

Effets relaxants vasculaires d'un extrait hydroalcoolique d'écorce de *Parkia biglobosa* (mimosaceae)

Auteurs : KANE Modou Oumy, SARR Mamadou, GUEYE Papa Madièye, NDIAYE Cheikh Ahmadou Bamba, DIAW Malick, BA Ablaye, Sar Fatou Bintou, SALL/DIALLO Aminata

Catégorie : Sciences du vivant

ScienceLib Editions Mersenne : Volume 2 , N ° 090901

Publié le: 2009-09-12

Kane Mo et coll.

**Effets relaxants vasculaires d'un extrait hydroalcoolique d'écorce de *Parkia biglobosa*
(mimosaceae)**

**Vascular relaxant effects of an hydroalcoholic extract of bark of *Parkia biglobosa*
(mimosaceae)**

KANE Modou Oumy¹, SARR Mamadou¹, GUEYE Papa Madièye³, NDIAYE Cheikh Ahmadou Bamba¹, DIAW Malick¹, BA Ablaye², Sar Fatou Bintou², SALL/DIALLO Aminata¹

(1) Laboratoire de Physiologie pharmaceutique, Faculté de Médecine, Pharmacie et Odontostomatologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005, Dakar, Sénégal

(2) Laboratoire de Physiologie médicale, Faculté de Médecine, Pharmacie et Odontostomatologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005, Dakar, Sénégal

(3) Laboratoire de Biochimie pharmaceutique, Faculté de Médecine, Pharmacie et Odontostomatologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005, Dakar, Sénégal

Cordonnées de l'auteur

Docteur Modou Oumy KANE

Laboratoire de Physiologie pharmaceutique, Faculté de Médecine, Pharmacie et Odontostomatologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005, Dakar, Sénégal

Tel : 00221 77 655 1234

Email : kanebamba@yahoo.fr

RESUME

Parkia biglobosa est une plante connue au Sénégal surtout pour son usage alimentaire. Les graines fermentées sont en effet largement consommées par les populations rurales et urbaines du Sénégal, mais d'autres parties de la plante sont également utilisées notamment en médecine traditionnelle. C'est ainsi que les écorces sont utilisées par certaines populations dans le traitement de l'hypertension artérielle. Dans cette étude, nous avons mis en évidence un effet vasorelaxant induit par l'extrait hydroalcoolique d'écorce de cette plante. Cet effet est endothélium dépendant et semble être médié par le monoxyde d'azote, via la voie PI3-kinase/ Akt.

Mots clés: *Parkia biglobosa*; écorce, vasorelaxation

SUMMARY

Parkia biglobosa is a well known plant in Senegal, particularly for its alimentary interest. Fermented seeds are used in food by country and urban populations, but other parts of the plant are also used, notably in traditional medicine. Indeed, bark is used by some populations in the treatment of high blood pressure. In this study, we show a vasorelaxant effect induced

Kane Mo et coll.

by an hydroalcoholic extract of bark of *Parkia biglobosa*. This effect is endothelium-dependant and seems mediated by nitric oxide via PI3-kinase/Akt pathway.

Key words: *Parkia biglobosa*, bark, vasorelaxation

I- INTRODUCTION

Les maladies cardiovasculaires sont l'une des principales causes de mortalité dans les pays développés et de plus en plus dans ceux en voie de développement, constituant ainsi un véritable problème de santé publique. L'hypertension artérielle serait responsable d'un peu moins de 8 millions de décès par an dans le monde et de près 100 millions de jours d'invalidité. Elle serait la cause de près de la moitié des accidents vasculaires cérébraux et des accidents cardiaques dans le monde (Global Burden of hypertension : analysis of worldwide data, 2005). Une telle prévalence nourrit bien évidemment l'intérêt des industries pharmaceutiques pour cette maladie et de nombreuses molécules existent aujourd'hui sur le marché. Cependant le coût des traitements efficaces est assez élevé, et donc souvent inaccessible notamment pour les populations des pays en voie de développement comme le Sénégal. Pourtant, il existe dans la pharmacopée africaine en générale, et sénégalaise en particulier, des plantes auxquelles on attribue des propriétés thérapeutiques contre l'hypertension artérielle, parmi lesquelles *Parkia biglobosa*. C'est ainsi que nous nous sommes fixé comme objectif de prouver scientifiquement les propriétés attribuées à cette plante, en étudiant sur un modèle animal in vitro les effets vasculaires de l'extrait d'écorce de *Parkia biglobosa*, mais également en essayant de mettre en évidence les mécanismes impliqués dans ces effets.

