

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur

Et de la Recherche Scientifique

Université de Jijel

Faculté des sciences

Département de biochimie - microbiologie



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme

D'étude supérieur en biologie

Option : biochimie

Thème

L'effet anti-ulcèreux des extraits flavonoïdiques
de
Ranunculus repens L

Membre du jury :

Président : LEGHOUCHE Essaid

Examineur : LAHOUEL Mesbah

Encadreur: KEBIECHE Mohamed



Réalisé par :

AHMED AZZEM Wahiba

BOUNNECHE Gumra

LAIB Saïda

Promotion 2004/ 2005

Remerciement

Tout d'abord, nous remercions dieu le tout puissant pour ses grâces et nous l'invoquons
la pitié, la clémence et la miséricorde.

Dieu merci.

Nous exprimons nos plus sincères remerciements avec notre profonde gratitude à Mr
KEBIECHE Mohamed pour sa grande contributions à la réalisation de ce modeste travail.

Son aide précieuse et sa compréhension, qui nous a permis de travailler en confiance

Ses conseils objectifs et sa méthode impartielle qui nous a orienté le long de cette étude.

Sa générosité, sa gentillesse, ses encouragements sans cesse, sa disponibilité et sa veille sur
l'accomplissement de ce travail.

Nous tenons à remercier nos professeurs membres de jury pour avoir accepté de juger ce
modeste travail.

Nous tenons également à faire nos sincères remerciements pour leur aide précieuse et conseille
à messieurs :

- Dr LAHOUEL Mesbah.
- Dr BOUHI Ahcène : médecin général et allergologie générale.
- Dr MEKIDECHE : médecin en gastrologie.
- Dr : HAMADOUCHE : médecin général.

Nous remercions nos enseignants

- Mr LAIB Essaid
- Mme KAOULA. S
- Melle CHARBEL .A

Tous les techniciens du laboratoire de phytopharmacologie de faculté des sciences :

Assia, Sonia, Rachid et Yahia.

Et sans oublier les étudiants de magistère : Widad, Morad, Samia.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire
de fin d'étude et spécialement : Bousbiaa. A, sofiane, Bachir et Zahira.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Analyse Bibliographique	
I. La <i>Ranunculus repens L</i>	
1. Définition.....	2
2. Systématique et biologie de RRL.....	2
2.1. Systématique.....	2
2.2. Biologie.....	3
2.2.1. Description.....	3
2.2.2. Caractéristiques.....	3
II. Les Flavonoïdes	
1. Définition.....	5
2. Localisation.....	5
3. Classification et structures chimiques.....	5
4. La biosynthèse des flavonoïdes.....	8
5. Pharmacologie des flavonoïdes.....	10
5.1. Activité antioxydant.....	10
5.2. Au niveau vasculaire.....	10
5.3. Activité anti-inflammatoire.....	10
6. Pharmacocinétique des flavonoïdes.....	10
III. Physiologie et pathologie de l'ulcère	
1. Anatomie et biologie de l'estomac.....	11
1.1. Anatomie et histologie.....	11
1.2. Biologie cellulaire.....	12
1.3. Le suc gastrique.....	13
a- Composition hydro minérale.....	13
b- Composition organique.....	13
2. Pathologie de l'ulcère gastrique.....	13
2.1. Généralités.....	13
2.2. Anatomie pathologique.....	13
2.3. Les facteurs pathogéniques.....	14
2.4. Traitement de l'ulcère gastrique.....	15
2.4.1. Règles hygiéno - diététiques générales.....	15

2.4.2. Les médicaments	15
2.4.2.1. Les antiacides.....	15
2.4.2.2. Les médicaments protecteurs de la muqueuse.....	16
2.4.2.3. Médicaments visant à l'éradication d' <i>helico bacter pylori</i>	16
2.4.3. Psychothérapie.....	16
2.4.4. La chirurgie.....	16
2.5. Traitement traditionnel.....	16

