

## **EFFETS DE L'EXTRAIT AU CYCLOHEXANE DE *BIDENS PILOSA* L. (ASTERACEAE) SUR LA MOTRICITE INTESTINALE DE RAT**

Dimo<sup>1</sup> Théophile, A. Rakotonirina<sup>2</sup>, Kamgang R.<sup>1</sup>, Tankwa<sup>1</sup>, T. Roger et  
K. Wanda<sup>1</sup> Germain Jean Magloire

<sup>1</sup>Laboratoire de Physiologie animale, Université de Yaoundé I - B.P. 812 Yaoundé, Cameroun.

<sup>2</sup>Département des Sciences Biologiques – Ecole Normale Supérieure de Yaoundé, Cameroun.

**RÉSUMÉ:** Nous avons examiné *in vitro*, l'effets de l'extrait au cyclohexane des feuilles de *Bidens pilosa* sur l'activité contractile de fragments d'iléon de rat. Sur les contractions spontanées du muscle lisse iléal ces extraits de *Bidens pilosa* ont des effets stimulateurs dose-dépendante sur le tonus et l'amplitude. La stimulation maximale est observée à partir de 160 µg/mL d'extrait, avec un taux de variation de contraction de 1027 %. L'atropine réduit de 77 % les effets spasmogènes de *Bidens pilosa* et de 94 % celui de l'acétylcholine. En milieu dépourvu de Ca<sup>2+</sup>, l'accroissement de la contraction iléale induit par 160 µg/mL d'extrait n'est que de 400 %. Par ailleurs, la nifédipine inhibe totalement l'action spasmogène de cet extrait. Ces résultats font penser que l'extrait au cyclohexane des feuilles de *Bidens pilosa* stimulerait les contractions du muscle lisse iléal ; ceci par l'intermédiaire des récepteurs muscariniques dont l'activation augmenterait la mobilisation du Ca<sup>2+</sup> d'origine aussi bien extracellulaire qu'intracellulaire.

**Mots clés :** *Bidens pilosa* ; iléon ; motricité ; rat.

**ABSTRACT:** Effects of cyclohexane extract of *Bidens pilosa* L. on rat intestinal motility. – *In vitro*, we have studied the effects of the cyclohexane extract of *Bidens pilosa* leaves (B.p.) on the rat ileum smooth muscle motility. B.p. has showed dose-dependent stimulators effects on both tonicity and amplitude of the spontaneous contractions. With 160 µg/mL of extract maximal stimulation was obtained. With that dose, the rate of variation was 1027 %. Atropine reduced by 77 % the spasmogenic effects of B.p. and by 94 % the acetylcholine effects. In Ca<sup>2+</sup> free solution, stimulation contraction by 160 µg/mL of the extract was reduced to 400 %, while Nifedipine completely inhibited the spasmogenic effects of the extract. These results suggest that the cyclohexane extract of B.p. could stimulate ileal smooth muscle contractions through muscarinic receptors which increase Ca<sup>2+</sup> mobilization from both extra- and intracellular milieu.

**Key words :** *Bidens pilosa* ; ileum ; motility ; rat.

### **INTRODUCTION**

De multiples affections s'accompagnent de troubles de la motricité digestive. Ces troubles fonctionnels digestifs représentent le motif de consultation le plus fréquent de la pathologie digestive (Cloarec *et al.*, 1989). *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) est très utilisée par les praticiens des zones tropicales pour faciliter les accouchements, soigner les affections grippales, les otites, les ophtalmies, les diarrhées et la dysenterie (Bouquet, 1969, Keharo et Gadam, 1973, Adjanohoun *et al.*, 1988). Cette plante possède également des propriétés antihypertensives (Dimo *et al.*, 1999). Des analyses phytochimiques des extraits

des feuilles de *Bidens pilosa* ont révélé la présence des glycosides et des chalcones (Hoffmann et Holzi, 1989), des terpènes et des huiles essentielles (Amvam Zollo *et al.*, 1995), des composés acétyléniques et des flavonoïdes (Brandao *et al.*, 1997). Ces auteurs ont montré que ces composés présentent des activités antimicrobiennes et anti-inflammatoires.

