

Propriétés bioactives de l'extrait aqueux des feuilles de *Psidium guajava* (Myrtaceae)

Bioactive properties of aqueous extract of *Psidium guajava* leave (Myrtaceae)

N'guessan-Irié A.G.^{1*}, Kablan B.J.¹, Siransy-Kouakou N.G.¹, Konan A.², Datté Y.J.²

¹ Laboratoire de Pharmacologie, de Pharmacie Clinique, de Thérapeutique et de Physiologie, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques BP V 34 Abidjan

² Laboratoire de Nutrition et Pharmacologie, UFR Biosciences, Université de Cocody Abidjan

* Correspondance

Tel: +225-07988157

Adresse E-mail: jemigrace@gmail.com

Adresse Postale: Laboratoire de pharmacologie et physiologie, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Cocody-Abidjan BP V 34, République de Côte d'Ivoire.

Résumé

En Afrique, plus de 80% des populations ont recours à la médecine traditionnelle pour des raisons psychologiques et économiques. La pharmacopée africaine est devenue alors incontournable dans la politique sanitaire de nos pays en développement. L'objectif de ce travail était de contribuer à la valorisation de la médecine traditionnelle africaine en vérifiant l'activité antidiarrhéique des feuilles de goyavier (*Psidium guajava*), en recherchant leur mécanisme d'action antidiarrhéique et en évaluant le retentissement de ce traitement antidiarrhéique sur le système cardiovasculaire. A cet effet nous avons préparé l'extrait aqueux des feuilles de *P. guajava* que nous avons testé sur l'activité contractile du *Tænia coli* de cobayes (*Cavia porcellus*), sur l'activité mécanique du cœur isolé de rats (*Rattus novegicus* souche Wistar) et sur la pression artérielle couplée à la respiration chez le lapin (*Orytolagus cuniculus*).

Nos résultats ont démontré que l'extrait aqueux des feuilles de *P. guajava* exerçait un effet relaxant sur le muscle lisse intestinal. Au niveau du cœur, l'extrait induisait, aux faibles et moyennes doses, un effet inotrope positif doublé d'un effet chronotrope positif, et aux fortes doses un effet chronotrope négatif. Les faibles concentrations de l'extrait entraînaient une légère hypotension réversible sans influence notable sur la respiration tandis que les fortes concentrations provoquaient une hypotension nette et irréversible avec une polypnée suivie d'un arrêt respiratoire.

Mots-clés : *Psidium guajava*, Extrait aqueux, *Tænia coli*, Cœur isolé, Pression artérielle.

Abstract

In Africa, more than 80% of populations resort to the traditional medicine for psychological and economic reasons. The african pharmacopoeia becomes so undeniable in the sanitary politics of our countries in development. The aim of this study was to contribute to the valorization of the african traditional medicine in verifying antidiarrhoeic activity of guava leaves (*Psidium guajava*), searching for their mechanism of action and valuing the reverberation of this antidiarrhoeic treatment on the cardiovascular system. So we prepared the aqueous extract of *P. guajava* leaves that we tested on the contractile activity of the guinea pig (*Cavia porcellus*) *Tænia coli*, on the mechanical activity of the isolated rat (*Rattus novogicus* Wistar stump) heart and on the arterial pressure coupled to the breathing at the rabbit (*Orytolagus cumiculus*).

Our results showed that the aqueous extract of *P. guajava* leaves exerted a spasmolytic effect on the intestinal smooth muscle. At the level of the isolated heart, the extract brought about, for the weak doses, a positive inotrope effect and a positive chronotrope effect, but for the high doses, it brought about a negative chronotrope effect. The weak concentrations of the extract involved a light reversible short blood pressure without considerable influence on the breathing, whereas the high concentrations involved a clear and irreversible short blood pressure and a rapid breathing followed by a stopped breathing.

Key words: *Psidium guajava*, Aqueous extract, *Tænia coli*, isolated heart, Arterial pressure.

INTRODUCTION

La pharmacopée africaine, qui a pour objet le recueil des recettes ou formules pour préparer les médicaments dont seuls les tradithérapeutes ont le secret, mérite d'être mise en valeur sur le plan scientifique vu la frange de plus en plus considérable de la population qui y a recours. Les travaux de Aka (1980), Koné (1980) et Offoumou (1980) ont participé de cette valorisation par la mise en évidence de données scientifiques concernant les activités de substances actives de la pharmacopée africaine. De même Adjanohoun et Aké-Assi (1979) ont recensé plus de 5000 plantes médicinales déjà utilisées traditionnellement et qui pourraient permettre la fabrication de médicaments traditionnels améliorés. *P. guajava*, appelé goyavier, figure au nombre de ces plantes médicinales.

Originaire d'Amérique tropicale, le goyavier est un arbuste de trois à six mètres de haut retrouvé dans toute l'Afrique occidentale (Kerharo et Adam, 1974). Les feuilles de cette plante sont ovales, arrondies aux deux extrémités, subsessiles, à nervures déprimées à la face supérieure, pubescentes dessous et luisantes dessus. Les feuilles de *P. guajava* sont d'une utilisation courante en décoction aqueuse comme antidiarrhéique (Kerharo et Adam, 1974), (Tchuela, 1984) et (Fortin et al, 1990). Cependant quel serait le mécanisme d'action antidiarrhéique de ces feuilles et quel serait le retentissement de ce traitement sur les grandes fonctions de l'organisme, en l'occurrence le système cardiovasculaire ? Notre étude a contribué à répondre à ces questions à travers des tests pharmacologiques avec l'extrait aqueux des feuilles de *P. guajava* sur les activités contractiles intestinales et cardiaques et sur la pression artérielle.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

Il s'agit de l'extrait aqueux des feuilles de *P. guajava* de la famille des Myrtaceae.

