



**Original Paper**

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

## Effets de l'extrait hydroéthanolique de *Lippia multiflora* Moldenke sur le cœur isolé de crapaud

A.W. ETOU OSSIBI<sup>1</sup>, R.D.G. ELION ITOU<sup>1</sup>, C.J. MORABANDZA<sup>1</sup>,  
G.F. NSONDE NTANDOU<sup>1</sup>, J. NZONZI<sup>1</sup>, J.M. OUAMBA<sup>2</sup> et A.A. ABENA<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> *Laboratoire de Biochimie et Pharmacologie, Faculté des Sciences de la Santé, Université Marien Ngouabi, B.P. 69, Brazzaville, Congo.*

<sup>2</sup> *Unité de Chimie du Végétal et de la Vie, Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien Ngouabi, B.P. 69, Brazzaville, Congo.*

\* *Auteur correspondant ; E-mail: abena\_cg@yahoo.fr*

### RESUME

Les plantes médicinales sont des véritables sources de molécules bioactives. L'objectif de la présente étude a été de tester les effets de l'extrait hydroéthanolique de *Lippia multiflora* sur le cœur isolé de crapaud et d'élucider son mécanisme d'action probable. Cet extrait a été obtenu après extraction aux solvants à polarité croissante. Le cœur de crapaud a été isolé et perfusé avec le ringer normal puis avec les différents produits selon le dispositif de Langerdorff de mesure de la force et la fréquence des contractions du cœur. Les résultats obtenus montrent que l'extrait hydroéthanolique de *Lippia multiflora* provoque des effets inotrope et chronotrope positifs sur le cœur isolé de crapaud, semblables à ceux de l'adrénaline bien que moins marqués. Cet extrait semble provoquer l'augmentation de l'influx d'ions calcium consécutif à son action directe sur les récepteurs  $\alpha_1$ -adrénergiques cardiaques comme l'adrénaline. Les effets de cet extrait étant antagonisés par le propranolol et le vérapamil. Par ailleurs, cet extrait potentialise les effets inotrope et chronotrope positifs de l'adrénaline sur le cœur isolé de crapaud. Ces résultats suggèrent que l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* provoque les effets inotrope et chronotrope positifs probablement suivant le même mécanisme que l'adrénaline.

© 2016 International Formulae Group. All rights reserved.

**Mots clés :** *Lippia multiflora*, inotrope, chronotrope, CaCl<sub>2</sub>, adrénaline, cœur.

## Effects of hydroethanolic extract of *Lippia multiflora* Moldenke on the heart isolated from toad

### ABSTRACT

Medicinal plants are sources of bioactive molecules. The objective of this study was to test the effects of hydroethanolic extract of *Lippia multiflora* on the isolated toad heart and to elucidate its likely mechanism of action. This extract was obtained after extraction with solvents of increasing polarity. The toad heart was isolated and perfused with the normal ringer then with different products according to the Langerdorff device for measuring the strength and frequency of heart contractions. The results obtained show that the

hydroethanolic extract of *Lippia multiflora* produces positive inotropic and chronotropic effects on the isolated heart of toads, similar to those of adrenaline, although less marked. This extract seems to cause an increase in the influx of calcium ions following its direct action on cardiac  $\alpha 1$ -adrenergic receptors such as adrenaline. The effects of this extract are antagonized by propranolol and verapamil. Moreover, this extract potentiates the positive inotropic and chronotropic effects of adrenaline on the isolated heart of toad. These results suggest that the hydroethanolic extract of *L. multiflora* causes the positive inotropic and chronotropic effects probably following the same mechanism as adrenaline.

© 2016 International Formulae Group. All rights reserved.

**Keywords:** *Lippia multiflora*, inotropic, chronotropic, CaCl<sub>2</sub>, adrenalin, heart.

## INTRODUCTION

*Lippia multiflora* Moldenke (*L. multiflora* Mold.) est une plante aromatique que l'on trouve dans beaucoup de pays d'Afrique. Elle pousse généralement dans les savanes et, peut atteindre 4 m de hauteur. Ces feuilles sèches sont beaucoup consommées par les populations en infusion ou décoction aqueuse théiforme. Les feuilles de *L. multiflora* Mold. sont utilisées en médecine traditionnelle contre diverses pathologies (Etou Ossibi, 2010). Les effets psychotropes (Abena et al., 2003), hépato-protecteurs (Hondi – Assah et al., 2003 ; Bouagnon et al., 2015), cardio-modérateurs (Etou Ossibi et al., 2005), antihypertenseurs (Etou Ossibi et al., 2012), hypotenseurs (Etou Ossibi et al., 2014) de l'extrait aqueux des feuilles de cette plante ont été démontrés. L'huile essentielle des feuilles sèches de cette plante a montré des effets antalgique, antipyrétique et anti-inflammatoire (Abena et al., 2003), antibactériens et antifongiques (Abena et al., 2002) et, Ovicides et Larvicides (Bassole et al., 2003). Une étude toxicologique a montré que l'extrait aqueux des feuilles de *L. multiflora* Mold. est bien toléré chez le rat (Hondi Assah, 2004).

Les études phytochimiques de cette plante révèlent qu'elle contient de nombreux métabolites secondaires (flavonoïdes, leucoanthocyanes, stéroïdes ou terpénoïdes, tannins, alcaloïdes) et de composés volatiles (Etou Ossibi et al., 2005 ; Abena, 2016). La présence de ces familles chimiques dans

d'autres extraits de plantes médicinales a été révélée (Umoh, 2011 ; Quenum, 2014 ; Ogwuche, 2015). Ces données bibliographiques montrent que seuls l'extrait aqueux et l'huile essentielle de cette plante ont fait l'objet des investigations scientifiques. Ainsi, la présente étude s'est fixée pour objectifs d'étudier les effets de l'extrait hydroéthanolique des feuilles sèche de *L. multiflora* sur le cœur isolé de crapaud et d'élucider le mécanisme d'action probable des effets observés.

## MATERIEL ET METHODES

### Matériel végétal

Les feuilles de *L. multiflora* Mold. ont été utilisées. Ces feuilles ont été récoltées dans le jardin expérimental de la Faculté des Sciences et Technique de l'Université Marien (Congo) au mois d'avril 2008.

Un échantillon de feuilles de cette plante était identifié et comparé avec l'échantillon de référence n° 2047 de l'herbier du Département de Botanique du Centre d'Etude des Ressources Végétales du Congo.

### Matériel animal

Les crapauds ou *Bufo regularis* (Bufonidae) de poids compris entre 40 et 65 g ont été utilisés. Ces crapauds étaient capturés les nuits dans des endroits humides puis emmenés au laboratoire dans une cage métallique.

### **Préparation de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *L. multiflora***

Cent (100) g de poudre des feuilles de *L. multiflora* ont été préalablement mixés, pendant 72 heures, successivement dans un litre d'éther de pétrole, de trichlorométhane, de méthanol, et d'éthanol pour dégraisser la matière végétale. Le passage d'un solvant à un autre a été précédé par le séchage du culot ou marc pendant 24 ou 72 heures selon les culots. Le dernier culot a été mixé dans un litre de mélange éthanol – eau (1:1) pendant 72 heures. La solution obtenue a été filtrée et le filtrat évaporé à l'aide d'un rotavapor de type Heidolph, puis lyophilisé à l'aide d'un lyophilisateur de type Christ Alpha 1- 2 LD.

Les solutions d'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* et des substances de référence utilisés ont été préparés en les dissolvant dans la solution de ringer. La solution de ringer de composition en g/l : CaCl<sub>2</sub> : 0,12 ; NaCl : 6,50 ; KCl : 0,14 ; NaHCO<sub>3</sub> : 0,20 ; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : 0,20 a été utilisée.

### **Mise à nu et prélèvement du cœur de crapaud**

Le crapaud a été décérébré et déméduillé puis fixé en décubitus dorsal sur une planchette en liège. Le cœur de crapaud a été mis à nu en découpant successivement, à l'aide des ciseaux et pinces, la peau, la paroi musculo-squelettique et le péricarde. A l'aide d'une sonde, un fil fin est glissé sous le bulbe puis y est posée une ligature d'attente en soulevant la pointe du ventricule. Avec des ciseaux fins, une boutonnière est réalisée dans le bulbe et par la suite une canule est enfoncée en direction du cœur. Enfin, la ligature a été serrée et le cœur isolé en coupant les tissus environnants (Etou Ossibi et al., 2010).

### **Mesure de l'amplitude et de la fréquence des contractions du cœur isolé de crapaud**

Le dispositif de type Langerdhorff a été utilisé. Dans ce modèle, l'ensemble canule cœur a été adapté au montage de perfusion constitué d'une seringue fixée à un support métallique. Ensuite, la pointe du ventricule a

été saisie avec une pince serre-fine qui est reliée par un fil de suspension à un bras de levier à bascule.