II- MATERIELS ET METHODES

II-1- Cadre de l'étude

Les travaux ont été menés au Laboratoire de physiologie pharmaceutique de la faculté de Médecine, Pharmacie et Odonto-Stomatologie, à l'université Cheikh Anta Diop de Dakar (Sénégal)

II-2- Animaux de laboratoire

Nous avons utilisé des rats provenant de l'animalerie commune des laboratoires de physiologie pharmaceutique et de pharmacologie. Les rats présentent les caractéristiques suivantes : souche *Wistar* ; sexe : masculin ; poids : 300-350 g ; âge moyen : 13-14 semaines. Les rats sont gardés dans des cages en matière plastique transparentes formées par un grillage en fer et mesurant 42 cm de long, 27 cm de large et 15 cm de hauteur. Les cages disposent d'une litière qui est renouvelée tous les deux jours. Les rats ont libre accès à l'eau et à l'alimentation composée de maïs et de farine de poisson mélangés. Ils sont soumis à un cycle régulier d'éveil et de sommeil.

II-3- Préparation de l'extrait d'écorce de *Parkia biglobosa*

Nous avons utilisé de l'écorce de *Parkia biglobosa* récolté au niveau du jardin botanique de la faculté de Médecine, Pharmacie et Odonto-Stomatologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar. La drogue brute a été triée pour éliminer les éléments étrangers. La matière végétale ainsi obtenue a été par la suite broyée.

Broyage

Kane Mo et coll.

L'échantillon est soumis au broyage d'abord au Moulinex ce qui nous permet d'obtenir un broyat qui sera soumis à son tour à un second broyage à l'aide d'un appareil nommé broyeur *a* mortier **RM 100**. Ceci permet d'obtenir de la poudre avec des particules plus fines de 0.01mm de diamètre. Cette poudre va subir l'extraction proprement dite

Extraction

Cette procédure consiste à l'extraction des composés actifs de la drogue végétale. Nous avons procédé par les étapes suivantes :

• Macération

100g de poudre sont introduits dans un ballon contenant 500ml de méthanol à 60%. La macération dure 3h et il faut agiter à chaque intervalle de 20 minutes pendant toute la procédure.

• Filtration

La filtration s'effectue sous vide à l'aide d'une fiole de Kitassato avec un entonnoir et un filtre de coton.

• Évaporation

L'évaporation a consisté à l'élimination du solvant utilisé auparavant pour la macération. Nous avons utilisé pour cela un appareil appelé le *Rota vapor R 210*. Celui-ci permet l'évaporation et la condensation de solvant au moyen d'un ballon d'évaporation par rotation sous vide. Cette opération s'effectue dans les conditions suivantes:

- Température du bain marie : +40°C
- Refroidissement +21°C
- Rotation : 4000 tr /min

Après l'évaporation du solvant, nous obtenons au fond du ballon, l'extrait sec qui sera redissout et dilué lors des expériences.

II-4- Matériel chimique

L'adrénaline et le pentobarbital nous ont été gracieusement offerts par la pharmacie du Centre National Hospitalier Universitaire de Fann. L'acétylcholine, La L-Nitro Arginine Méthyl Ester (L-NAME) et l'indométacine ont été obtenus de *Sigma Chemical*. La wortmannine a été obtenue de *Alexis Biochemicals*.