Les feuilles fraîches de *P. guayava*, après avoir récoltées dans le jardin botanique de l'université de Cocody en mars 2003, elles sont lavées à l'eau distillée puis séchées au soleil pendant une semaine et pulvérisées (broyeuse Retsch type SM 100 Tamis maille 11) pour obtenir une poudre fine.

L'extraction a été faite de la manière suivante: dans un premier temps il a été procédé à un dégraissage de la poudre des feuilles (50 g dans 1 litre d'hexane pour une macération sous agitation magnétique pendant 24 heures) ; le surnageant hexane a été écarté et le marc a été séché à l'air libre. Le marc a été mis dans un litre d'eau distillée pour une autre macération durant 24 heures. Le filtrat obtenu a été lyophilisé et l'extrait aqueux ainsi obtenu a été conservé au réfrigérateur à + 4 °C et a servi pour les différentes évaluations.

Matériel animal

L'étude des paramètres physiologiques a été menée sur le *Tænia coli* de cobayes mâles, le cœur isolé de rats mâles et des lapins mâles entiers pour la respiration et la pression artérielle.

Les rats (*R. norvegicus*), pesant 200 à 300 g, sont issus de la souche Wistar en France et acclimatés à l'animalerie de l'UFR Biosciences.

Les cobayes (*C. porcellus*) pesant 400 à 600 g et les lapins (*O. cuniculus*) d'un poids variant de 1800 à 2200 g proviennent, quant à eux, d'élevages domestiques puis acclimatés à l'animalerie de l'UFR Biosciences.

Le cobaye était sacrifié puis on procédait à une laparotomie pour mettre à nu l'intestin. A l'aide d'une pince et d'une paire de ciseaux, on prélève des fragments de *Tænia coli* d'environ 0,5 cm qu'on dépose dans la solution physiologique glucosée et oxygénée. Le fragment était noué à ses deux extrémités par du fil à tresse à l'aide d'un nœud serré. L'un des fils était lié à

l'extrémité de la potence qui plonge dans la cuve et l'autre bout était noué au dessus de la potence, sur le crochet du capteur.

Liquides physiologiques

Nous avons utilisé deux types de solutions physiologiques de référence :

⇒ la solution de type Mac Ewen dont la composition est la suivante : NaCl 130 mM ; KCl 5,63 mM ; CaCl₂ 2,16 mM ; PO₄HNa₂ 0,91 mM ; CO₃HNa 2,38 mM ; MgCl₂ 53 mM ; glucose anhydre 11 Mm.

⇒ la solution de NaCl à 0,9 %.

Techniques expérimentales

Etude de l'activité mécanique du *Tænia coli* de cobaye

Le dispositif expérimental pour l'enregistrement de l'activité contractile du *Tænia coli* comportait une cuve de 20 ml remplie de la solution physiologique de type Mac Ewen dans laquelle plongeait la préparation de *Tænia coli* fixée sur une potence porte-objets. La température de la solution physiologique était maintenue à 37°C par un bain-marie et un bulleur d'aquarium permettait d'oxygéner la préparation de *T. coli* à raison d'une bulle d'air par seconde. Un capteur recueillait l'activité mécanique de *T. coli* et la transmettait à l'amplificateur auquel il était relié. Cette activité amplifiée était alors transcrite sur le papier de l'enregistreur polygraphique type RIKADENKI. L'extrait a été testé aux concentrations croissantes de 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ et 10⁻³ mg/ml.

Etude de l'activité mécanique du cœur isolé de rat.

Concernant l'enregistrement de l'activité mécanique du cœur isolé, le dispositif était de type LANGERDHORFF. Il comportait un bain-marie à 37°C muni d'un robinet à voies multiples

reliées à des serpentins en polyvinyle. Les serpentins communiquaient avec des godets contenant les solutions de perfusion (solution physiologique type Mac Ewen et les différentes dilutions de la substance à tester). Le système était oxygéné en permanence pour éviter l'anoxie des tissus cardiaques. Le rat était anesthésié par injection intra péritonéale d'une solution d'éthyle uréthane à 20% à la dose de 1 g / kg de poids corporel. Puis le thorax grandement ouvert mettait à nu le cœur et ses vaisseaux. Le cœur était alors extrait et monté à la sortie du robinet d'où il recevait la solution de perfusion désirée en fonction de la voie sélectionnée. L'activité mécanique était enregistrée sur un cylindre enfumé entraîné par un moteur. L'extrait a été testé aux concentrations croissantes de 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} et 10^{-1} mg/ml.

Etude de la pression artérielle et des mouvements respiratoires chez le lapin.