Suite aux propriétés vasorelaxantes de *Bidens pilosa* observées par Dimo *et al.* (1998), nous examinons dans ce travail, les effets de l'extrait au cyclohexane des feuilles de cette plante sur l'activité contractile de fragments isolés d'iléons de rat.

**Matériel et méthode.**

**L'extrait de *Bidens pilosa***

Les feuilles fraîches de *Bidens pilosa* récoltées aux environs du campus de l'université de Yaoundé I sont séchées au soleil puis broyées en une poudre fine. 2 kg de cette poudre sont mis à macérer dans 6 L de méthanol, à la température ambiante, pendant 7 jours. Filtré, le macérât est évaporé sous vide et sous pression réduite. 18 g de l'extrait ainsi obtenu sont épuisés dans 3 L de cyclohexane. La phase cyclohexanique surnageante est filtrée et concentrée sous pression réduite et sous vide, donnant ainsi 7 g d'extrait au cyclohexane de *B. pilosa*.

1 g de l'extrait au cyclohexane des feuilles de *B. pilosa* est dissout dans 1 mL de diméthyle sulphoxide (DMSO) et repris dans 49 mL d'eau distillée, donnant ainsi une solution à 20 mg/mL. Cet extrait est dilué au 10<sup>ème</sup> avec le liquide physiologique au moment de l'utilisation.

**Evaluation de l'activité contractile du muscle lisse**

Les rats (150 – 200 g) sont tués par dislocation cervicale. La cavité abdominale est ouverte et des fragments d'iléon de 1 à 2 cm chacun sont prélevés et débarrassés du tissu conjonctif. Les fragments d'iléon sont conservés pendant les essais à 37°C dans le liquide physiologique de Tyrode oxygéné, de composition (mM): CaCl<sub>2</sub> (1.80), KCl (3.60), NaCl (136.75), NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0.42), MgCl<sub>2</sub> (1.06), NaHCO<sub>3</sub> (11.9), glucose (5.5). Chaque fragment d'iléon est monté dans une cuve à organe isolé et relié à un transducteur isotonique (type Ugo Basile type 7006). Les contractions sont enregistrées sur dynographe (Ugo Basile type GEMINI 7070 multivitesse à 2 pistes). Un volume de l'extrait au cyclohexane de *B. pilosa* (2 mg/mL) est ajouté au milieu d'incubation et les effets sont observés. Après 2 à 3 lavages au Tyrode et stabilisation pendant 30 min, une dose supérieure d'extrait est ajoutée dans la chambre à organes. Différentes doses d'extrait sont évaluées sur l'activité contractile du muscle lisse iléal; comparée à celle de l'acétylcholine. Les effets de *B. pilosa* sont aussi examinés en milieu physiologique dépourvu de calcium. Sur des fragments d'iléon traités au préalable avec de l'atropine nous avons comparé les effets de *B. pilosa* et de l'acétylcholine.

**Traitement statistique des résultats**

Les moyennes arithmétiques (m) des valeurs individuelles affectées de l'erreur standard sur la moyenne ( $\pm$  ESM) sont analysées par le test non paramétrique U de Mann et Whitney.

**RÉSULTATS**

L'extrait au cyclohexane de *B. pilosa* modifie aussi bien la tonus de base que l'amplitude des contractions du muscle lisse iléal (fig. 1). L'extrait de *B. pilosa* aux concentrations de 10 à 320 mg/mL provoque des augmentations dose-dépendante de la contraction spontanée du muscle lisse iléal de rat : de 112 à 1097 % (tableau 1). L'acétylcholine aux doses de 0.5 – 8 mg/mL induit également des augmentations de la contraction de l'iléon : 139 à 1046 %. Le traitement préalable du fragment d'iléon avec l'atropine (0.2 mg/mL) inhibe de 77 % l'action contracturante de l'extrait de *B. pilosa* (160 mg/mL). L'atropine, à dose croissante, diminue jusqu'à 94 % l'activité contractile induite par l'acétylcholine (8 mg/mL).