II- 5- Expérience de réactivité vasculaire

Le rat est sacrifié après avoir été anesthésié avec du pentobarbital administré par voie intra péritonéale à la dose de 60 mg /kg. L'aorte thoracique est prélevée, soigneusement nettoyée des tissus adipeux et coupée en petits anneaux de 3 à 4 mm de long. Pour certaines expériences l'endothélium a été supprimé par abrasion de la surface intimale du vaisseau à l'aide d'une pincette.

Les anneaux ainsi obtenus sont suspendus aux tiges métalliques reliées à des capteurs dans les cuves à organes isolés contenant 10 ml de solution de Krebs (pH :7,4 ; composition en M :119M NaCl ; 4,7M KCl ; 1,18M KH₂PO₄ ; 1,18M MgSO₄ ;1,25M CaCl₂ ; 25M

NaHCO₃; 11M glucose) maintenue à 37°C et oxygénée par du carbogène (95% O₂ et 5% CO₂) Après avoir équilibré les anneaux pendant une heure à une tension de 2 g, ils sont pré contractés avec une solution d'adrénaline (1µM) pour vérifier la réactivité des anneaux. Le lavage des cuves par la suite consiste à renouveler trois fois successivement le milieu d'incubation avec de la solution de Krebs. Après 30 mn de repos, les vaisseaux sont contractés à nouveau avec de l'adrénaline (1µM). Après obtention du plateau de contraction, de l'acétylcholine (1µM) est ajoutée dans les cuves pour vérifier la présence d'endothélium fonctionnel caractérisée par une relaxation d'au moins 80%. Les vaisseaux sont ensuite lavées trois fois de suite encore avec du Krebs, puis incubés ou non en présence des inhibiteurs pendant 30 minutes avant d'être recontractés par de l'adrénaline (1µM) pour réaliser une courbe concentration-relaxation à l'extrait d'écorce de *Parkia biglobosa*.

II- 6- Analyse statistique

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type. L'analyse statistique a été réalisée avec le test de Student. Les valeurs de $p < 0.05$ sont considérées comme significatives.

III- RESULTATS

Les résultats de notre étude sont présentés sous forme de figures confectionnées à partir du logiciel *Graph Pad Prism 5*®.

Nos résultats montrent que l'extrait hydro alcoolique d'écorce de *Parkia biglobosa* entraîne une relaxation à plus de 80 % sur les anneaux d'aorte de rat, possédant un endothélium fonctionnel et pré contractés à l'adrénaline.