Chapitre II : Matériel et Méthode

1. Matériel

1.1. Matériel végétal.....	17
1.2. Matériel animal.....	17

2. Méthodes

2.1. Extraction des flavonoïdes glucosidiques à partir de la RRL.....	17
Le séchage	17
Le broyage	17
L' extraction hydro- éthanolique.....	17
L'évaporation à sec	17
L'extraction liquide – liquide par des solvants non miscibles à l'eau	18
L'évaporation à sec.....	18
2.2. Substances médicamenteuses	20
2.3. Les solutions physiologiques.....	20
2.4. Préparation des solutions administrées.....	20
2.4.1. Préparation de solution flavonique.....	20
2.4.2. Préparation de la solution de l'Oméprazole	20
2.5. Traitement des animaux	21
2.5.1. Répartition des animaux.....	21
2.5.2. Administration des substances étudiées aux animaux	21
2.5.3. Sacrifice des animaux	22
a- Anesthésie des animaux	22
b- Dissection	22
2.6. L'observation anatomo pathologique	23
2.7. Dosage de l'acidité titrable (acidité Chlorehydrique)	23

Chapitre III : Résultats et Interprétation

Résultats et interprétations	24
1. Variation de l'acidité gastrique selon les différents traitements.....	24
2. Résultats de l'examen anatomo pathologique.....	29
Discussion	
Discussion	32
Conclusion	
Conclusion	35
Références bibliographiques	

Liste des abréviations

RRL	<i>Ramunculus repens L.</i>
« Vitaminique P »	vitamine de perméabilité.
HP	<i>Helico bacter pylori</i>
ED	Eau Distillée.
75°	75 degré alcoolique.
N	Normalité.
T°	Température
n	Nombre des rats.
mg/kg	Milligramme par kilogramme.
g/l	Gramme par litre.
C°	Degré celssuce.
L	Litre.
h	Heure.
R₁, R₂, R₃	Radicaux
pH	Potentiel en hydrogène
PGE	Prostaglandine endogène
AG	Acidité gastrique
p	Risque d'erreur
HCl	Acide chlore hydrique

Liste des Figures

- Fig.1 : *Remnenculus repens L.*
Fig.2 : Squelette de base des flavonoïdes.
Fig.3 : La biosynthèse des flavonoïdes.
Fig.4 : Anatomie de l'estomac.
Fig.5 : Coupe longitudinale au niveau de la paroi gastrique.
Fig.6 : L'ulcère de l'estomac.
Fig.7 : Protocole général de l'extraction des flavonoïdes.
Fig.8 : Photo représente l'étape de l'administration.
Fig.9 : Photo représente l'étape d'anesthésie d'animaux.
Fig.10 : Photo représente l'étape de dissection des rats.
Fig.11 : Photo montre la titration de l'acidité gastrique.
Fig.12 : Evaluation de l'acidité gastrique chez les rats ulcéreux.
Fig.13 : Variation de l'acidité gastrique chez les rats témoin, ulcéreux et chez les préventifs
Fig.14 : Variation de l'acidité gastrique chez les rats témoin, ulcéreux et chez les curatifs.
Fig.15 : Variation de l'acidité gastrique chez les rats témoin, ulcéreux et standard.
Fig.16 : Variation de l'acidité gastrique chez les rats témoin, ulcéreux, préventifs, curatifs et standard.
Fig.17 : Estomac d'un rat témoin.
Fig.18 : Estomac d'un rat traité par l'éthanol.
Fig.19 : Estomac d'un rat traité par les flavonoïdes en préventif
Fig.20 : Estomac d'un rat traité par les flavonoïdes en curatif.
Fig.21 : Estomac d'un rat traité par l'Oméprazole.

Liste des tableaux

- Tableau 1- Propriétés biologiques de la plante.
Tableau 2- Les différentes classes des flavonoïdes
Tableau 3- L'acidité gastrique chez les rats traités par l'alcool (75% 1 ml/kg/jour)
Tableau 4- L'effet d'un traitement préventif à base de flavonoïdes (20 mg/kg/jour) sur l'acidité gastrique (g.l)
Tableau 5- La valeur de l'acidité gastrique, obtenue après le traitement des animaux par les flavonoïdes (200 mg/kg/jour).
Tableau 6-Variation de l'acidité titrable chez les rats traités par l'Oméprazole à la dose 0,50 mg/kg.
Tableau 7- Tableau récapitulatif des résultats obtenus des différents traitements

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le moyen principal, voire l'unique prescription thérapeutique pour l'homme.

Au début de notre siècle, le développement de la chimie synthétique et la découverte des complexes processus de synthèse organique aboutirent à la mise en place d'une véritable production de remède chimio thérapeutiques.