**Tableau 1 : Effets de l'extrait au cyclohexane de *Bidens pilosa* sur le tonus de contraction spontanée du muscle**

Traitement	Dose ( $\mu$ g/mL)	% variation de la contraction
Contrôle	-	-
Extrait	10	112*
	20	504*
	40	604*
	80	892*
	160	1027*
	320	1097*

Différence significative : \*p < 5 % ; n = 5

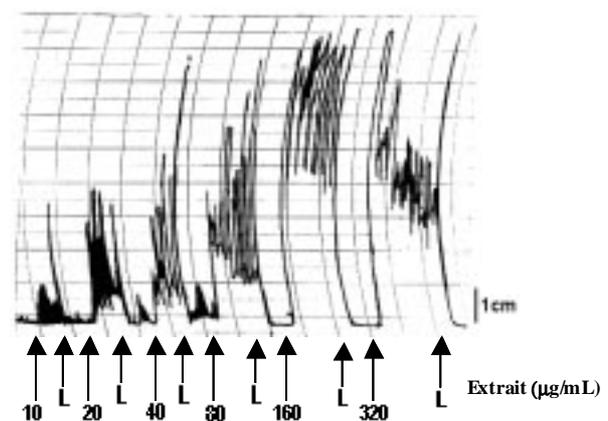


Figure 1 : Effets de l'extrait au cyclohexane de *Bidens pilosa* sur la contraction spontanée du muscle lisse intestinal de rat normal. (L = lavage).

En milieu physiologique dépourvu de calcium, l'augmentation du tonus de contraction (1046 %) induite par l'extrait de *B. pilosa* (160 mg/mL) est réduite d'environ 650 % (fig. 2).

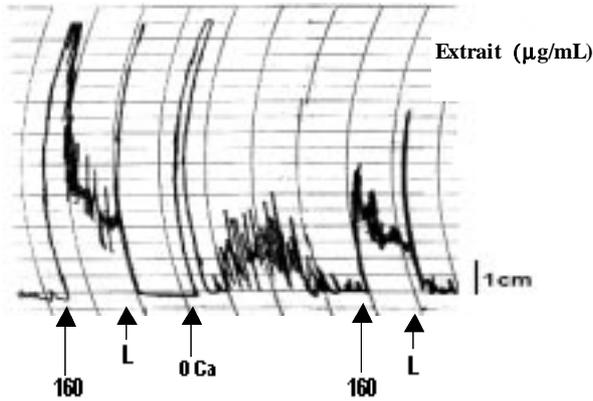


Figure 2 : Influence du milieu sans  $Ca^{++}$  (0 Ca) sur l'effet de l'extrait au cyclohexane de *Bidens pilosa* (B.p.) sur la contraction spontanée du muscle lisse intestinale du rat. (L = lavage)

En milieu physiologique normale, le traitement préalable de l'iléon avec la nifédipine (50 mg/mL) inhibe totalement l'activité spasmogène de l'extrait (fig. 3).

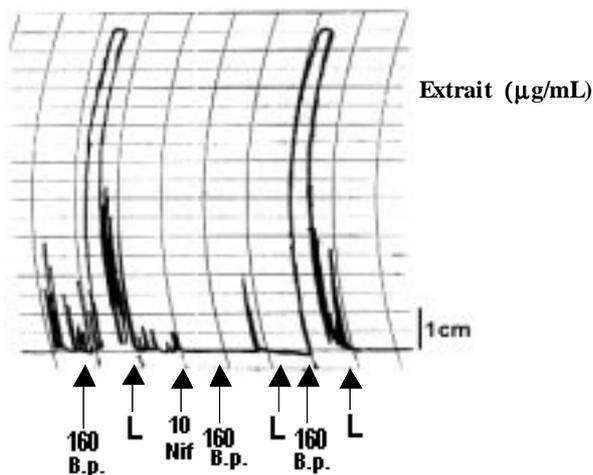


Figure 3 : Effet de la nifédipine (Nif) sur l'action de l'extrait au cyclohexane de *Bidens pilosa* (B.p.) sur la contraction spontanée du muscle lisse intestinale du rat. (L = lavage)

## DISCUSSION

L'extrait de *Bidens pilosa* en milieu physiologique normal provoque au niveau du fragment d'iléon de rat, une augmentation de l'amplitude et du tonus de base des contractions. La contraction est augmentée à environ 1100