L'autre bras étant muni d'un stylet inscripteur dont la plume est disposée perpendiculairement et de façon à ce qu'elle touche légèrement le cylindre enregistreur entraîné par un moteur à la vitesse de rotation de 1,5 mm/s.

Le cœur isolé a été lavé pendant 5 min environ avec la solution de Ringer, jusqu'à l'obtention d'un cardiogramme régulier avant sa perfusion avec les différents produits. La perfusion avec une autre concentration était précédée d'un lavage du cœur avec la solution de Ringer. Un nouveau cœur a été utilisé chaque fois que le précédent ne présentait plus des contractions rythmiques normales (Etou Ossibi et al., 2005). Chaque test avec un produit à une concentration donnée a été repris 6 fois.

### **Effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* et de l'adrénaline sur l'amplitude et la fréquence des contractions du cœur**

Le cœur isolé de crapaud a été perfusé pendant 3 minutes avec, d'une part les solutions de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* aux concentrations croissantes de 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1,0 et 1,2 mg/ml et, d'autre part l'adrénaline à 10<sup>-6</sup> mg/ml.

### **Effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* et de l'adrénaline en solution de Ringer sans calcium et hypercalcique sur l'amplitude et la fréquence des contractions**

Le cœur isolé de crapaud a été d'abord perfusé avec le Ringer normal. Par la suite, on fait passer dans la perfusion l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* à 0,4 mg/ml en solution de Ringer sans calcium et hypercalcique (0,30 g/l de CaCl<sub>2</sub>) pendant deux minutes. Le même test a été réalisé avec l'adrénaline à 10<sup>-6</sup> mg/ml.

### **Influence du vérapamil sur l'influx calcique induit par l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora***

Le cœur isolé de crapaud a été perfusé par l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* à 0,4 mg/ml en présence d'un bloqueur des canaux calciques, le vérapamil à  $1,5 \cdot 10^{-3}$  mg/ml, pendant 4 minutes.

### **Etudes de l'interaction propranolol – adrénaline et propranolol - extrait hydroéthanolique de *Lippia multiflora* sur l'amplitude et la fréquence des contractions cardiaques**

Le cœur isolé de crapaud a été perfusé avec la solution d'adrénaline à  $10^{-6}$  mg/ml d'abord seule puis en présence du propranolol à  $10^{-4}$  mg/ml. Dans une deuxième série d'expériences, le cœur isolé de crapaud a été perfusé avec l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1 mg/ml) en présence du propranolol à  $10^{-4}$  mg/ml. Pour chaque test, les effets ont été observés pendant deux minutes suivant le protocole décrit ci-dessus.

### **Effets de la perfusion du cœur avec l'association adrénaline - extrait hydroéthanolique de *Lippia multiflora* sur l'amplitude et la fréquence des contractions**

Le cœur isolé de crapaud a été perfusé, dans une première série d'expériences, avec des solutions d'adrénaline à  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-4}$  mg/ml. Dans une deuxième série d'expériences, les solutions d'adrénaline, à chacune de ces concentrations, ont été testées en présence de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* à 0,4 mg/ml. Pour chaque test, les effets sur le cœur isolé de crapaud ont été observés pendant deux minutes.

### **Analyse statistique**

Le calcul de la moyenne de chaque série de valeurs ainsi que l'analyse statistique par le test t de Student ont été réalisés à l'aide du logiciel GraphPad InStat version 3.0. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  erreur standard, avec  $n = 6$ . La limite de significativité a été fixée à  $p < 0,05$ .

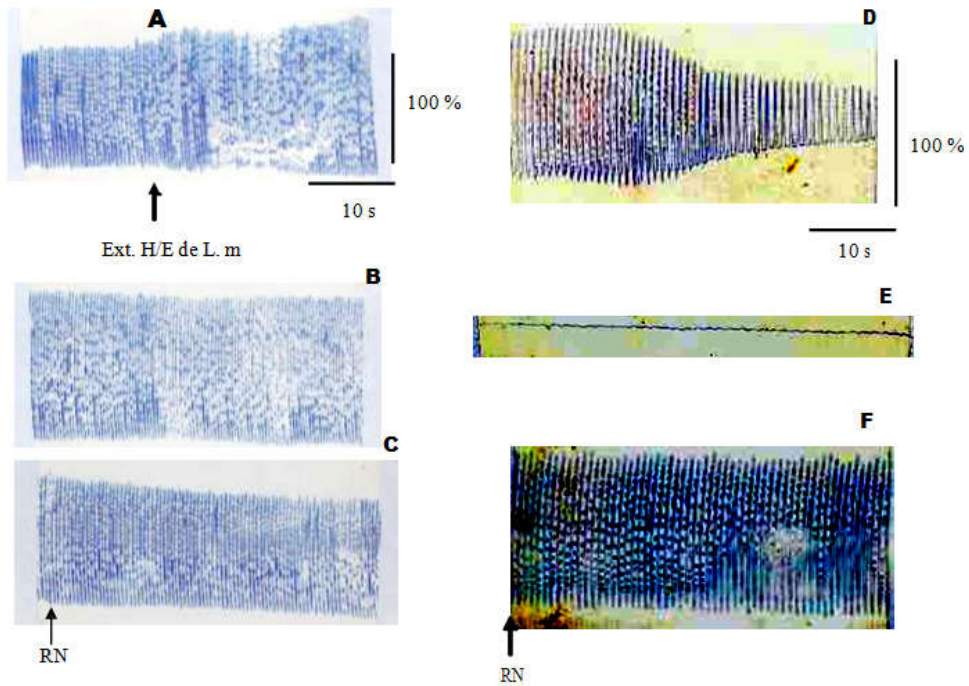
## **RESULTATS**

### **Effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* et de l'adrénaline sur l'amplitude et la fréquence des contractions**

La perfusion du cœur isolé de crapaud avec l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* à 0,4 mg/ml provoque une augmentation de l'amplitude et de la fréquence des contractions respectivement de  $24,10 \pm 1,38\%$ , ( $p < 0,01$ ) et  $3,06 \pm 0,53\%$ , ( $p > 0,05$ ) (Figure 1A, B et C). L'arrêt du cœur est observé à partir de la concentration de 3,3 mg/ml (Figure 1D, E et F). La perfusion du cœur avec le Ringer normal restaure à 95% les contractions. Avec l'adrénaline à  $10^{-6}$  mg/ml, le cardiogramme montre une importante augmentation de l'amplitude et de la fréquence des contractions respectivement de  $76,59 \pm 2,77\%$  ( $p < 0,001$ ) et  $29,21 \pm 3,19\%$ , ( $p < 0,001$ ) (Figure 2A, B et C). Les Figures 3 et 4 montrent que l'extrait hydroéthanolique provoque une augmentation moins importante de l'amplitude et de la fréquence des contractions du cœur isolé de crapaud par rapport à l'adrénaline, aux différentes concentrations utilisées.

### **Effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* Mold. et de l'adrénaline en solutions de Ringer sans calcium et hypercalcique**

La perfusion du cœur avec la solution de Ringer sans calcium provoque l'arrêt des contractions du cœur tout comme



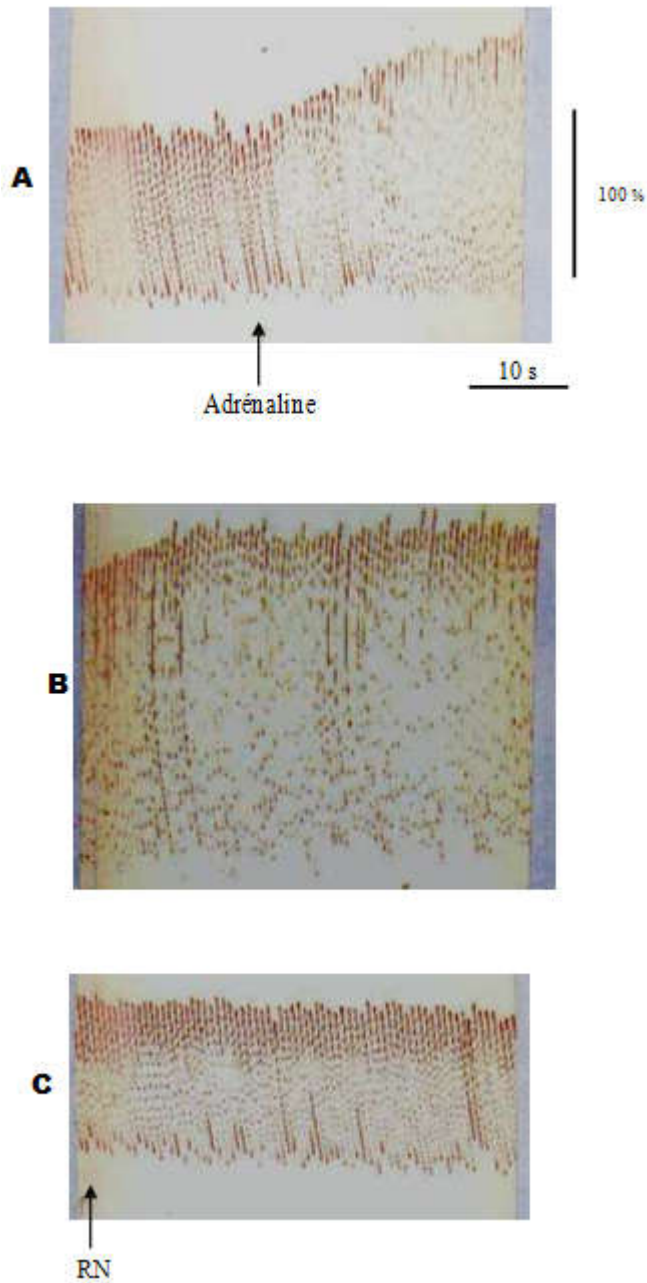
**Figure 1:** Effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (Ext. H/E de *L. m*) (0,4 et 3,3 mg/ml) sur les contractions du cœur isolé de crapaud. **A:** Enregistrement témoin suivi des effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (0,4 mg/ml) ; **B:** Suite des effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (0,4 mg/ml) ; **C:** Retour au Ringer normal (RN) ; **D:** Enregistrement témoin suivi des effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (3,3 mg/ml) ; **E:** Suite des effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (3,3 mg/ml) ; **F:** Ringer normal (RN).