L'étude de la pression artérielle couplée à la respiration s'est fait sur le lapin entier anesthésié. La solution physiologique ici était le NaCl à 0,9 %. L'appareil utilisé pour l'enregistrement de la pression artérielle était le manomètre de LUDWIG qui est un tube en "U" dont les deux branches contiennent du mercure. L'une des branches était reliée au cathéter intubant l'artère carotide du lapin pendant que l'autre branche était reliée à un stylet qui inscrivait les variations de la pression sur un cylindre enfumé entraîné par un moteur. L'enregistrement des mouvements respiratoires s'est fait avec le dispositif de MAREY comportant un vase (contenant de la chaux sodée et de l'oxygène) et une cloche spirométrique. Du vase partait une canule intubant la trachée du lapin. Cette canule trachéale était branchée à un stylet qui recueillait les mouvements respiratoires et les inscrivait parallèlement aux enregistrements de la pression artérielle sur le cylindre. L'extrait a été testé aux doses croissantes de $385 \cdot 10^{-6}$ g/kg, $385 \cdot 10^{-5}$ g/kg et $77 \cdot 10^{-4}$ g/kg de poids corporel.

RESULTATS ET DISCUSSION

Extrait aqueux

L'extrait aqueux obtenu était sous forme cristalline brune avec un rendement d'extraction de 9,2% (Végétal sec pulvérisé : 50 g ; extrait : 4,61 g)

ACTIVITE CONTRACTILE DU *T. COLI*

Effets de l'extrait aqueux de *P. guajava*, à concentrations croissantes sur le *T. coli*

Le fragment de *T. coli*, placé en milieu Mac Ewen, présentait une activité contractile spontanée avec un rythme de 0,45 c/min et une amplitude de 9,6 +/- 0,56 cm soit 1,2 +/- 0,07 g. La figure 1 montre que l'ajout de l'extrait à la concentration de 10^{-5} mg/ml dans la solution physiologique a provoqué une légère relaxation ; en effet l'amplitude des contractions est passée à 8 +/- 0,72 cm (1 +/- 0,09 g) soit une diminution de 13%. Le rythme des contractions a été peu modifié à cette concentration. Avec la concentration de 10^{-3} mg/ml, il est apparu une relaxation nette suivie d'une suppression des contractions spontanées.

Effets de l'extrait sur le *T. coli* en milieu sans calcium

Sur la figure 2, il a été noté le développement de l'activité spontanée normale dont l'amplitude était de 12,8 +/- 1,6 cm (1,6 +/- 0,2 g) et le rythme de 0,67 c/min. En milieu Mac Ewen dépourvu de calcium, il est apparu une diminution notable du péristaltisme avec des contractions rythmiques à raison de 1 c/min et de faible amplitude soit 2,4 +/- 0,56 cm (0,3 +/- 0,07g) soit une baisse de 81 %. L'ajout de l'extrait à la concentration de 10^{-3} mg/ml dans la solution sans calcium a provoqué encore une diminution des contractions rythmiques dont l'amplitude est passée à 0,72 +/- 0,24 cm (0,09 +/- 0,03 g) soit une baisse de 70%.

L'extrait étudié a exercé un effet relaxant vis à vis du muscle lisse *T. coli*. Ce résultat est conforme à celui de Almeida et al (1994). En solution physiologique pauvre en calcium il y avait une relaxation notable du muscle lisse *T. coli* ; relaxation qui a aussi été observée en présence de l'extrait aqueux de *P. guajava*. Cette observation pourrait être en faveur d'un mécanisme d'action anticalcique ; en effet, la stimulation α, β intestinale entraîne la formation d'AMPc qui favorise la recapture du Ca^{2+} par le réticulum sarcoplasmique et aussi la sortie du Ca^{2+} hors de la cellule appauvrissant ainsi le milieu intracellulaire en Ca^{2+} . Notons aussi que dans la régulation de l'activité intestinale, intervient l'acétylcholine, médiateur libéré par le système parasympathique, qui exerce un effet stimulant. Lutterodt (1989) suggère, dans ses travaux, que l'extrait des feuilles de *P. guajava* inhibe la sécrétion d'acétylcholine dans le tissu intestinal. D'autres auteurs, Re et al (1997) et Morales et al (1999) expliquent mieux le probable mécanisme d'action spasmolytique de *P. guajava* en soutenant que l'inhibition de la sécrétion de l'acétylcholine est liée à une modulation de la concentration cytosolique pré synaptique du calcium.

ACTIVITE MECANIQUE DU COEUR ISOLE DE RAT

Effets de l'extrait aux faibles concentrations

La figure 3 nous donne un cardiogramme normal caractérisé par une activité rythmique d'une amplitude de $1,14 \pm 0,04$ cm ($0,08 \pm 0,003$ g) et d'une fréquence de 40 c/min. Après environ 2 min de perfusion avec l'extrait à 10^{-7} mg/ml, l'amplitude des contractions a augmenté, le rythme aussi ; en effet la nouvelle amplitude était de $1,42 \pm 0,08$ cm ($0,1 \pm 0,006$ g) soit une augmentation de 25% et la fréquence cardiaque devenait 75 c/min soit une augmentation de 87%.

La figure 4 montre que l'utilisation de l'extrait à 10^{-4} mg/ml a entraîné également un accroissement de l'amplitude et de la fréquence ; ainsi 30 s après la perfusion, l'amplitude est

passée de $2 \pm 0,12$ cm ($0,14 \pm 0,009$ g) à $2,42 \pm 0,1$ cm ($0,17 \pm 0,007$ g) soit une augmentation de 21% ; la fréquence cardiaque quant à elle est passée de 20 c/min à 39 c/min soit une augmentation de 95%.

Effets de l'extrait aux fortes concentrations

La perfusion du cœur isolé avec l'extrait à la concentration de 10^{-1} mg/ml a provoqué une diminution du rythme. Sur la figure 5 en effet, la fréquence est passée de 15 c/min à 9 c/min soit une diminution de 40%.