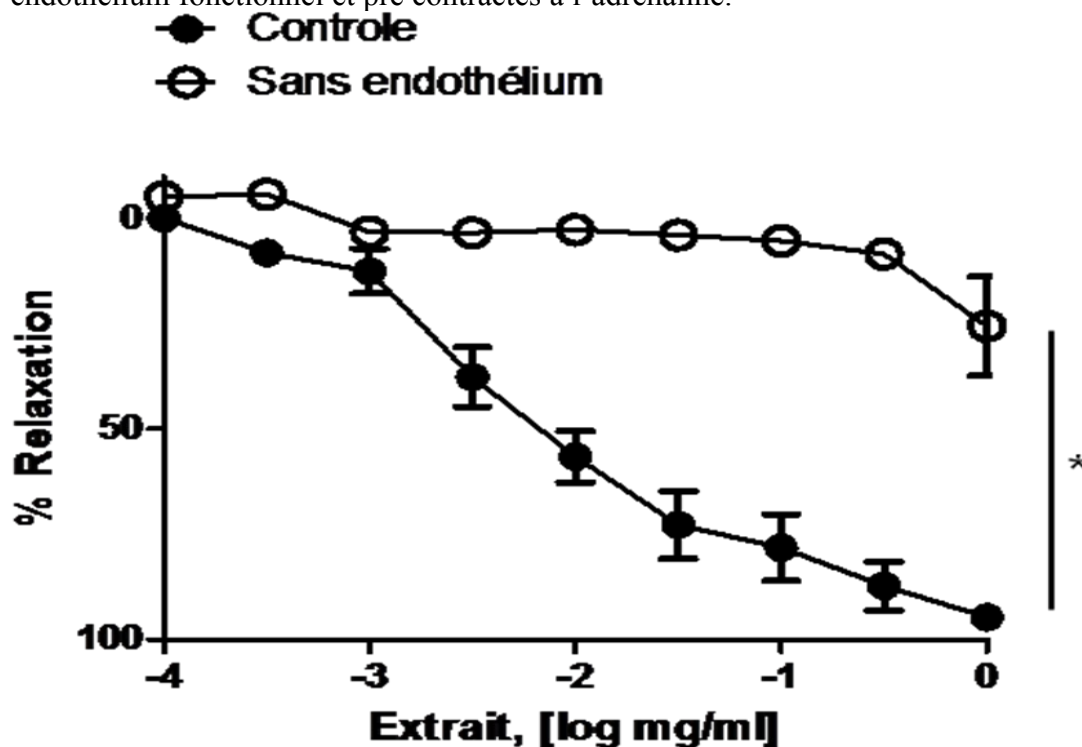


Figure 1 : Rôle de l'endothélium dans la relaxation vasculaire à l'extrait d'écorce de *Parkia biglobosa*

La présence de L-NAME, un inhibiteur de la NO synthase inhibe de manière significative la vasorelaxation endothélium-dépendante à l'extrait d'écorce de *Parkia biglobosa*.

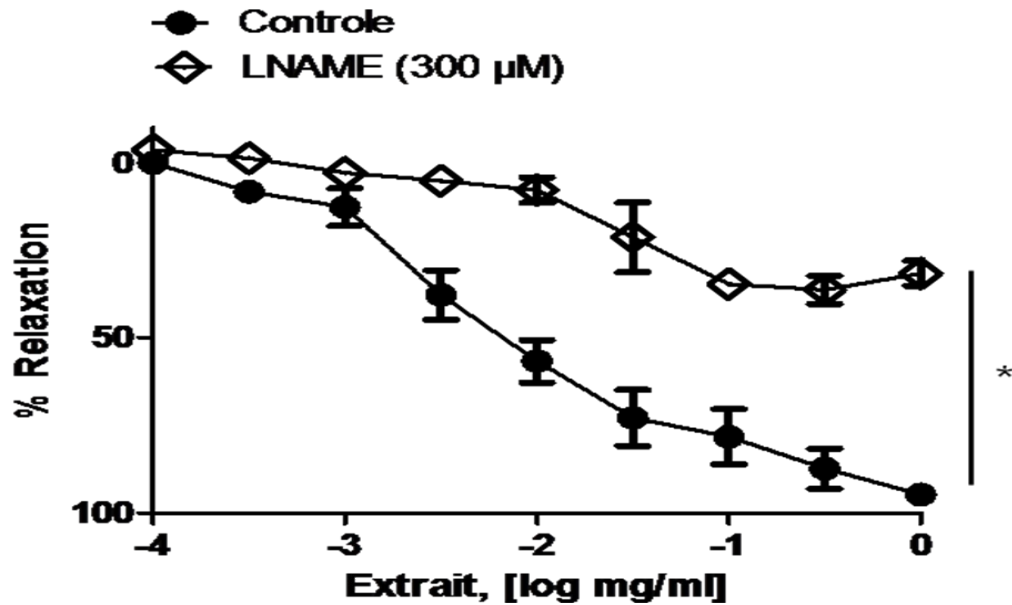


Figure 2 : Effet de l'inhibition de la NO synthase endothéliale par la L-NAME dans la relaxation vasculaire à l'extrait d'écorce de *Parkia biglobosa*.