en présence de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* à 0,4 mg/ml ou de l'adrénaline à  $10^{-6}$  mg/ml (Figures 5, 6 et 7). Cependant, en solution de Ringer hypercalcique (0,3 mg/ml), ces deux produits induisent chacun, sur le cardiogramme montre, une augmentation plus importante de l'amplitude et de la fréquence des contractions qu'en solution de Ringer (Figures 8 et 9). Pour l'adrénaline l'augmentation est respectivement de  $82,20 \pm 2,33$  ( $p < 0,001$ ) et de  $38,12 \pm 1,97\%$  ( $p < 0,001$ ) et est respectivement de  $46,57 \pm 2,68$  ( $p < 0,001$ ) et  $10,13 \pm 1,76\%$  ( $p < 0,05$ ) pour l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* à 0,4 mg/ml. Pour les deux

perfusions, les contractions du cœur sont restaurées après lavage avec du Ringer.

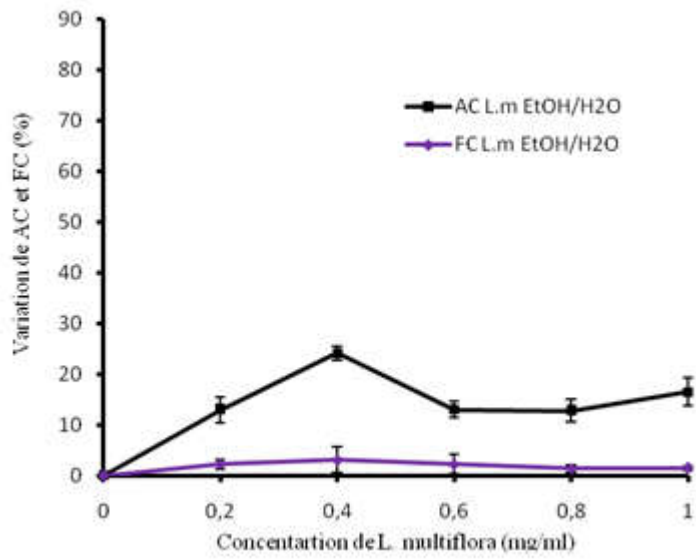
#### **Influence du vérapamil sur les effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* Mold.**

En présence du vérapamil à  $1,5 \cdot 10^{-3}$  mg/ml, La perfusion du cœur avec l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* à 0,4 mg/ml ne provoque plus une augmentation de l'amplitude et de la fréquence des contractions cardiaques mais plutôt leur diminution de  $7,59 \pm 2,23\%$  ( $p < 0,05$ ) et  $13,75 \pm 1,53\%$  ( $p < 0,01$ ) respectivement (Figure 10 A, B et C).

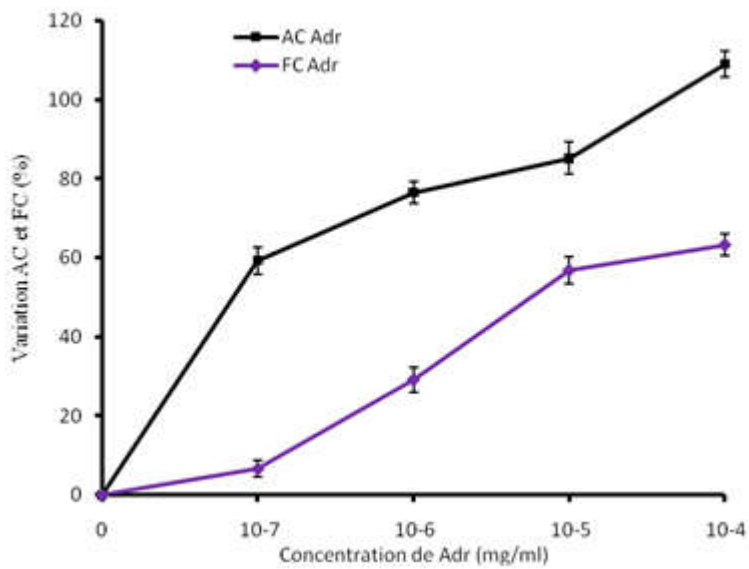


**Figure 2:** Effets de l'adrénaline à  $10^{-6}$  mg/ml sur les contractions du cœur isolé de crapaud.

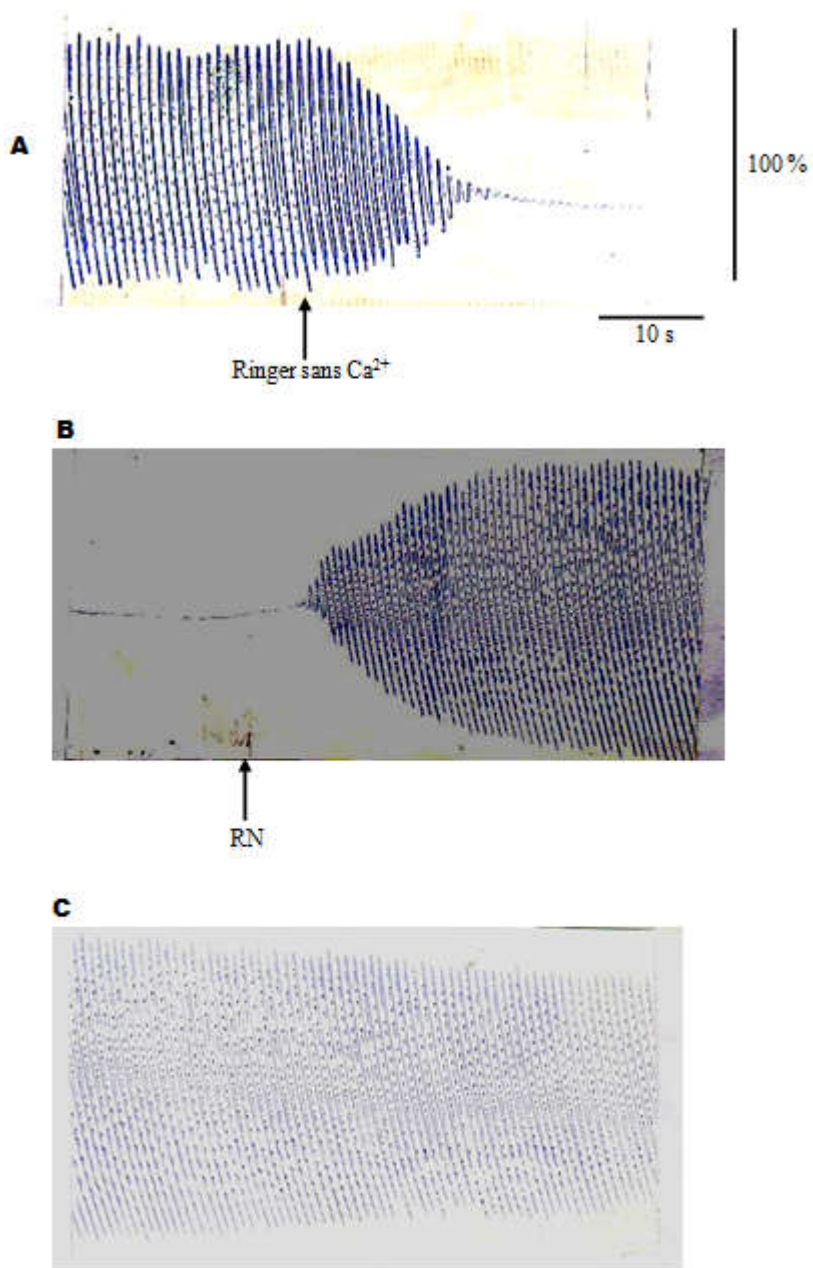
**A:** Enregistrement témoin suivi des effets de l'adrénaline à  $10^{-6}$  mg/ml ; **B:** Suite des effets de l'adrénaline à  $10^{-6}$  mg/ml ; **C:** Retour au Ringer normal (RN).