Les effets de l'extrait aqueux des feuilles de *P. guajava* sur l'activité mécanique du cœur isolé de rat pourraient être comparables à ceux de l'adrénaline. En effet, au niveau du muscle lisse intestinal, l'activation des récepteurs α et β_2 par l'adrénaline entraîne une relaxation cependant l'activation des récepteurs β_1 cardiaques par ce même neuromédiateur induit, à faible et moyenne doses, un effet inotrope positif et un effet chronotrope positif ; à forte dose par contre, l'adrénaline exerce une cardio-inhibition due à une très forte vasoconstriction (effet α au niveau des artérioles) entraînant une augmentation des résistances périphériques à l'éjection systolique. Notre extrait étant relaxant au niveau du *T. coli*, stimulant pour le cœur aux faibles concentrations et cardiodépresseur aux fortes concentrations, son effet est donc comparable à celui de l'adrénaline. D'autres auteurs, par contre, suggèrent qu'il existerait deux types différents de composants actifs dans l'extrait (aqueux, méthanolique ou hexanique) de feuilles de *Psidium guajava*, l'un ayant un effet stimulant et l'autre un effet relaxant (Lozoya et al, 2002).

ACTIVITE SUR LA PRESSION ARTERIELLE COUPLEE A LA RESPIRATION CHEZ LE LAPIN

La figure 6 nous indique que la dose de 385.10^{-6} g/kg de poids corporel de l'extrait aqueux de *P. guajava* a provoqué une légère hypotension réversible. Par contre aux doses plus élevées

soit 385.10^{-5} g/kg de poids corporel et 77.10^{-4} g/kg de poids corporel, il a été observé une hypotension nette et irréversible avec une respiration rapide suivie de l'arrêt respiratoire.

Les paramètres qui déterminent la pression artérielle étant essentiellement l'activité cardiaque et la résistance vasculaire périphérique, l'effet hypotensif de notre extrait peut être dû à une influence sur l'un ou l'autre de ces facteurs. Or nous avons noté que l'extrait aqueux de *P. guajava*, aux concentrations faibles et moyennes, augmentait l'activité cardiaque ; L'effet hypotensif résulterait donc vraisemblablement d'une baisse de la résistance vasculaire périphérique suite à une action vasodilatatrice par stimulation des récepteurs β_2 vasculaires. Cette argumentation est conforme aux résultats des travaux de Duarte et al (2000) qui ont montré que la quercétine, composant flavonoïque des feuilles de *P. guajava*, a un effet vasodilatateur sur l'artère aorte isolée de rat. Ainsi, l'effet chronotrope négatif, sans influence sur l'amplitude des contractions cardiaques, observé avec les fortes concentrations de l'extrait ne serait pas dû à une stimulation α vasculaire (l'extrait ayant un effet hypotensif) mais plutôt à une toxicité de la stimulation β excessive.

CONCLUSION

Notre étude en rapport avec la recherche des propriétés bioactives de l'extrait aqueux des feuilles de *P. guajava* concourt à la valorisation des connaissances de la médecine traditionnelle. En effet les feuilles de goyavier sont traditionnellement utilisées en décoction pour traiter la diarrhée ; et la mise en évidence de l'action relaxante de l'extrait aqueux de ces feuilles sur le muscle lisse *T. coli* pourrait justifier cette utilisation traditionnelle. Nous avons, en outre, pu mettre en évidence le mécanisme d'action probable anticalcique de cet extrait de plante. Ces travaux ont également démontré une sécurité d'utilisation de ce traitement antidiarrhéique car il conserve bien le couple vital cœur/vaisseaux ; en effet l'extrait aqueux

des feuilles de *P. guajava* induit une hypotension qui est soutenue par son effet cardiotonique à des concentrations moyennes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adjanooun E.J., Aké-Assi L. 1979. Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Centre National de Floristique, 238 p.

Aka K.J. 1980. Analyse de la repolarisation du myocarde ventriculaire de singe en relation avec la fibrillation cardioactive. Influence d'une substance cardioactive africaine (Extrait de *Mansonia altissima*). Thèse de Doctorat ès-Sciences, Université d'Abidjan (Côte d'Ivoire), 233 p.

Almeida C.E., Karnikowski M.G., Foletto R., Baldisserotto B. 1994. Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine. Arch. Med. Res. Spring, 25 (1) : 17-21.

Duarte J., Perez-Vizcaino F., Zarzuelo A., Jimenez J., Tamargo J. 2000. Vasodilator effects of quercetin in isolated rat vascular smooth muscle. Journal of Ethnopharmacology, 72 (1-2) : 269-272.

Fortin D., Lo M., Maynard G. 1990. Plantes médicinales du Sahel CECI / ENDA.

Kerharo J., Adam J. G. 1974. La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques. Ed. Vigot et Frères (Paris) : 604-606.

Koné P.P. 1980. Etudes toxicologiques, électrophysiologiques et pharmacologiques du venin de *Naja nigricollis* (Elapidé de Côte d'Ivoire) et d'une substance antivenimeuse de la pharmacopée traditionnelle africaine (Extrait de *Securidaca longepedunculata*, Polygalaceae). Thèse de Doctorat ès-Sciences, Université d'Abidjan (Côte d'Ivoire), 171 p.