Cependant le risque des effets secondaires de ces médicaments de synthèse augmente de jour en jour (1) (2) ; rajouté à cela l'apparition de nouvelles pathologies qui jusqu'à nos jours n'ont pas connu de traitement dans la pharmacopée contemporaine où nous pouvons citer le Cancer SIDA (Syndrome Immuno Déficitaire Acquis), les hépatites virales, les parasitoses, l'asthme, les problèmes cardiovasculaires ... ceci dit, il faudrait enrichir notre pharmacopée par de nouveaux médicaments pour satisfaire le besoin thérapeutique.

En effet les laboratoires pharmaceutiques tournent à nouveau leur intérêt vers les ressources naturelles et notamment les plantes à vertu thérapeutique qui constituent l'origine de milliers de constituants chimiques doués d'un pouvoir thérapeutique efficace tels que les métabolites secondaires à savoir : Les alcaloïdes, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes.

Parmi les maladies qui résistent encore à une thérapeutique pharmaceutique nous citons en l'occurrence l'ulcère gastrique qui est considéré une pathologie fréquente et rebelle dans le monde et particulièrement dans notre pays vu les changements socio économique et politique que traverse notre société. Cette situation attire l'attention des médecins et des chercheurs afin de retrouver d'autres remèdes d'activité antiulcéreuse. C'est dans cette objectif que s'inscrit notre étude qui consiste à investir la plante *Ranunculus repens L.* reconnue par sa richesse en flavonoïdes dans le but de découvrir une éventuelle activité antiulcéreuse. Pour cela nous avons induit l'ulcère gastrique chez les animaux de laboratoire et administré nos extraits en préventif et en curatif.

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. La *Ranunculus repens* L

1. Définition

La *Ranunculus repens* L (RRL) est probablement le plus ennuyeux de plusieurs membres de la famille de *Ranunculaceae* qui sont des mauvaises herbes (3). La famille des *Ranunculaceae* qui, selon les botanistes, comprendrait une quarantaine de genres et 1500 à 1800 espèces (4). (Fig .1)

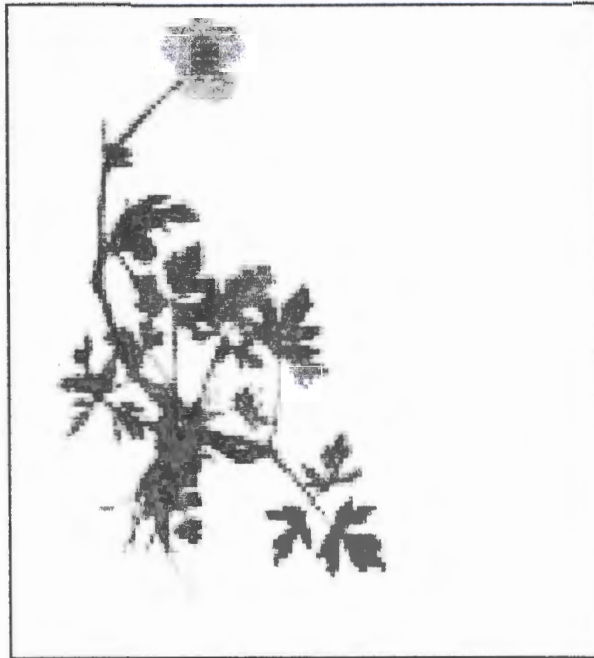


Fig.1 : *Ranunculus repens* L (5).

2. Systématique et biologie de RRL

2.1. Systématique

L'origine du nom de *Ranunculus* signifie petite grenouille car certaines espèces, vivent dans des endroits marécageux. Les données taxonomiques de la plante sont les suivantes:

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Ranunculoïdes
Série	Thalamiflores
Ordre	Dialycarpiques
Famille	Ranunculaceae/ renonculacées
Tribus	Renonculées
Genre	Ranunculus
Espèce	Ranunculus repens L
Nom commun	Renoncule rampante (3).

2.2. Biologie

2.2.1. Description

La description et les propriétés biologiques de la *RRL* sont récapitulées dans le tableau 1.