% de la valeur initiale. Cet effet stimulateur de l'extrait sur l'activité motrice de l'iléon pourrait évoquer quelques propriétés spasmogènes de *B. pilosa* ; ce qui expliquerait son utilisation dans le traitement de certains troubles digestifs, en l'occurrence la constipation (Castaigne et Lejonc, 1981). Les effets spasmogènes de l'extrait de *B. pilosa* et de l'acétylcholine sont inhibés respectivement de 77 % et 94 % par l'atropine. Ces résultats suggèrent une action de l'extrait de la plante par l'intermédiaire des récepteurs muscariniques. L'activation de ces récepteurs par l'ACh provoque une entrée d'ions  $Ca^{2+}$  due à une dépolarisation membranaire et est à l'origine de la contraction (Cloarec *et al.*, 1989). Les résultats montrent qu'en présence d'un milieu sans calcium, *B. pilosa* induit un accroissement de la contraction iléale de 400 % contre 1046 % observée en milieu physiologique normal. L'augmentation de la contraction observée en milieu dépourvu de  $Ca^{2+}$  nous amène à penser que les ions calcium extracellulaire ne sont pas les seules sources activatrices. La mobilisation des ions  $Ca^{2+}$  des sites intracellulaires ne serait pas à exclure. L'extrait de *B. pilosa* agirait en augmentant l'échange  $Na^+/Ca^{2+}$ , mobilisant le  $Ca^{2+}$  intracellulaire. En effet, la nifédipine, substance connue pour son action bloquante des canaux calciques, inhibe totalement l'activité spasmogène de l'extrait. De ce fait, le mécanisme d'action de *B. pilosa* se situerait au niveau des canaux calciques. Ce résultat confirme en outre que dans le muscle lisse viscéral, la source première d'ions  $Ca^{2+}$  est le milieu extracellulaire.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adjanohoun E.J., Ake Assi L., Ali Ahmed, Eyme J., Guindo S., Kayonga A., Keita A. and Lebras M. (1988) Médecine traditionnelle et Pharmacopée. Contribution aux études botaniques et floristiques au Comores. *Rapport Agence de Coopération Culturelle et Technique*, Paris, p 243.
- Amvam Zollo, Kuate J.R., Menut C., Lamaty G., Bessiere J.M., Chalchat J.C. and Garry R.P. (1995) Aromatic plants of tropical central Africa. XX : The occurrence of 1-phenyl-1,3,5-triène in the essential oil of *Bidens pilosa* L. from Cameroun. *Flavour and fragrance Journal* ; **10**, (2), 97 – 100.
- Bouquet A. (1969) Féticheurs et médecine traditionnelle du Congo (Brazzaville). *Mémoire ORSTOM*, **36**, 128p.
- Brandao MG, Krettli A, Soares LS, Nery CG, Marinuzzi HC (1997) Antiamoial activity of extracts and fractions from *Bidens pilosa* and other *Bidens* species (Asteraceae) correlated with the presence of acetylene and flavonoid compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, **57** (2), 131 – 138.

- Castaigne A and Lejonc JL (1981) *Sémiologie médicale – Initiation à la physiopathologie*. Laboratoire Sandoz, pp 205 – 220.
- Cloarec D, Bruley Des Varannes S et Galmiche JP (1989) Modification de la motricité digestive. *In Pharmacologie : Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques*. Ed. Frison – Roche, Paris, pp 581 – 589.
- Dimo T, Rakotonirina VS, Kamgang R, Tan PV, Kamanyi A and Bopelet M (1998) Effects of leaf aqueous extract of *Bidens pilosa* (Asteraceae) on KCl- and norepinephrine-induced contractions of rat aorta. *Journal of Ethnopharmacology*, **60**, 179 – 182.
- Dimo T, Nguenefack TB, Kamtchouing P, Dongo E, Rakotonirina A et Rakotonirina SV (1999) Effets hypotensifs de l'extrait au méthanol de *Bidens pilosa* Linn chez les rats hypertendus. *C.R. Académie des sciences, Paris, Sciences de la vie*, **322**, 323 – 329.
- Hoffmann B and Holzi J (1989) Chalcones glycosides from *Bidens pilosa*. *Phytochemistry*, **28** (1), 247 – 249.
- Kerharo J et Gadam J (1997) *La pharmacopée sénégalaise traditionnelle – Plantes médicinales et toxiques*. Ed. Vigot Frère, Paris, pp 220 – 223.