Lozoya X., Beceril G., Martinez M. 2002. Model of intraluminal perfusion of the guinea pig ileum in vitro in the study of the antidiarrheal properties of the guava (*Psidium guajava*). *Circulation*, 106 (2) : 208-213.

Lutterodt G.D. 1989. Inhibition of gastrointestinal release of acetylcholine by quercetin as a possible mode of action of *Psidium guajava* leaf extracts in the treatment of diarrhoeal disease. *Journal of Ethnopharmacology*, 25 (3) : 235-247.

Morales M.A., Tortoriello J., Meckes M., Paz D., Lozoya, X. 1999. Calcium antagonist effect of quercetin and its relation with the spasmolytic properties of *Psidium guajava* L. *Pharmacological Research* 39 (3) : 239-245.

Offoumou A.M. 1980. Interactions Chloroquine - Diazepam sur les propriétés électriques et mécaniques du myomètre. Mode d'action de substances spasmogènes naturelles de la pharmacopée africaine (Extraits de *Alchornea cordifolia* et de *Solanum rugosum*). Thèse de Doctorat ès-Sciences, Université d'Abidjan (Côte d'Ivoire), 175 p.

Re L., Barocci S., Capitani C., Viviani C., Ricci M., Rinaldi L., Paolucci G., Scarpantonio A., Fernandez O.S., Morales M.A. 1997. Effects of some natural extracts on the acetylcholine release at the mouse neuromuscular junction. *Journal of Ethnopharmacology*, 56 (1) : 81-87.

Tchuella J. 1984. Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle Bamiléké. Recherche expérimentale sur l'action antitussive de *Costus afer* (Zingiberaceae). Thèse Pharmacie, Dakar, N° 105.