La présence d'indométacine, un inhibiteur de la synthèse des prostacyclines, n'affecte pas de manière significative la vasorelaxation endothélium-dépendante induite par l'extrait d'écorce de *Parkia biglobosa*.

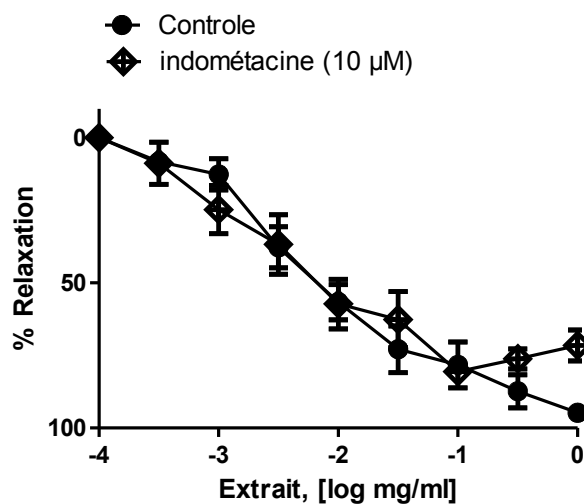


Figure 3 : Effet de l'inhibition de la synthèse des prostacyclines endothéliales par l'indométacine, dans la relaxation vasculaire à l'extrait d'écorce de *Parkia biglobosa*.

La présence de wortmannine, un inhibiteur de la PI₃-kinase/Akt inhibe significativement la vasorelaxation endothélium-dépendante induite par l'extrait d'écorce de *Parkia biglobosa*.