**Figure 3:** Variation de l'amplitude (AC) et de la fréquence (FC) des contractions du cœur isolé de crapaud en fonction de la concentration de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (L.m EtOH/H<sub>2</sub>O).

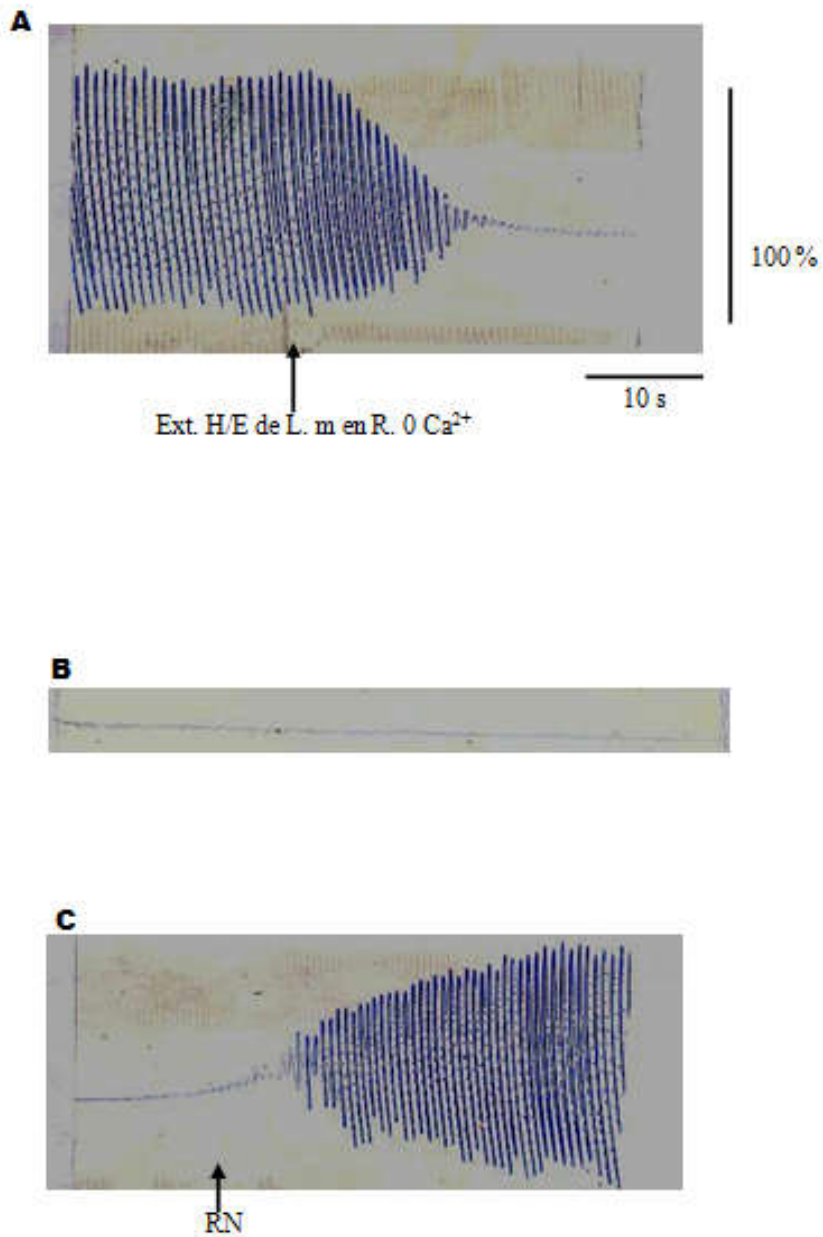


**Figure 4 :** Variation de l'amplitude (AC) et de la fréquence (FC) des contractions du cœur isolé de crapaud en fonction de la concentration de l'adrénaline (Adr).



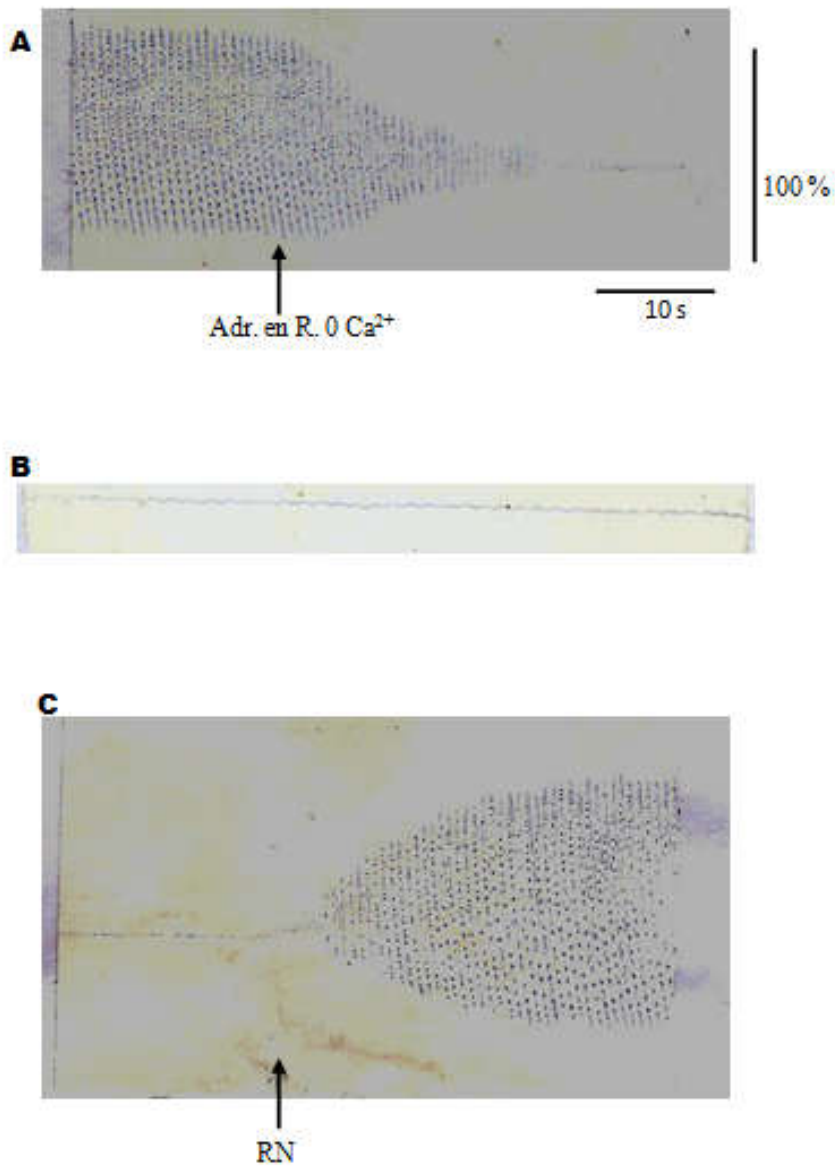
**Figure 5:** Effets de la solution de Ringer sans calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) sur les contractions du cœur isolé de crapaud. **A:** Enregistrement témoin suivi des effets de la solution de Ringer sans calcium ; **B:** Suite des effets de la solution de Ringer sans calcium suivi du retour au Ringer normal ; **C:** Retour au Ringer normal (RN).