2.2.2. Caractéristiques

- Plante pérenne se multipliant par stolon, floraison de mai à juillet.
- Les renoncules sont trouvées le plus souvent dans les pâturages de terre en contre-bas et dans des secteurs humides (3), dans les lieux ombragés (prairies, jardins, chemins) et dans des endroits marécageux (7).
- La plupart des espèces de renoncule écartent par la graine, par le mouvement avec le foin et également par des tiges de rampement, **Et** ainsi par ces moyens communs de dispersion, elles continuent à envahir de nouveaux champs et nouvelles régions (3).
- La plante toxique à l'état frais, elle possède des propriétés irritantes : L'agressivité du suc de ces espèces pour la peau et les muqueuses, elle peut provoquer des brûlures buccales si elle est mâchée. Une fois séchée, la plante est moins toxique (7).

Toutes les espèces de renoncule contiennent probablement la même toxine appelée le proto anémone, sa quantité produite dépend de l'étape de croissance et l'espèce de la renoncule (3).

Tableau 1 – Propriétés biologiques de la plante.

Description de la semence	<ul style="list-style-type: none"> - Dimension : 2,0 x 2,0 – 3,5 mm - Couleur : Jaune – brun - Forme : Lenticulaire (un côté plus bombé que l'autre), marginée à bec grêle en crochet de 0,5 à 1mm. - Ornementation : Paroi verruqueuse - Fruit contenant les graines : Akène (3).
Description de la plantule	<ul style="list-style-type: none"> - Cotylédons allongés en forme de cuillère - Feuilles divisées, palmées (3).
Description de la plante adulte	<ul style="list-style-type: none"> - Hauteur : 30 à 40 cm - Tige florifère ascendante, plusieurs fois divisée sillonnée - Feuilles sont divisées en 3 lobes dentés attachés à de longues tiges, elles sont velue (3). Radicales longuement pétiolées, caulinaires supérieures petites presque sessiles (6). - Les fleurs de renoncule sont la plupart du temps jaunes, régulières et voyantes. - Les différents fruits sont petits, ovales, lisses habituellement à cornes, accroché et ont arrangé dans une tête (3).

II. Les Flavonoïdes

1. Définition

Les flavonoïdes sont des pigments universels des végétaux. Presque toujours hydrosolubles (8), appartenant à la famille des polyphénols trouvés dans les fruits et les légumes. Ils sont responsables de la coloration (9).

Bien que le vert soit la couleur prédominante du monde végétal, c'est la coloration chatoyante des pétales de fleurs, des fruits, des bractées ou éventuellement des feuilles qui attirent surtout l'homme et une foule d'animaux (10), ainsi efficacement guident les insectes vers le nectar et donc contraints à assurer le transport du pollen, ils assurent également la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultra violet (8).

2. Localisation

Les flavonoïdes sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des fleurs où sa concentration est maximale, car la lumière stimule leur biosynthèse, ils peuvent être dissous dans les sucs vacuolaires ou présents dans la zone epicuticulaire, à la surface des feuilles ou des fruits (11) (8).

3. Classification et structures chimiques

Les flavonoïdes peuvent être regroupés en une quinzaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central (8). Les flavonoïdes sont dérivés du phényle propane avec une composition de base $C_6-C_3-C_6$ (10) (Fig. 2).

