric ulcer in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2012, 12:168
- 10-Kim, K.S., Lee, S., Lee, Y.S., Yung, S.H, Park, Y., Shin, KH. Kim, B-K. Antioxydant activities of the extracts from the herbs of *Artemisia apiacea*. *J. Ethnopharmacology*., 2003 ; 85 : 69-72.
- 11-Lompo Marius, Traoré Rakiatou, Ouédraogo Noufou, Kini Félix, Tibiri André, Duez Pierre and Guissou I. Pierre. In vitro antioxydant activity and phenolic contents of different fractions of ethanolic extract from *Khaya senegalensis* A. Juss. (Meliaceae) stem barks. *Afr. J. Pharm. Pharmacol*. Vol. 10(23), pp. 501-507, 22 June, 2016. DOI: 10.5897/AJPP2016.4564
- 12-Sulaiman C T And V. K Gopalakrishnan. Comparative phytochemical studies in selected *Acacia* species. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2012, Vol 4, Suppl 5, 458-460.
- 13-Bansal Vijay Kumar, Rajesh Kumar Goel. Gastroprotective effect of *Acacia nilotica* young seedless pod extract: Role of polyphenolic constituents. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* (2012)523-528.
- 14-Alli Lukman Adewale, Abdulfatai Ayoade Adesokan, Oluwakanyinsola Adeola Salawu, Musbau Adewunmi Akanji. Toxicological studies of aqueous extract of *Acacia nilotica* root. *Interdiscip Toxicol*. 2015; Vol. 8(1): 48-54. doi: 10.1515/intox-2015-0005

- 15-**Noor Wahida Ismail Suhaimy, Ahmad Khusairi Noor Azmi, Norhafizah Mohtarrudin, Maizatul Hasyima Omar, Siti Farah Md. Tohid, Manraj Singh Cheema, et al.** Semipurified Ethyl Acetate Partition of Methanolic Extract of *Melastoma malabathricum* Leaves Exerts Gastroprotective Activity Partly via Its Antioxidant-Antisecretory-Anti-Inflammatory Action and Synergistic Action of Several Flavonoid-Based Compounds. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Volume 2017, Article ID 6542631, 14 p. <https://doi.org/10.1155/2017/6542631>.
- 16-**Zheng Yi-Feng, Jian-Hui Xie, Yi-Fei Xu, Yong-Zhuo Liang, Zhi-Zhun Mo, Wei-Wen Jiang, et al.** Gastroprotective effect and mechanism of patchouli alcohol against ethanol, indomethacin and stress-induced ulcer in rats. *Chemico-Biological Interactions* 222 (2014) 27–36.
- 17-**Boudaoud-Ouahmed H., F. Yous, · N. Ouaret, V.B. Schini-Keirth, N. Djebbli, D. Atmani.** Évaluation de l'activité gastroprotectrice, hépatoprotectrice et hypotensive de l'extrait de l'écorce de *Ulmus campestris*. *Phytothérapie* (2016) 14:229-240. DOI 10.1007/s10298-015-0982-7
- 18-**Janat Akhanovna, Mamyrbekova-Bekro, Boua Benson Boua, Aboubacar Diaby, Yves-Alain Bekro.** Screening phytochimique bio guidé et évaluation *in vitro* des propriétés purgatives d'*Anchomanes difformis* (Blume) Engl., une plante utilisée en Côte d'Ivoire dans le traitement folklorique de la constipation ; Revue « Nature & Technologie » *B-Sciences Agronomiques et Biologiques* Septembre 2012.
- 19-**Karaki H., N. Satake, S. Shibata.** Mechanism of barium-induced contraction in the vascular smooth muscle of rabbit aorta. *Br. J. Pharmac.* (1986), 88, 821-826.
- 20-**Shemsu Umer, Alemu Tekewe and Nigatu Kebede.** Antidiarrhoeal and antimicrobial activity of *Calpurnia aurea* leaf extract. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2013, 13:21. <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/13/21>
- 21-**Oumarou A.** Contribution à l'étude de l'activité spasmolytique des extraits totaux des fruits murs et des écorces d'*Acacia nilotica* var *adansonii* (Mimosaceae) : Thèse de Médecine Université Cheick Anta Diop de Dakar ; 1996, 121p.
- 22-**Neto Luis Jardelino de Lacerda, Andreza Guedes Barbosa Ramos, Valterlucio Santos Sales, Severino Denicio Gonçalves de Souza, Antonia Thassya Lucas dos Santos, Larissa Rolim de Oliveira, et al.** Gastroprotective and ulcer healing effects of hydroethanolic extract of leaves of *Caryocar coriaceum*: Mechanisms involved in the gastroprotective activity; *Chemico-Biological Interactions*, Volume 261, 5 January 2017, Pages 56-62.
- 23-**Sadiq Muhammad Bilal, Pattamon Tharaphan, Kesinee Chotivanich, Joel Tarning and Anil Kumar Anal.** In vitro antioxidant and antimalarial activities of leaves, pods and bark extracts of *Acacia nilotica* (L.) Del. *BMC Complementary and Alternative Medicine* (2017) 17:372. DOI 10.1186/s12906-017-1878-x
- 24-**Abdel-Farid Ibrahim B., Mahalel Usama A., Jahangir Muhammad, Elgebaly Hassan A., El-Naggar Sabry A.** Metabolomic profiling and antioxidant activity of some *Acacia* species. *Aljouf Science and Engineering Journal* 2016 Vol.3 Issue 1, pp.19-24
- 25-**Prior Ronald L., Xianli Wu, and Karen Schaich.** Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolic in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53, 4290–4302.