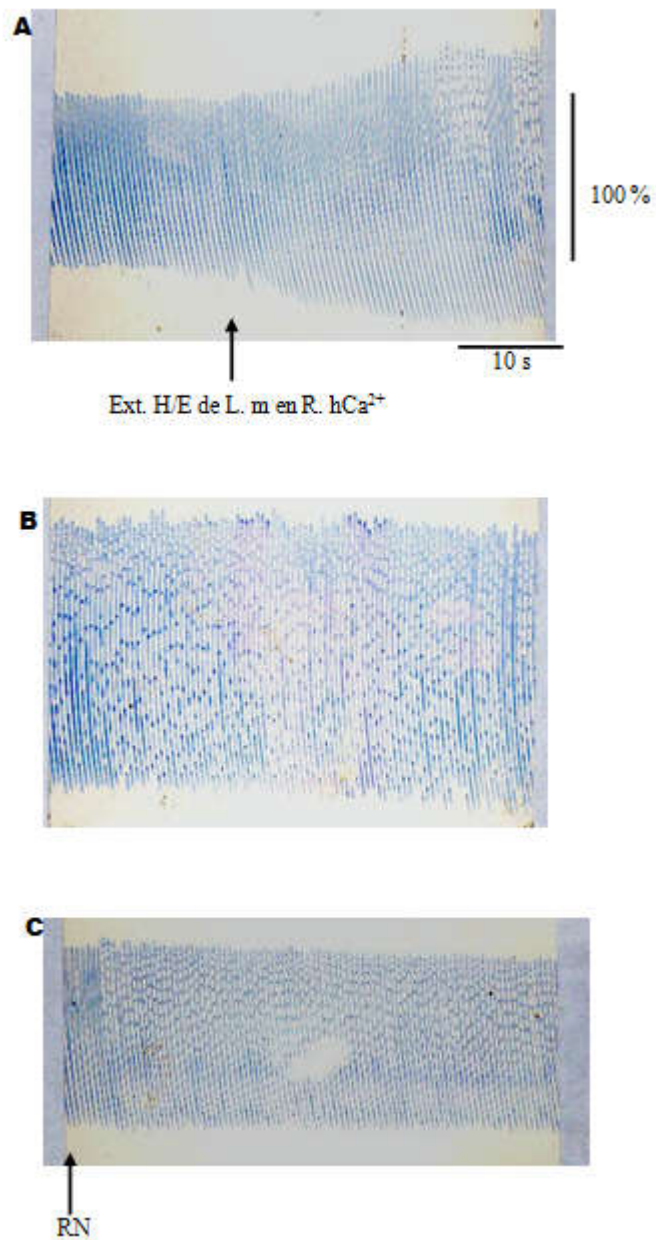


**Figure 6:** Effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (Ext. H/E de L. m) (0,4 mg/ml) en solution de Ringer sans calcium (R. 0 Ca<sup>2+</sup>) sur les contractions du cœur isolé de crapaud.

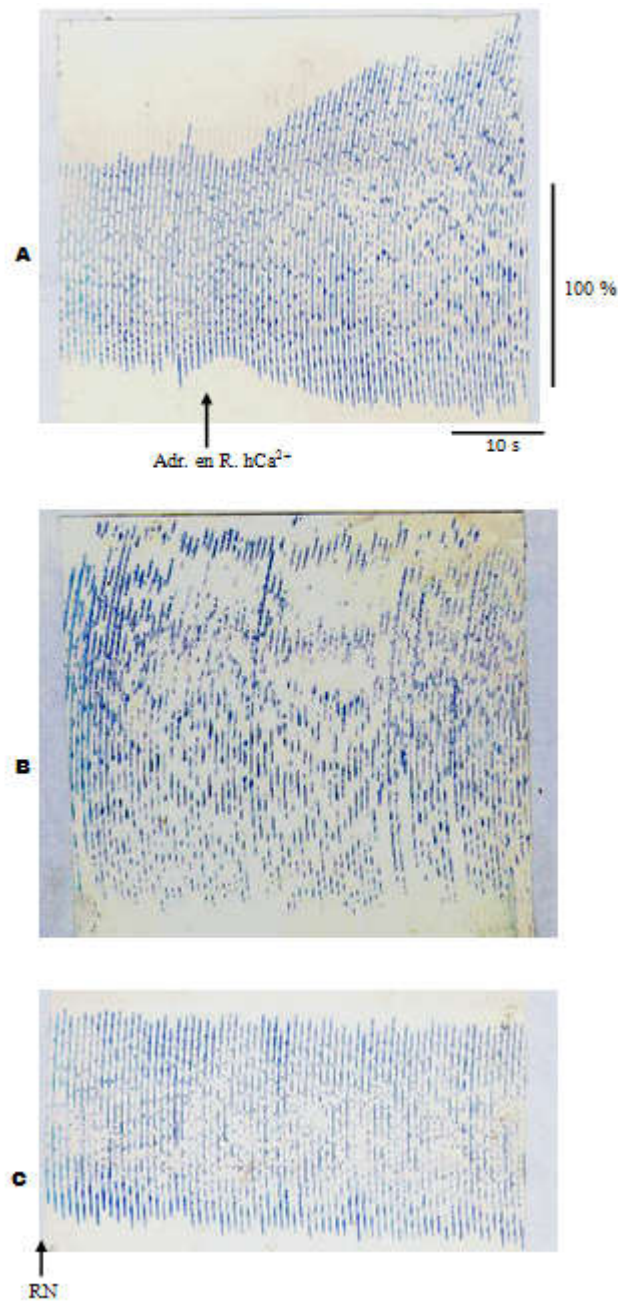
**A:** Enregistrement témoin suivi des effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (0,4 mg/ml) en solution de Ringer sans calcium ; **B:** Suite des effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (0,4 mg/ml) en solution de Ringer sans calcium ; **C:** Retour au Ringer normal (RN).



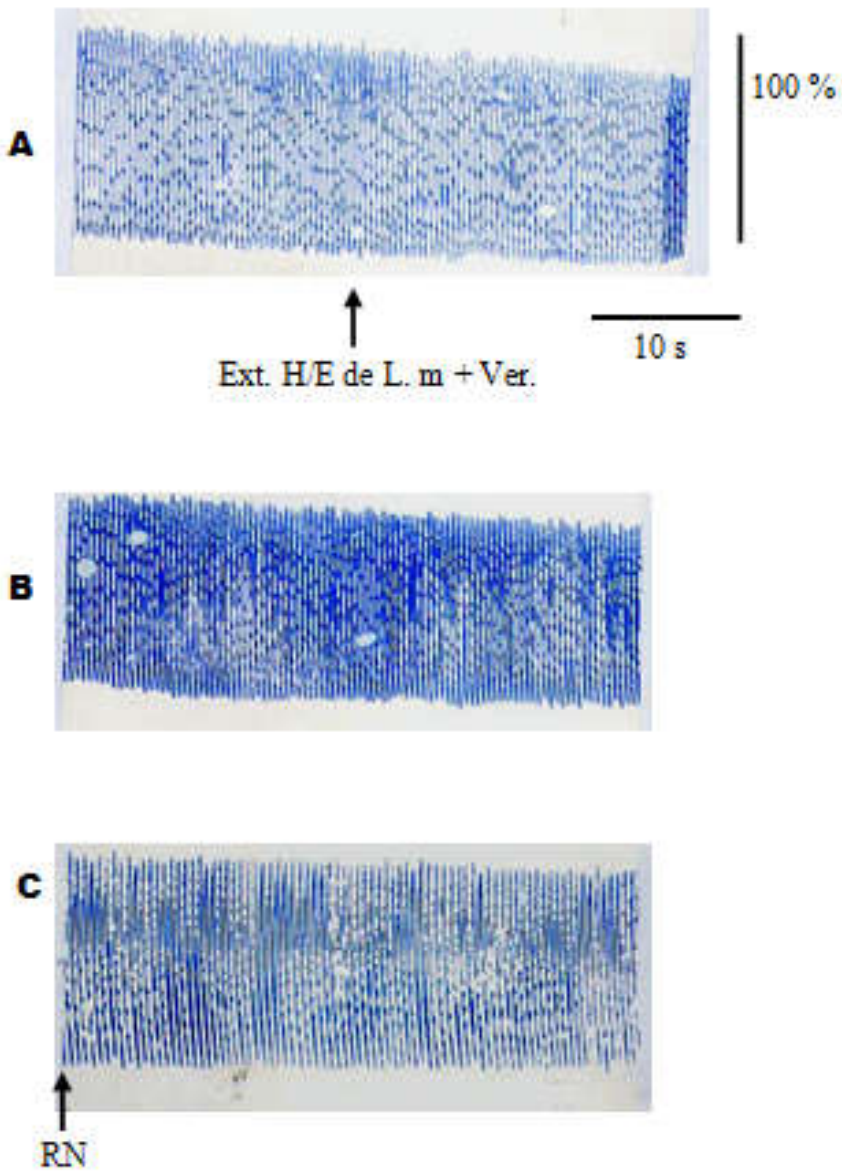
**Figure 7:** Effets de l'adrénaline (Adr.) ( $10^{-6}$  mg/ml) en solution de Ringer sans calcium (R. 0 Ca<sup>2+</sup>) sur les contractions du cœur isolé de crapaud. **A:** Enregistrement témoin suivi des effets de l'adrénaline ( $10^{-6}$  mg/ml) en solution de Ringer sans calcium ; **B:** Suite des effets de l'adrénaline ( $10^{-6}$  mg/ml) en solution de Ringer sans calcium ; **C:** Retour au Ringer normal (RN).