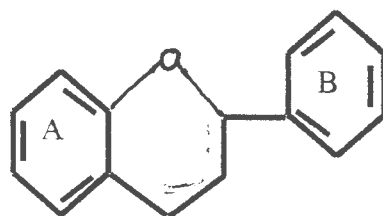
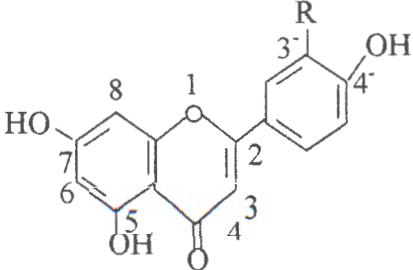
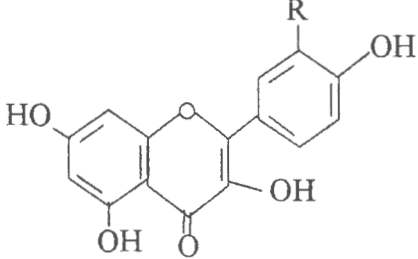
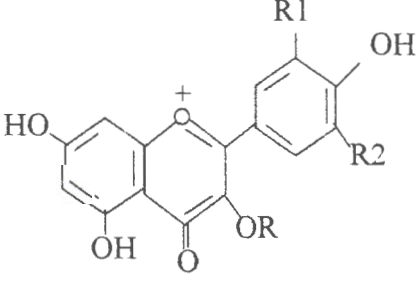
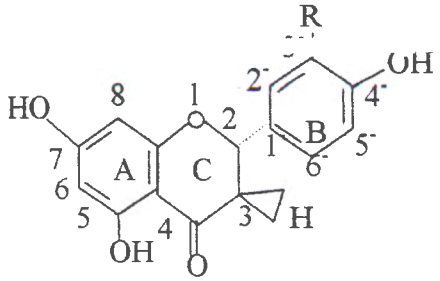
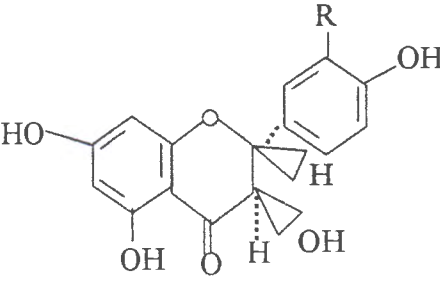
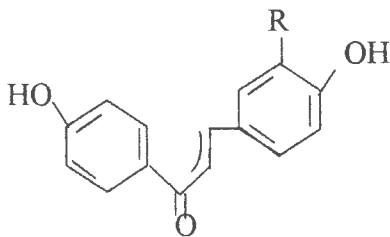
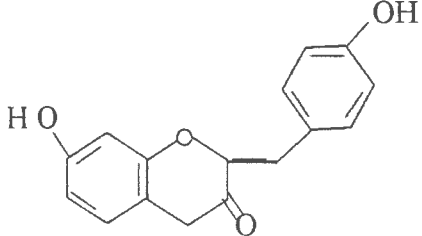


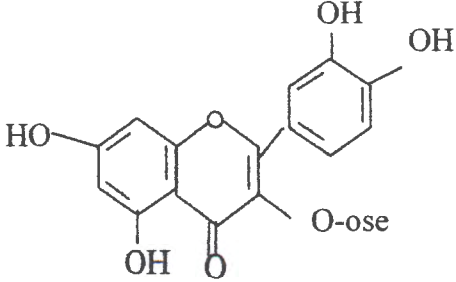
Fig.2 : Squelette de base de flavonoïdes (12).

Les principaux classes de flavonoïdes et leurs dérivés sont présentés dans le tableau 2

Tableau 2 – Les différentes classes des flavonoïdes

Les classes	Structure chimique	Les propriétés
Flavone Et flavonol	 <p style="text-align: center;">Flavone</p> <p>R = H, apigénol R = OH, lutéolol</p>	1- Le squelette original du groupe est une flavone dans laquelle la liaison C3 a formé un noyau Hétérocyclique pyrane totalement réduit. 2- Possèdent un groupement hydroxyle en 5 et 7 ou dans certains cas une substitution d'un groupement méthoxy sur le noyau A. 3- Absorbent fortement dans la région de l'ultra violet B du spectre (10).
	 <p style="text-align: center;">Flavonol</p> <p>R = H : Kaempférol R = OH : quercétol</p>	
Anthocyanes et anthocyanidines	 <p style="text-align: center;">Anthocyanes</p> <p>R= H R1= OCH3 R2= OCH3 } Malvidine</p>	1- Les anthocyanidines sont les aglycones des anthocyanes (glucosides) (13). 2- Les anthocyanes sont des pigments hydrosolubles qui se trouvent dans le suc vacuolaire. 3 - Les anthocyanes facilement extraits dans une solution faiblement acide ; et leurs couleurs sont sensibles au pH (13). 4- Les anthocyanes absorbent fortement entre 475 et 560 nm, et transmettent les lumières bleues et rouges (10). 5- Ce sont des flavonoïdes les plus colorés, responsables de la coloration rose, violet et bleu.