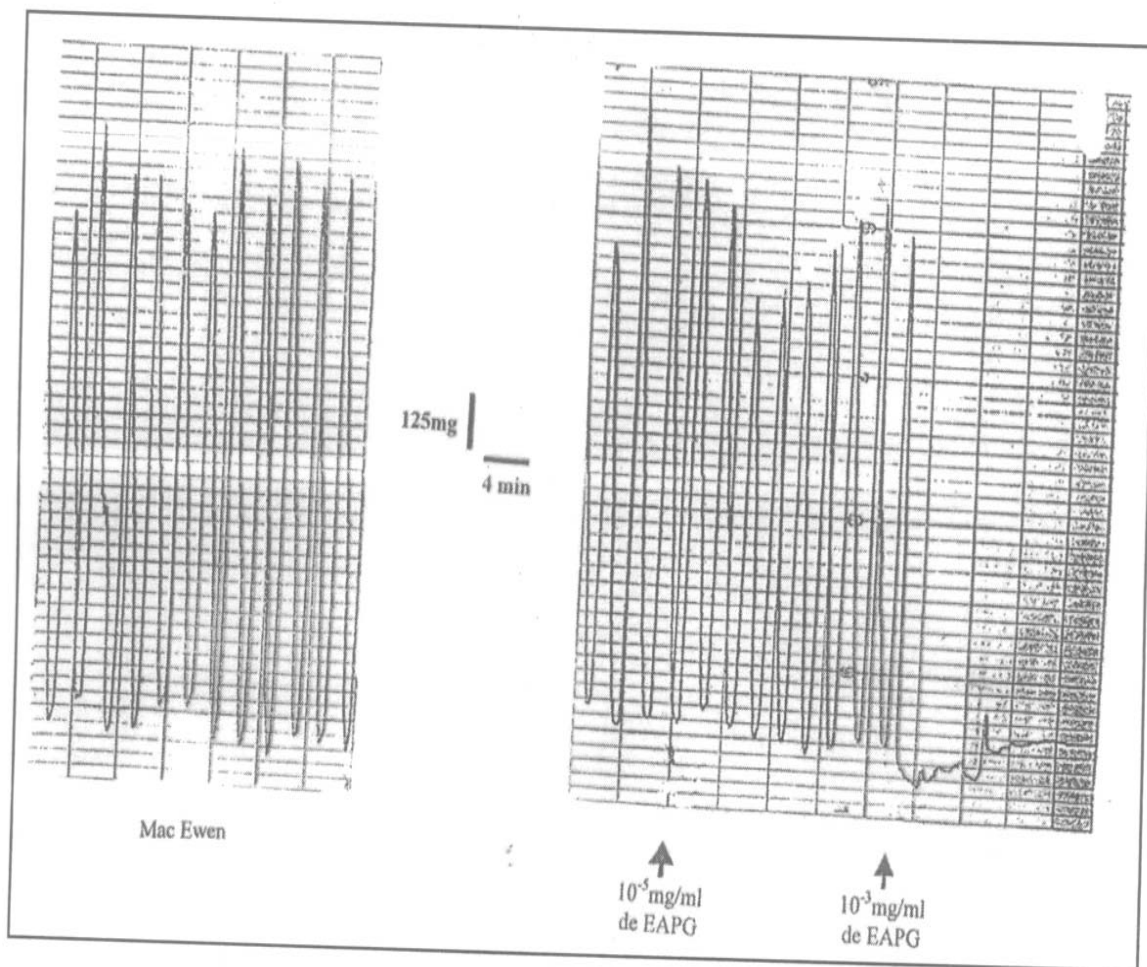


Figure 1 : Effets de l'extrait aux doses croissantes sur le *T. coli* de cobaye

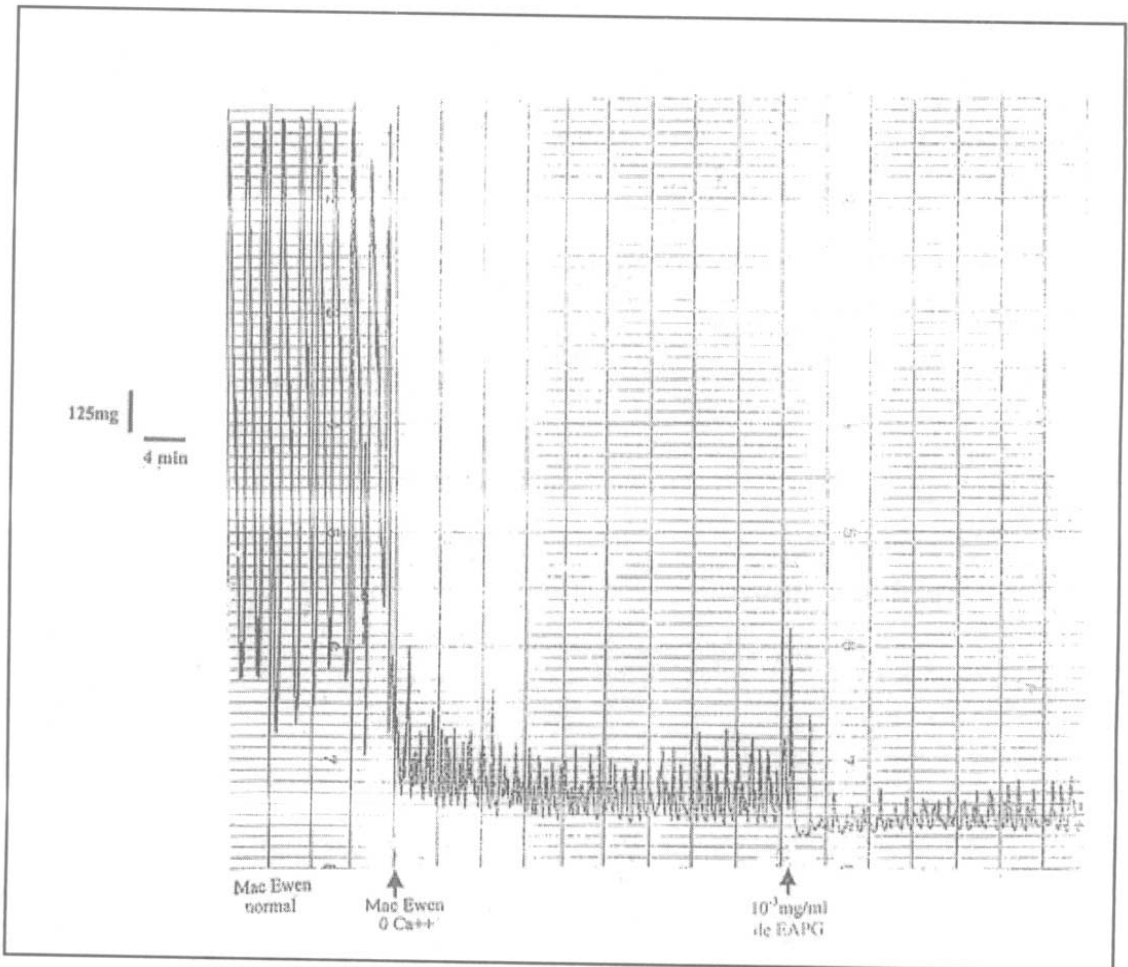


Figure 2 : Effet de l'extrait en milieu sans