**Figure 8:** Effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (Ext. H/E de L. m) (0,4 mg/ml) en solution de Ringer hypercalcique (R. hCa<sup>2+</sup>) (0,3 mg/ml) sur les contractions du cœur isolé de crapaud. **A:** Enregistrement témoin suivi des effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (0,4 mg/ml) en solution de Ringer hypercalcique (0,3 mg/ml) ; **B:** Suite des effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (0,4 mg/ml) en solution de Ringer hypercalcique (0,3 mg/ml) ; **C:** Retour au Ringer normal (RN).

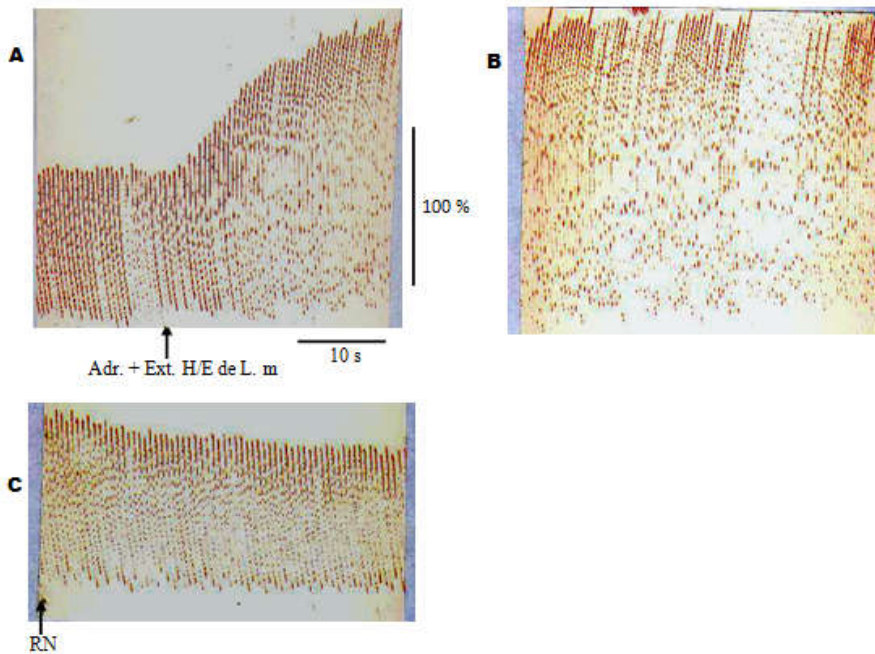


**Figure 9:** Effets de l'adrénaline (Adr.) ( $10^{-6}$  mg/ml) en solution de Ringer hypercalcique (R. hCa<sup>2+</sup>) (0,3 mg/ml) sur les contractions du cœur isolé de crapaud. **A:** Enregistrement témoin suivi des effets de l'adrénaline ( $10^{-6}$  mg/ml) en solution de Ringer hypercalcique (0,3 mg/ml) ; **B:** Suite des effets de l'adrénaline ( $10^{-6}$  mg/ml) en solution de Ringer hypercalcique (0,3 mg/ml) ; **C:** Retour au Ringer normal (RN).



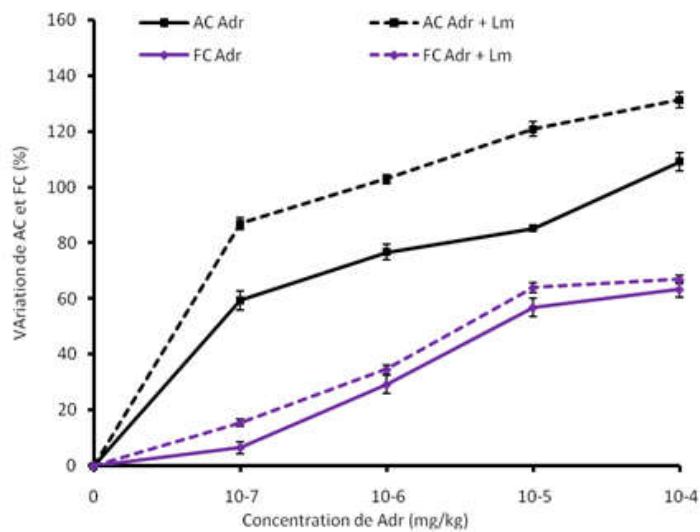
**Figure 10:** Effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (Ext. H/E de L. m) à 0,4 mg/ml en présence du vérapamil (Ver.) à  $1,5 \cdot 10^{-3}$  mg/ml sur les contractions du cœur isolé de crapaud.

**A:** Enregistrement témoin suivi des effets de l'association extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (0,4 mg/ml) et Vérapamil ( $1,5 \cdot 10^{-3}$  mg/ml) ; **B:** Suite des effets de l'association extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (0,4 mg/ml) et vérapamil ( $1,5 \cdot 10^{-3}$  mg/ml) ; **C:** Retour au Ringer normal (RN).



**Figure 11:** Effets de l'association adrénaline (Adr.) ( $10^{-6}$  mg/ml) - extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (Ext. H/E de L. m) (0,4 mg/ml) sur les contractions du cœur isolé de crapaud.

**A:** Enregistrement témoin suivi des effets de l'association Adrénaline ( $10^{-6}$  mg/ml) - extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (0,4 mg/ml) ; **B:** Suite des effets de l'association Adrénaline ( $10^{-6}$  mg/ml) - extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (0,4 mg/ml) ; **C:** Retour au Ringer normal (RN).

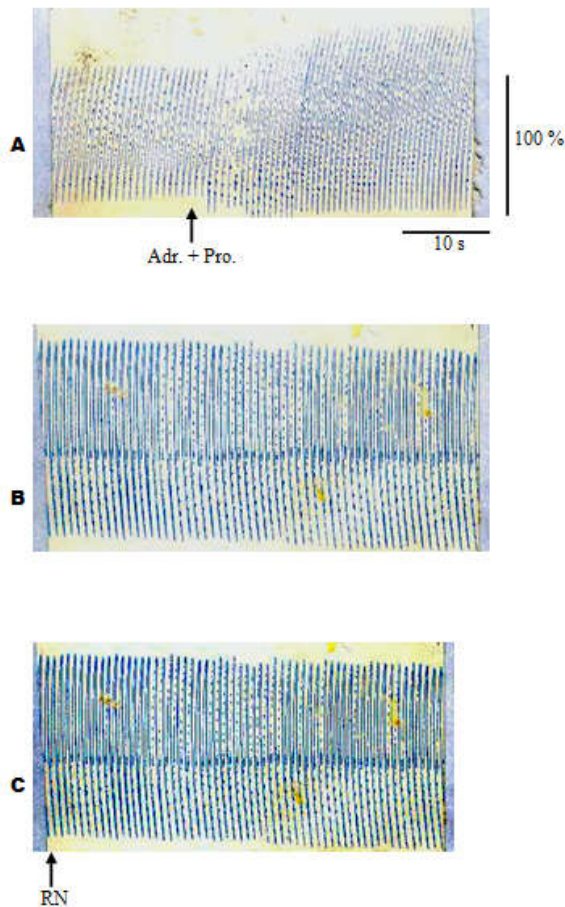


**Figure 12:** Variation de l'amplitude (AC) et de la fréquence (FC) des contractions du cœur isolé de crapaud en fonction de la concentration d'adrénaline (Adr) en absence et en présence de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (Lm) à 0,4 mg/ml.

**Influence du propranolol à  $10^{-4}$  mg/ml sur les effets cardiaques de l'adrénaline et de l'extrait hydroéthanolique de *Lippia multiflora* Mold.**

La Figure 13 montre que le propranolol réduit l'augmentation des amplitudes et fréquences de contractions induite par l'adrénaline. Cette augmentation est réduite presque de moitié avec le propranolol à  $10^{-4}$  mg/ml. En présence du propranolol à  $10^{-4}$  mg/ml, la perfusion du cœur isolé de crapaud avec l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* à 0,4

mg/ml ne provoque les augmentations de l'amplitude et de la fréquence des contractions que de  $13,97 \pm 2,08\%$ ,  $p < 0,01$ ) et ( $2,84 \pm 2,03\%$ ,  $p > 0,05$ ) respectivement (cardiogramme montre de la Figure 14 A, B et C). La Figure 15 montre que la courbe des effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* sur l'amplitude des contractions est remarquablement déplacée vers la droite en présence du propranolol à  $10^{-4}$  mg/ml alors que sur la fréquence des contractions cette courbe n'est presque pas déplacée.