<p>Flavanones et dihydroflavonols</p>	 <p style="text-align: center;">Flavanones</p> <p>R=H, naringétole R= OH, ériodictyol</p>	<p>1- Sont caractérisées par l'absence de double liaison en 2,3 et par la présence de centres d'asymétrie.</p> <p>2- Les flavanones naturelles le carbone 2 est normalement de configuration 2S (8).</p> <p>3- Incolores, absorbent dans l'ultraviolet et donnent aux pétales de nombreuses fleurs un aspect nacré dont les reflets sont ivoire ou crème (9).</p>
	 <p style="text-align: center;">Dihydroflavonols</p> <p>R= H, Dihydro Kaempférol R=OH, dihydroquercétol</p>	
<p>Chalcones et Aurones</p>	 <p style="text-align: center;">Chalcones</p> <p>R= H, isoliquisitigénine R= OH, butéine</p>	<p>1- Les chalcones, dépourvues de l'hétérocycle central, sont caractérisées par la présence d'un chaînon tri carboné, cétonique α, β insaturé.</p> <p>2- Les aurones sont caractérisées par une structure de 2-benzylidénecoumarone (8).</p> <p>3- Contribuent à la coloration jaune de certaines fleurs (10).</p>
	 <p style="text-align: center;">Aurones hispidol</p>	

<p>Hétérosides flavonoïdiques</p>	 <p>Ose = Rhamnose, quercitroside Ose = galactose, hyperoside Ose = glucose, isoquercitroside</p>	<ul style="list-style-type: none"> - La partie osidique peut être mono, di ou tri saccharidique. - La variabilité structurale augmente avec les hétérosides dont la partie osidique est un des disaccharide ou trisaccharide. - La liaison glycosidique est située en position 3 ou 7. - Les carbohydrates peuvent être L- rhamnose, D- glucose- gluco-rhamnose, galactose ou arabinose (8).
-----------------------------------	--	--

4. La biosynthèse des flavonoïdes

La structure des flavonoïdes apparaît bien dans celle des chalcones (8).

Les flavonoïdes proviennent de la conjugaison de deux voies shikimate et acétate malonate.

- La voie de l'acide shikimique conduit aux acides cinnamiques et à leurs dérivés tels que coumarines, acétophénones, phényle propénoïque.
- La voie de l'acétate conduit, par cyclisation d'un poly acétate, aux chromânes, arcinols et autres quinones.
- La participation simultanée de ces deux précurseurs à un même processus conduit pour sa part aux flavonoïdes(4).

La biosynthèse des flavonoïdes se fait par la condensation d'un tri acétate (noyau A) et d'un acide cinnamique (noyau B), la cyclisation engendrant le cycle pyranique central, l'étape clé « Condensation » de la formation des flavonoïdes est catalysée par chalcone synthase, le produit de la réaction est une chalcone qui présente la 4,2,4,6- tétra hydroxy chalcone (8). Par l'action d'enzymes, cet chalcone de couleur jaune est métabolisée en différentes classes des flavonoïdes. Des étapes ultérieures surtout la glycosylation et d'acylation, amènent les flavonoïdes à la forme définitive dans la quelle ils se trouvent in-vivo (fig.3) (14).