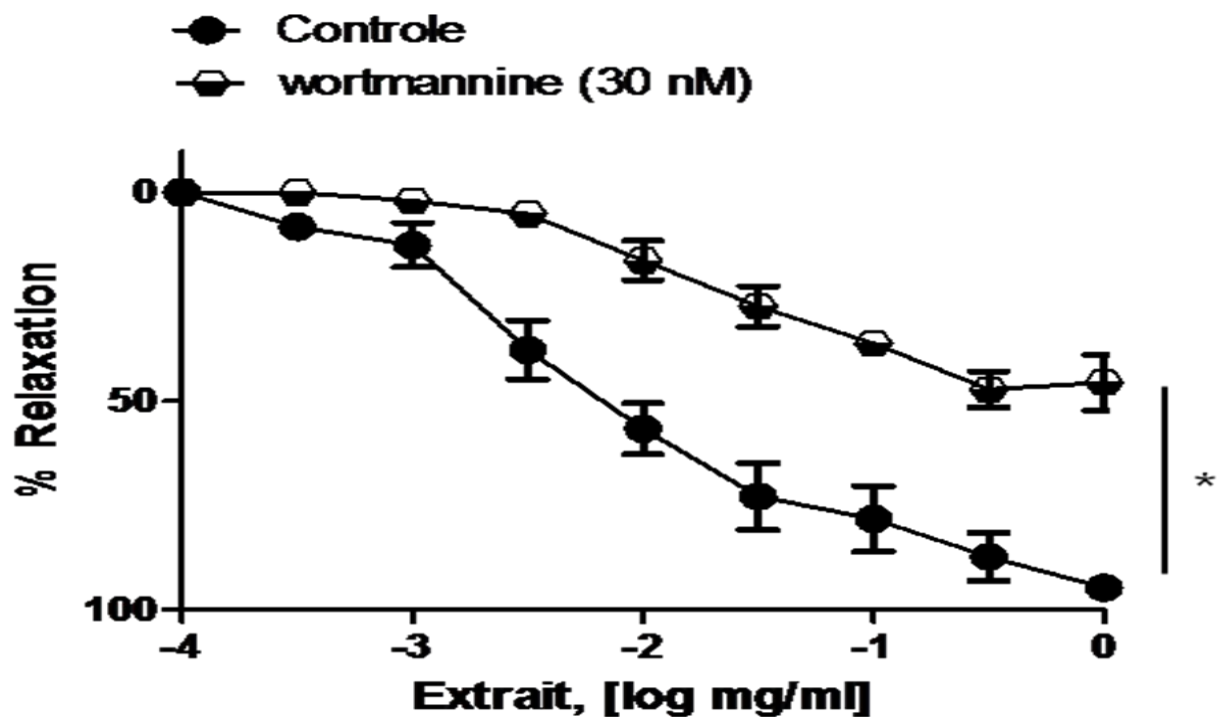


Figure 4 : Effet de l'inhibition de la voie PI₃-kinase/Akt par la wortmannine dans la relaxation vasculaire induite par l'extrait d'écorce de *Parkia biglobosa*

IV-DISCUSSION

Les pathologies cardiovasculaires et principalement l'hypertension artérielle (HTA) figurent en bonne place parmi les maladies les plus répandues aussi bien dans les pays développés que dans les nôtres. Des études ethnobotaniques ont pourtant montré que de nombreuses plantes étaient utilisées traditionnellement dans le traitement de l'HTA. Parmi ces plantes, il a été identifié *Parkia biglobosa*. C'est ainsi que nous avons voulu, grâce à des moyens

Kane Mo et coll.

scientifiques, prouver les propriétés supposées bénéfiques de cette plante dans le traitement de l'HTA.

Dans cette étude, nous avons essayé de démontrer les propriétés vasorelaxantes in vitro d'un extrait hydro-alcoolique d'écorce de *Parkia biglobosa*.

Nos résultats montrent que l'extrait, à des concentrations allant de 10^{-4} à 1 mg/ml entraînait une vasorelaxation dose-dépendante sur l'aorte isolée de rat, pré contractée à l'adrénaline. Le pourcentage de relaxation induit par l'extrait est de l'ordre de 90 à 95%.

Ces résultats corroborent des études antérieures menées sur *Parkia biglobosa* et qui ont mis en relief la composante vasculaire des propriétés anti hypertensives de l'extrait aqueux de l'écorce de la plante (Kassi et al., 2005). Cette relaxation vasculaire n'est obtenue qu'en présence d'un endothélium fonctionnel. En effet, nos résultats montrent qu'en l'absence d'endothélium, les relaxations induites par l'extrait de *Parkia* étaient presque totalement inhibées. Ces résultats confirment le rôle joué par l'endothélium dans les effets vasculaires des polyphénols végétaux comme l'ont montré de nombreux travaux scientifiques (Andriambeloso et al., 1998; Fitzpatrick et al., 1993). En effet l'endothélium vasculaire sécrète de nombreuses substances vaso-actives qui jouent un rôle important dans la régulation de la pression artérielle in vivo. Parmi ces substances, on peut citer leur chef de file, le monoxyde d'azote (NO), mais aussi les prostacyclines et les facteurs hyperpolarisants d'origine endothéliale (EDHF ; Ndiaye et al., 2004 ; Andriambeloso et al., 1998) .

Le caractère endothélium-dépendant des relaxations induites par l'extrait nous a incités à essayer de mettre en évidence les mécanismes qui étaient à la base de ces effets. Pour cela, nous avons procédé à l'incubation des anneaux d'aorte avec divers inhibiteurs des facteurs endothéliaux. L'utilisation de la L-Nitro Arginine Méthyl Ester (L-NAME), inhibiteur compétitif de la NO-synthase endothéliale réduit significativement la relaxation induite par l'extrait montrant un rôle important joué par le NO dans cette vasorelaxation. Ces résultats confirment d'autres travaux qui ont montré le rôle du NO dans les effets vasculaires de certains composés végétaux comme les polyphénols (Ndiaye et al., 2004 ; Wallerath et al., 2002 ; Stoclet et al., 1990 ; Archer et al., 1994). Cependant nous avons noté que cette inhibition n'est pas totale, suggérant éventuellement un rôle joué par d'autres facteurs endothéliaux notamment les prostacyclines et les EDHF.