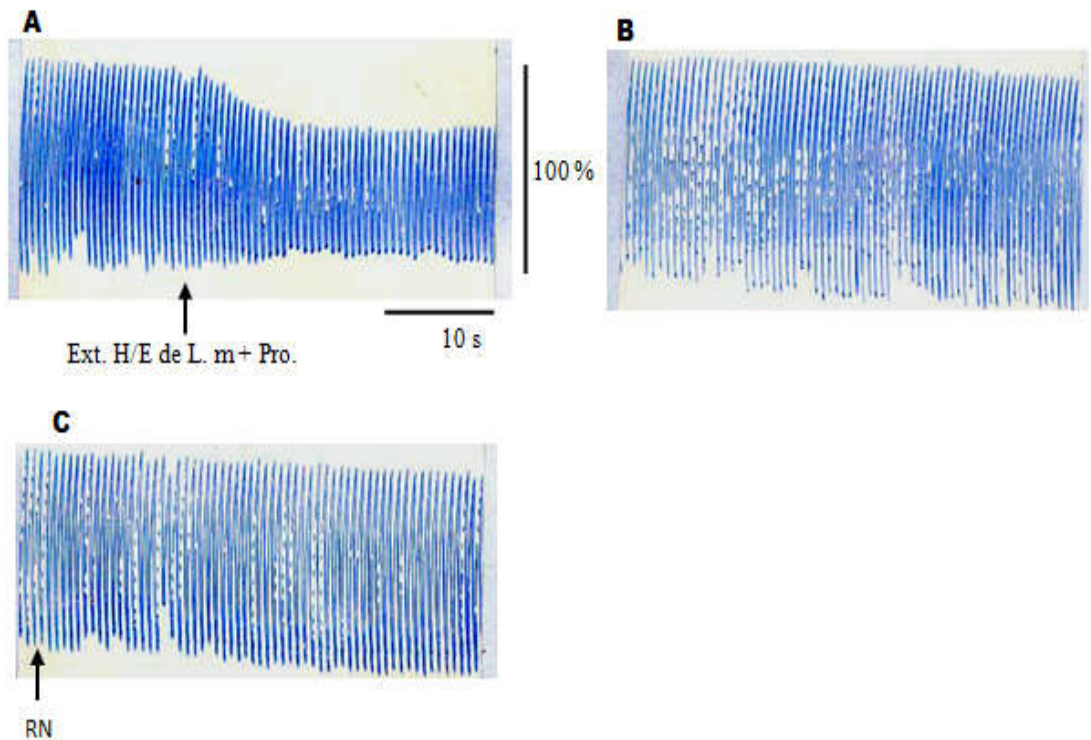


**Figure 13:** Effets de l'association adrénaline (Adr.) ( $10^{-6}$  mg/ml) – Propranolol (Pro.) ( $10^{-4}$  mg/ml) sur les contractions du cœur isolé de crapaud. **A:** Enregistrement témoin suivi des effets de l'association adrénaline (Adr.) ( $10^{-6}$  mg/ml)- Propranolol (Pro.) ( $10^{-4}$  mg/ml) ; **B:** Suite des effets de l'association adrénaline (Adr.) ( $10^{-6}$  mg/ml)- Propranolol (Pro.) ( $10^{-4}$  mg/ml) ; **C:** Retour au Ringer normal (RN).

**Effets de l'association extrait hydroéthanolique de *Lippia multiflora* Mold. – adrénaline sur la force et la fréquence des contractions du cœur isolé de crapaud**

La perfusion du cœur isolé de crapaud avec l'association extrait hydroéthanolique de *Lippia multiflora* Mold. (0,4 mg/ml) – adrénaline ( $10^{-6}$  mg/ml) provoque une augmentation de

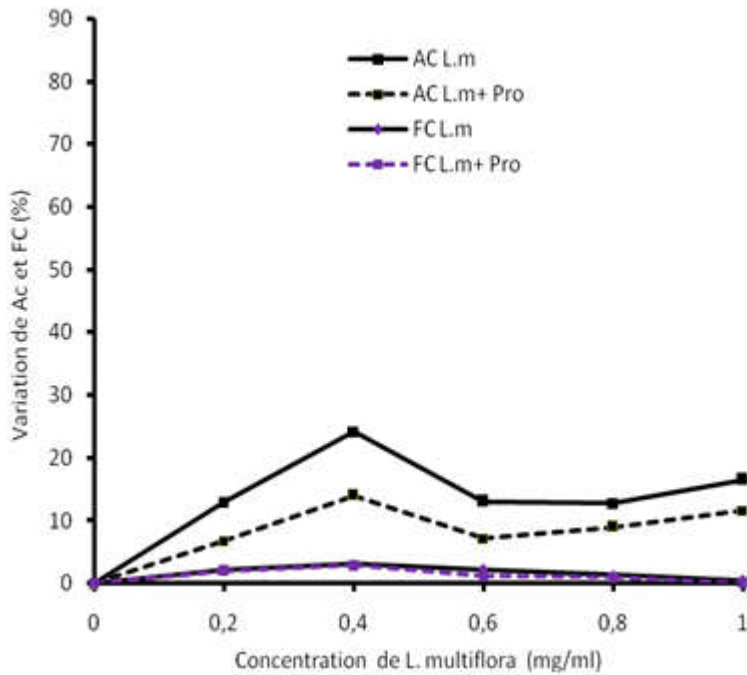
l'amplitude et de la fréquence des contractions cardiaques respectivement de  $102,91 \pm 1,64\%$ , ( $p < 0,001$ ) et de  $34,62 \pm 1,61\%$ , ( $p < 0,001$ ) (Figure 11 A, B et C). La Figure 12 montre que les courbes des effets de l'adrénaline sur l'amplitude et la fréquence des contractions sont chacune déplacées vers la gauche en présence de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* à 0,4 mg/ml.



**Figure 14:** Effets de l'association extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (Ext. H/E de L. m) (0,4 mg/ml) – Propranolol (Pro.) ( $10^{-4}$  mg/ml) sur les contractions du cœur isolé de crapaud.

**A:** Enregistrement témoin suivi des effets de l'association extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (0,4 mg/ml) - Propranolol ( $10^{-4}$  mg/ml) ; **B:** Suite des effets de l'association extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (0,4 mg/ml) - Propranolol ( $10^{-4}$  mg/ml) ; **C:** Retour au Ringer normal (RN).





**Figure 15:** Variation de l'amplitude (AC) et de la fréquence (FC) des contractions du cœur isolé de crapaud en fonction de la concentration de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* (L. m) à 0,4 mg/ml en absence et en présence du propranolol (Pro).

## DISCUSSION

L'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* induit, comme l'adrénaline, une augmentation de l'amplitude et de la fréquence des contractions du cœur isolé de crapaud. Les deux préparations provoquent donc des effets inotrope (plus prononcés) et chronotrope positifs. Ces effets pourraient être dus principalement à la présence des stéroïdes dans cette plante. En effet, les stéroïdes sont réputés cardiotoniques (Quenum, 2014). Par contre, une étude antérieure a montré que l'extrait aqueux de cette plante provoque des effets inotrope et chronotrope négatifs (Etou Ossibi et al., 2005). Les effets de l'extrait hydroéthanolique semblent être moins prononcés que ceux de l'adrénaline. L'adrénaline provoque ces effets en se fixant sur les récepteurs  $\beta$ 1-

adrénergiques cardiaques avec pour conséquence l'influx d'ions calcium consécutif à l'ouverture des canaux calciques de type lents (D'alché, 2003, Islam khan, 2005). L'entrée des ions calcium dans la cellule myocardique déclenche la libération de calcium par le réticulum sarcoplasmique, nécessaire à l'activation des protéines contractiles (Jackson William, 2000 ; D'alché, 2003). Il est probable que l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* agisse suivant le même mécanisme. Kadissoli (2012) a montré aussi l'interférence d'un extrait de plante (*Trema guinensis*) avec la mobilisation de calcium. La solution de ringer sans calcium provoque l'arrêt des contractions cardiaques. Ce résultat confirme, dans nos conditions expérimentales, l'utilité du calcium extracellulaire dans le déclenchement des

contractions cardiaques. L'arrêt du cœur observé lorsque celui-ci est perfusé avec l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* ou avec l'adrénaline en solution de Ringer sans calcium suggère que comme l'adrénaline cet extrait provoquerait les effets inotrope et chronotrope positifs par influx d'ions calcium (D'alché, 2003 ; Islam Khan, 2005). Ce mécanisme semble être confirmé par deux résultats obtenus dans la présente étude : l'augmentation des effets inotrope positifs par perfusion du cœur avec l'extrait hydroéthanolique en solution de Ringer hypercalcique par rapport au Ringer normal et, l'absence de ces effets lorsque le cœur est perfusé avec cet extrait en présence du vérapamil.

Il est connu que le vérapamil se fixe sur les canaux calciques de type lent cardiaque en les bloquant (Shin, 2005 ; Tang, 2016) ; de ce fait il empêcherait l'influx calcique que provoquerait l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora*. Le propranolol réduit l'augmentation des amplitudes et fréquences des contractions du cœur induites par l'adrénaline. Le propranolol possède donc les propriétés  $\beta$ -bloquantes (Guimaraes et Moura, 2001 ; Samson, 2003 ; Boyer, 2004 ; Han, 2016).