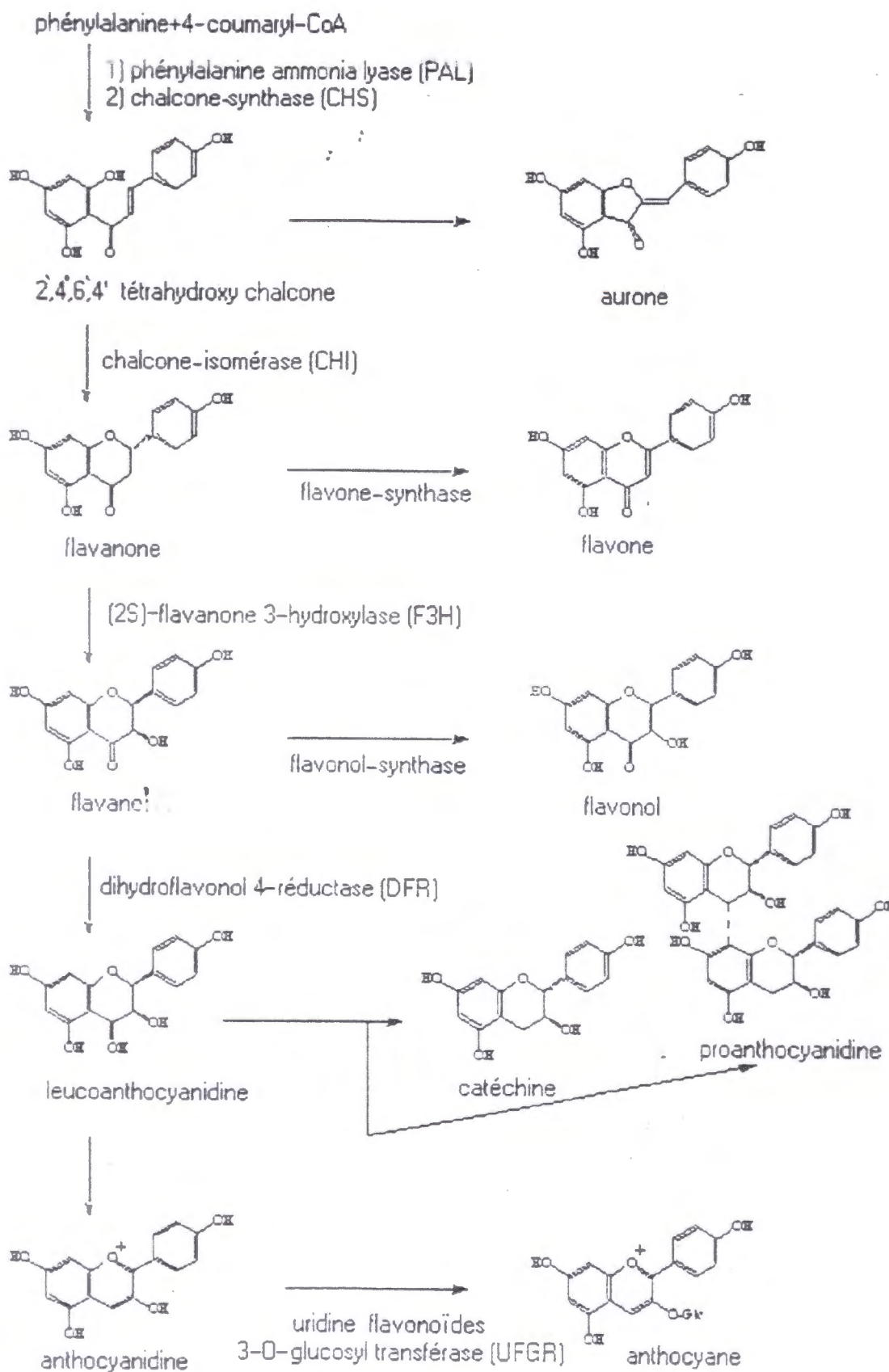


Fig.3: La biosynthèse des flavonoïdes (12).

5. Pharmacologie des flavonoïdes

Les activités des flavonoïdes sont largement étudiées, ils jouent un rôle très important dans le domaine médical.

5.1. Activité anti oxydante

Les flavonoïdes ont une capacité anti-oxydante, cette faculté dépend de son affinité pour les radicaux libres et donc de sa structure, la présence de deux hydroxyles en ortho sur le noyau B, la conjugaison du noyau B au groupe oxo en 4 via la double liaison en 2, 3 sont des éléments favorables (15).

5.2. Au niveau vasculaire

La principale activité aux flavonoïdes est une propriété « vitaminique P », ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance (16).

5.3. Activité anti- inflammatoire

L'activité anticyclooxygenase entraînerait de ce fait une diminution de la libération des médiateurs de l'inflammation, l'inhibition de la lipooxygenase et par conséquent de la libération de leucotrienes expliquerait l'action analgésique des flavonoïdes (16).

Il existe d'autres propriétés de flavonoïdes : Antidiabétiques, antiallergiques, anti spasmodiques, hypocholestérolémiants, diurétiques, antibactériens et antiviraux (8).

6. Pharmacocinétique des flavonoïdes

Après ingestion orale, les flavonoïdes aglycones peuvent être directement absorbés au niveau de l'intestin grêle. Alors que les formes glucosides doivent être hydrolysées (sous l'influence des glucosidases) par la flore intestinale au niveau du côlon (17) qui est responsable de la dégradation des flavonoïdes en acides phénoliques.

Les flavonoïdes qui traversent la muqueuse intestinale sont en majorité transportées jusqu'au foie via la veine porte, sous forme liée à l'albumine. Le foie modifie les flavonoïdes et leurs métabolites : Il peut les méthyler, réduire le groupement carbonyle de l'hétérocycle et changer le nombre et la position des groupements hydroxyles ou encore produire des dérivés conjugués avec un sulfate ou un acide glucuronique (18). Les dérivés conjugués des flavonoïdes sont excrétés selon l'espèce, dans l'urine et surtout dans la bile (19).