L'implication des prostacyclines a été testée en utilisant l'indométacine, un inhibiteur des cyclooxygénases. L'incubation des anneaux d'aorte avec cet inhibiteur n'a pas affecté la relaxation induite par l'extrait, excluant de fait un probable rôle des prostacyclines dans les effets relaxants de l'extrait. Ce résultat assez surprenant nous laisse sans réponse quant à la composante responsable de la relaxation résiduelle lorsque la composante NO est inhibée en présence de L-NAME. Dès lors, il reste une seule composante à étudier à savoir l'EDHF.

Dans notre étude, la composante EDHF n'a pas été étudiée pour 2 raisons principales. La première est liée au coût élevé des inhibiteurs à utiliser. La seconde tient à des arguments scientifiques. En effet, de nombreux travaux menés sur l'aorte de rat ont démontré le caractère négligeable voire l'absence de cette composante (de Moura al., 2004). Dès lors, il devient logique de croire qu'il existe une autre, voire d'autres composantes dérivés de l'endothélium qui peuvent médier une relaxation en dehors des facteurs classiquement connus à savoir le NO, l'EDHF et les prostacyclines. Cette hypothèse qui semble "audacieuse" peut être

Kane Mo et coll.

confortée par les résultats de certains auteurs qui ont récemment mis en évidence l'existence d'autres facteurs endothéliaux vasorelaxants (Anselm et al., 2009) Dans tous les cas, ces résultats présentent une originalité en attendant d'identifier la ou les composantes responsables de la relaxation résiduelle observée.

L'inhibition de la voie PI3 kinase/Akt par la wortmannine entraîne une inhibition significative de la vasorelaxation induite par l'extrait. Dans la littérature il est rapporté que la voie PI₃ kinase/Akt est la principale voie d'activation de la NO synthase endothéliale (Ndiaye et al., 2005 ; Kane et al., 2009, Haynes et al., 2003 ; Jin et al., 2003 ; Haynes et al., 2000). Ces résultats nous laissent penser que l'extrait d'écorce de *Parkia biglobosa* contient des composés polyphénoliques qui sont à l'origine des propriétés vasorelaxantes endothélium-dépendantes de l'extrait. Des études ultérieures permettront de confirmer cette hypothèse et d'identifier éventuellement les polyphénols impliqués.

V- CONCLUSION

L'hypertension artérielle pose un véritable problème de santé publique aussi bien au Sénégal, en Afrique que partout à travers le monde. Sa prise en charge reste assez délicate et l'efficacité des traitements existants, bien qu'avérée, tient à un équilibre assez fragile. La mise en place de nouvelles stratégies de traitement en appui à celles déjà existantes ne peut être que bénéfique pour la santé des populations. Ainsi, la phytothérapie pourrait être une bonne alternative d'autant plus que les pharmacopées traditionnelles, notamment africaines sont particulièrement bien outillées en la matière. Cependant, il est vital de pouvoir valider scientifiquement les connaissances empiriques de nos tradipraticiens afin de mieux garantir la santé des populations. C'est dans cette logique que s'est inscrit notre travail qui a permis de montrer les propriétés relaxantes vasculaires de *Parkia biglobosa*, mais aussi de mettre en évidence certains mécanismes qui sont à la base de ces effets. Ces résultats suscitent un espoir réel dans la recherche de traitement efficace et à moindre coût contre l'Hypertension artérielle.

Kane Mo et coll.

Références

Andriambeloston E., Magnier C., Haan-Archipoff G., Lobstein A., Anton R., Beretz A., Stoclet J.C., Andriantsitohaina, R. Natural dietary polyphenolic compounds cause endothelium-dependent vasorelaxation in rat thoracic aorta. *J Nutr.* 1998; 128, 2324-2333.