calcium sur le *T. coli* de cobaye

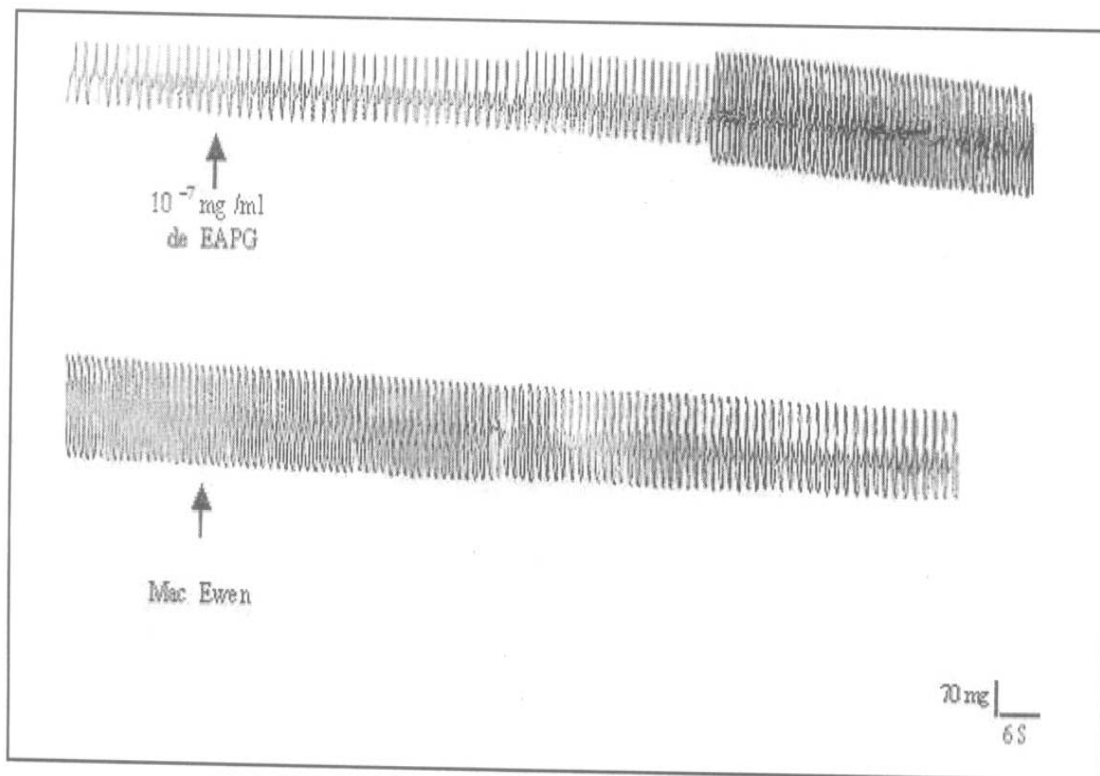


Figure 3 : Effet de l'extrait à 10⁻⁷ mg/ml

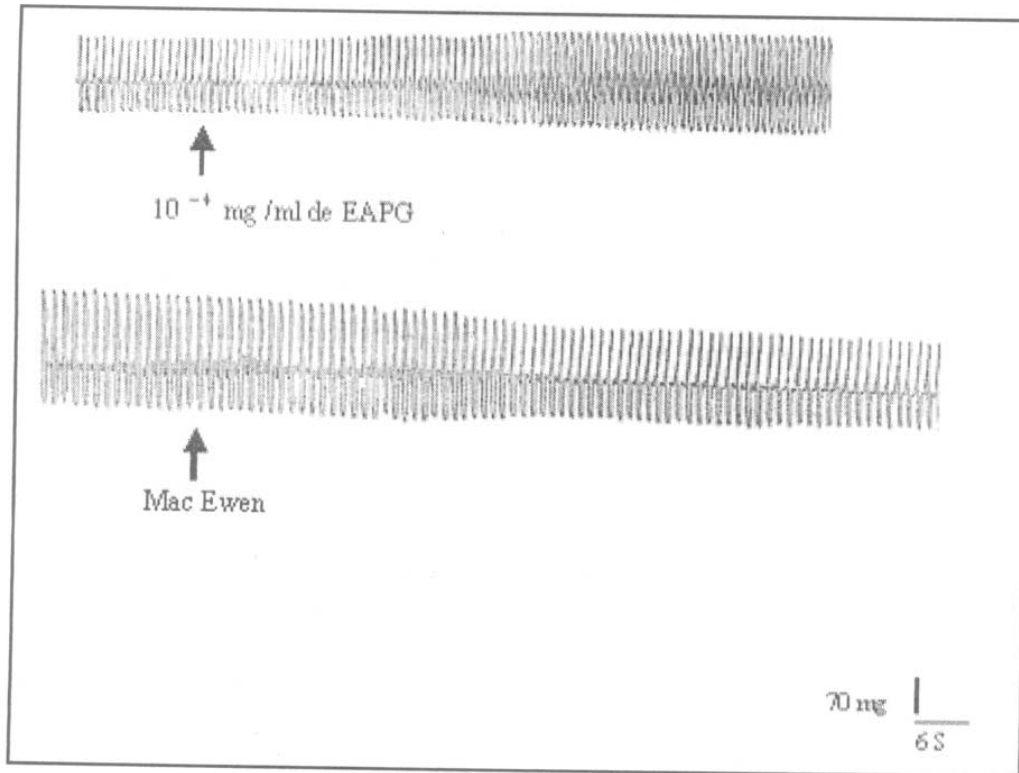


Figure 4 : Effet de l'extrait à 10⁻⁴ mg/ml