Par ailleurs, les résultats de la présente étude montrent que le propranolol à  $10^{-4}$  mg/ml déplace vers la gauche la courbe des effets de l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* sur l'amplitude et la fréquence des contractions du cœur. Il s'oppose aux effets inotrope surtout et chronotrope positifs induit par l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* sur le cœur isolé de crapaud ; il y'a donc un antagonisme, probablement de type compétitif entre les deux préparations. Cet antagonisme laisse supposer la présence des substances  $\beta$ 1-adrénergiques dans l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora*. Comme l'adrénaline, ces substances se fixeraient sur les récepteurs  $\beta$ 1-adrénergiques cardiaques puis

augmenteraient l'influx d'ions calcium par l'ouverture des canaux calciques lents des cellules du myocarde ; ce qui provoque des effets inotrope et chronotrope positifs observés.

L'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* augmente les effets inotrope et chronotrope positifs induits par l'adrénaline; il potentialise donc les effets de l'adrénaline.

### Conclusion

Les résultats de la présente étude suggèrent que l'extrait hydroéthanolique de *L. multiflora* provoque les effets inotrope et chronotrope positifs suivant le même mécanisme que l'adrénaline. Cependant une étude avec des modèles plus élaborés mérite d'être réalisée.

### CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêts pour cet article.

### CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

AWEO, RDGEI et CJM ont apporté les crapauds, réalisé les différents tests de la présente étude et ont rédigé le manuscrit de cet article. JN et GFNN ont fait les analyses statistiques, tracé les courbes et ont fait des remarques et suggestions à ce manuscrit. JMO et AAA sont les responsables scientifiques de nos deux laboratoires. Ils ont dirigé et orienté les différents tests réalisés. Ils assurent la commande des produits et réactifs de nos laboratoires. Ils ont par ailleurs apporté des corrections à ce manuscrit.

### REFERENCES

- Abena AA, Atipo-Ebata JK, Honi Assah T, Diatwa M. 2001. Psychopharmacological properties of crude extract and essential oil of *Lippia multiflora*. *Encephale*, **27**(4): 360-364.
- Abena AA, Ouamba JM, Keita A, Bogodogo F, Yala F. 2002. Propriétés chimiques,

- antibactériennes et antifongiques de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* Moldenke. *Revue Médecine Pharmacopée Africaine*, **16** : 31 – 37.
- Abena AA, Diatwa M, Gakosso G, Gbeassor M, Hondi-Assah T, Ouamba JM. 2003. Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory effects of essential oil of *Lippia multiflora*. *Fitoterapia*, **74**(3): 231-236.
- Abena AA, Etou Ossibi AW, Goulally Tsiba, Okemy Andissa N, Oumba J.M. 2017. Etude monographique de *Lippia multiflora* Moldenke (Verbenaceae). *Phytothérapie*, **15**(1): 27-32.
- Bassole IH, Guelbeogo WM, Nebie R, Costantini C, Sagnon N, Kabore ZI, Traore SA. 2003. Ovicidal and larvicidal activity against *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* complex mosquitoes of essential oils extracted from three spontaneous plants of Burkina Faso. *Parassitologia*, **45**(1): 23-26.
- Boyer M. 2004. Enquête de pratique à propos de la prescription des bêtabloquants par les médecins généralistes. Mémoire pour la validation du stage chez le praticien, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon-Grange-Blanche, 24 p.
- Bouagnon R, Yeo D, Kouassi K, Beugre K, Djaman JA, Nguessan JD. 2015. Hepatoprotective effect of aqueous extract of *Lippia multiflora* Leaves against ethanol-induced Toxicity in Wistar Rats. *European Journal of Medicinal Plants*, **7**(3): 146-155.
- D'alché EP. 2003. Comprendre la Physiologie Cardiovasculaire (2è édition). Flammarion-Médecine-sciences: Paris; 173-191
- Etou Ossibi AW, Nzonzi J, Mombouli JV, Nsonde – Ntandou GE, Ouamba JM, Abena AA. 2005. Screening chimique et effets de l'extrait aqueux du *Lippia multiflora* Moldenke sur le cœur isolé du crapaud. *Phytothérapie*, **5**: 193 – 199.
- Etou Ossibi AW, Dimo T, Elion Itou RDG, Nsonde Ntandou GF, Nzonzi J, Bilanda DC, Ouamba JM, Abena AA. 2012. Effets de l'extrait aqueux de *Lippia multiflora* Moldenke sur l'hypertension artérielle induite par le DOCA-sel chez le rat. *Phytothérapie*, **10**(6): 363 – 368.
- Etou Ossibi AW. 2010. Effets cardiovasculaires et antioxydants des extraits de *Lippia multiflora* Moldenke. Thèse de Doctorat Unique, Université Marien Ngouabi, Brazzaville, p. 198
- Etou Ossibi AW, Elion Itou RDG, Nsonde Ntandou GF, Dimo T, Ouamba JM, Abena AA. 2014. Effets de l'extrait aqueux de *Lippia multiflora* Moldenke (Verbenaceae) sur la pression artérielle, la fréquence cardiaque et les ondes de l'électrocardiogramme chez le rat normotendu. *Revue CAMES-Série Pharm. Méd. Trad. Afr.*, **17**(1): 1-9.
- Guimaraes S, Moura D. 2001. Vascular adrenoceptors ; an update. *Pharmacol Rev.*, **53**: 319-356.
- Han SO, Pope R, Li S, Kishnani PS, Steet R, Koeberl DD. 2016. A beta-blocker, propranolol, decreases the efficacy from enzyme replacement therapy in Pompe disease. *Mol. Genet. Metab.*, **117**(2):114-119.
- Hondi – Assah T, Abena AA, Kokolo J, Badila C, Diatwa M. 2003. Effets hépatoprotecteurs de *Lippia multiflora* et d'un phytomédicament Congolais: le Tetra®. *Phytothérapie*, **5**: 2-7.
- Hondi-Assah T. 2004. Contribution à l'étude des effets de *Lippia multiflora* et d'une recette de la pharmacopée traditionnelle congolaise, le Tétrà, sur le foie des rats. Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences, Université Marien Ngouabi, Brazzaville, p. 123.
- Islam Khan, Mabayoje A, Oriowo, Chandrasekhar B, Kadavil EA. 2005. Attenuated Noradrenaline-induced contraction of pulmonary arteries from rats treated with monocrotaline : role of

- Rho kinase. *Journal of Vascular Research*, **42**: 433-440.
- Jackson William F. 2000. Ions channels and vascular tone. *Hypertension*, **35**(2): 137-178.
- Kadissoli B, Mouzou AP, Tekou E, Aklikokou A, Gbeassor M. 2012. Effet de l'extrait semi-éthanolique des feuilles de *Trema guineensis* (Celtidaceae) sur la musculature lisse du rat Wistar. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **6**(3): 985-994.
- Kunle O, Okogun J, Egamana E, Emojevwe E, Shok M. 2003. Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedicine*, **10**(1): 59 – 61.
- Ogwuche CE, Amupitan JO, Ndukwe GI. 2015. Antimicrobial activity of the leaf of the white species of *Sesamum indicum* from Benue State Nigeria. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **9**(2): 996-1003.
- Quenum CT, Ahissou H, Gouthon P, Laleye A. 2014. Etude de l'activité antihypertensive d'une association de plantes (*Schrankia leptocarpa*, *Garcinia kola* et *Ocimum americanum*) chez le rat Wistar. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **8**(6): 2685-2695
- Samson A, Peter AA, Lucy B, Nkechi ME, Abiodun O, Charles W, Isa MH, Karniyus SG. 2003. Hypotensive activity of ethanol of *Pavetta crassipes* leaves. *Biol. Pharm. Bull*, **26**(12): 1674-1680.
- Shin IW, Sohn JT, Kim HJ, Kim C, Lee HK, Chang KC, Chung YK. 2005. Etomidate attenuates phenylephrine-induced contraction in isolated rat aorta. *Canadian Journal of Anaesthesia*, **52**: 318-324.
- Tang L, Gamal El-Din TM, Swanson TM, Pryde DC, Scheuer T, Zheng N, Catterall WA. 2016. Structural basis for inhibition of a voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channel by Ca<sup>2+</sup> antagonist drugs. *Nature*, **537**(7618): 117-121.
- Umoh UF, Ekpo BAJ, Bala DN, Udobang JA, Cocobassey M, Etim EI. 2011. Phytochemical and comparative antidiabetic studies of leaf extracts of *Viscum album* from different plant hosts. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **5**(4): 1448-1454.