Anselm E., Socorro V.F., Dal-Ros S., Schott C., Bronner C., Schini-Kerth V.B. [Crataegus special extract WS 1442 causes endothelium-dependent relaxation via a redox-sensitive Src- and Akt-dependent activation of endothelial NO synthase but not via activation of estrogen receptors](#) *J Cardiovasc Pharmacol.* 2009; 53(3):253-60.

Archer S.L., Huang, J.M., Hampl V., Nelson D.P., Shultz P.J., Weir E.K. Nitric oxide and cGMP cause vasorelaxation by activation of a charybdotoxin-sensitive K channel by cGMP-dependent protein kinase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994; 91, 7583-7587.

de Moura R.S., Miranda D.Z., Pinto A.C., Sicca R.F., Souza M.A., Rubenich L.M., Carvalho L.C., Rangel B.M., Tano T., Madeira S.V., Resende A.C. [Mechanism of the endothelium-dependent vasodilation and the antihypertensive effect of Brazilian red wine](#). *J Cardiovasc Pharmacol.* 2004 ; 44(3):302-9.

Fitzpatrick, D.F., Hirschfield S.L., Coffey R.G. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. *Am J Physiol.* 1993; 265, H774-778.

Haynes M.P., Li L., Sinha D., Russell K.S., Hisamoto K., Baron R., Collinge M., Sessa W.C., Bender J.R. Src kinase mediates phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent rapid endothelial nitric-oxide synthase activation by estrogen. *J Biol Chem.* 2003; 278, 2118-2123.

Haynes M.P., Sinha D., Russell K.S., Collinge M., Fulton D., Morales-Ruiz M., Sessa W.C., Bender J.R. Membrane estrogen receptor engagement activates endothelial nitric oxide synthase via the PI3-kinase-Akt pathway in human endothelial cells. *Circ Res.* 2000; 87, 677-682.

Jin Z.G., Ueba H., Tanimoto T., Lungu A.O., Frame M.D., Berk B.C. Ligand-independent activation of vascular endothelial growth factor receptor 2 by fluid shear stress regulates activation of endothelial nitric oxide synthase. *Circ Res.* 2003; 93, 354-363.

Kane M.O., Anselm E., Rattmann Y.D., Auger C., Schini-Kerth V.B. Role of gender and estrogen receptors in the rat aorta endothelium-dependent relaxation to red wine polyphenols. *Vascul Pharmacol.* 2009; 51 (2-3): 140-6

Kassi Y., Aka K.J., Abo K.J.C., Méa A., Néné Bi S.A., Ehilé E.E. Effet antihypertensif d'un extrait aqueux d'écorce de tronc de *parkia biglobosa* (mimosaceae) sur la pression artérielle de lapin. *Sci Nat.* 2008 ; 5 (2), 133 – 143

Ndiaye M., Chataigneau M., Lobysheva I., Chataigneau T., Schini-Kerth V.B. Red wine polyphenol-induced, endothelium-dependent NO-mediated relaxation is due to the redox-

Kane Mo et coll.

sensitive PI3-kinase/Akt-dependent phosphorylation of endothelial NO-synthase in the isolated porcine coronary artery. *Faseb J.* 2005; 19, 455-457.

Ndiaye M., Chataigneau T., Chataigneau M., Schini-Kerth V.B. Red wine polyphenols induce EDHF-mediated relaxations in porcine coronary arteries through the redox-sensitive activation of the PI3-kinase/Akt pathway. *Br J Pharmacol.* 2004; 142, 1131-1136.

Stoclet J.C., Kleschyov A., Andriambelason E., Diebolt M., Andriantsitohaina R. Endothelial no release caused by red wine polyphenols. *J Physiol Pharmacol.* 1999; 50, 535-540.

Wallerath T., Deckert G., Ternes T., Anderson H., Li H., Witte K., Forstermann U. Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin present in red wine, enhances expression and activity of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation.* 2002; 106, 1652-1658.