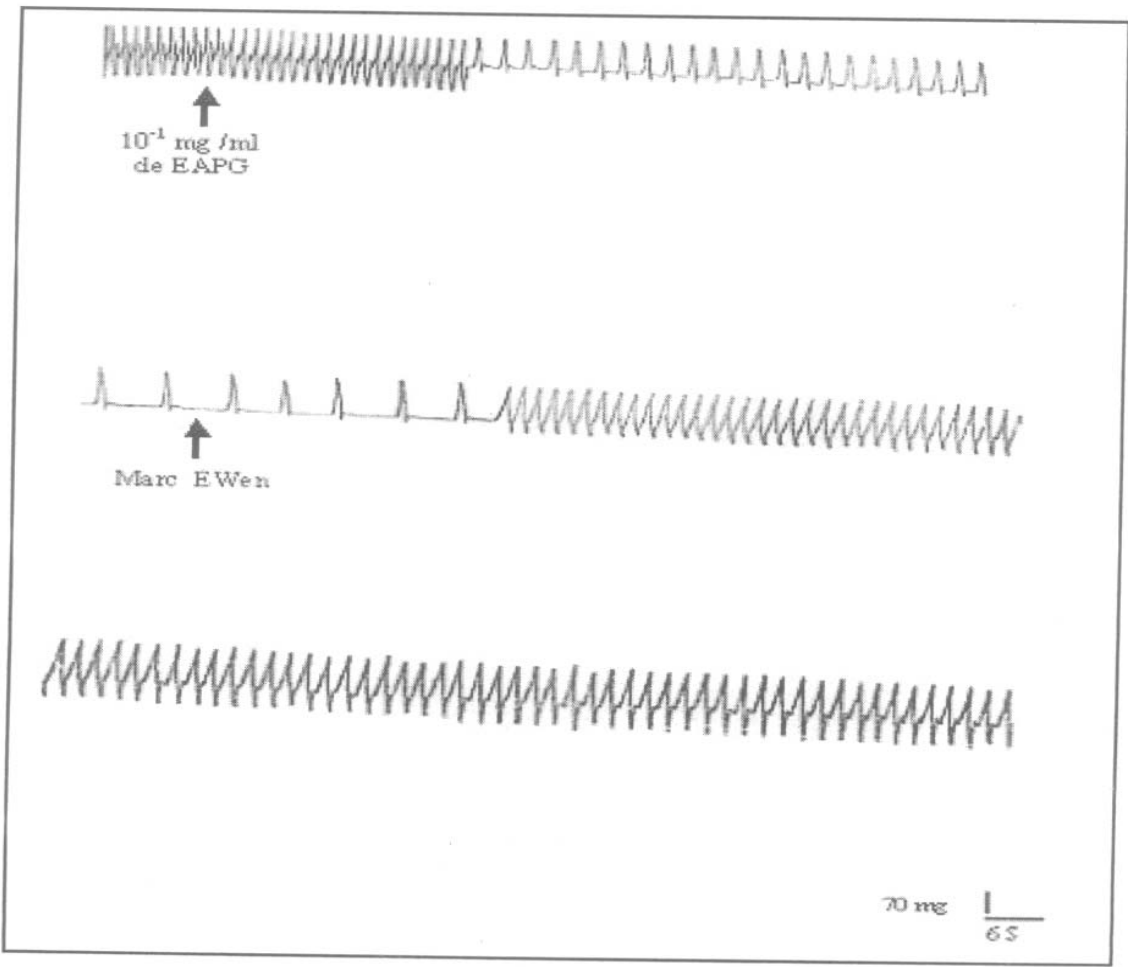


Figure 5 : Effet de l'extrait à 10⁻¹ mg/ml

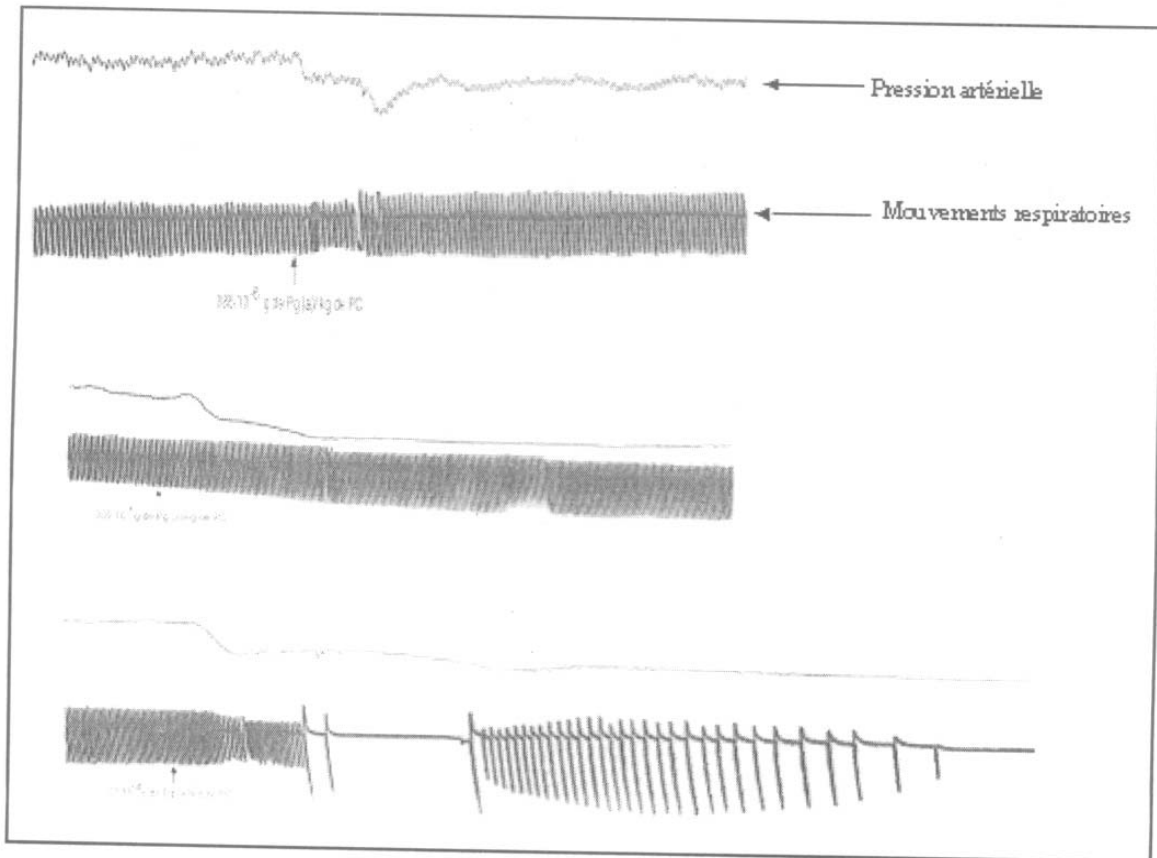


Figure 6 : Effet de l'extrait sur la pression artérielle et la respiration chez le lapin