III. Physiologie et pathologie de l'ulcère

1. Anatomie et biologie de l'estomac

1.1. Anatomie et histologie

L'estomac est le premier organe abdominal du tube digestif (20), occupe la plus grande partie de la loge phrénique gauche de la cavité abdominale, sa capacité est de 1 à 1,5L (21) grossièrement en forme de poire, il est généralement décrit comme formé de 3 parties : La grosse tubérosité ou fundus est la région la plus proximale, située à gauche du cardia, le corps gastrique représente la partie centrale de l'organe, et l'antrum son quart distal (20) (fig.4).

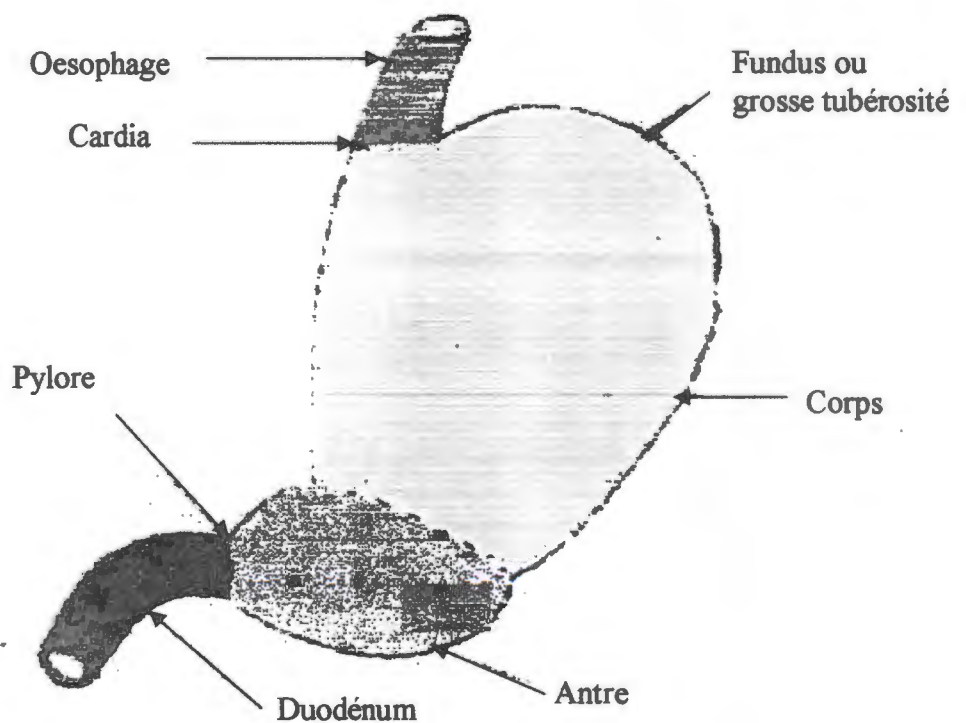


Fig.4 : Anatomie de l'estomac (22).

Sur le plan histologique, la paroi de l'estomac est constituée de 4 couches tissulaires :

a- La séreuse superficielle : Correspondant le mésothélium du péritoine viscéral reposant sur mince couche de tissu conjonctivo - vasculaire, ayant un rôle protecteur (21) (22).

b-La musculuse : La musculature de l'estomac est particulièrement puissante pour assurer le brassage puis l'évacuation des aliments. Formé de 3 couches, superficielle longitudinale circulaire moyenne et oblique ou plexiforme profonde (21).

c-La sous muqueuse : Couche épaisse faite d'un conjonctif fibro cellulaire contenant quelques fibres élastiques et surtout un important réseau artérioveineux plexiforme profond connecté avec le réseau vasculaire muqueux (20).

d-La muqueuse : En contact avec lumière (ou cavité) gastrique, elle est formée d'une monocouche cellulaire ou épithélium gastrique, recouvrant un tissu conjonctif appelé chorion. Cet épithélium s'invagine dans le chorion, les cellules de l'épithélium sont responsables de la sécrétion du suc gastrique (20) (fig.5).

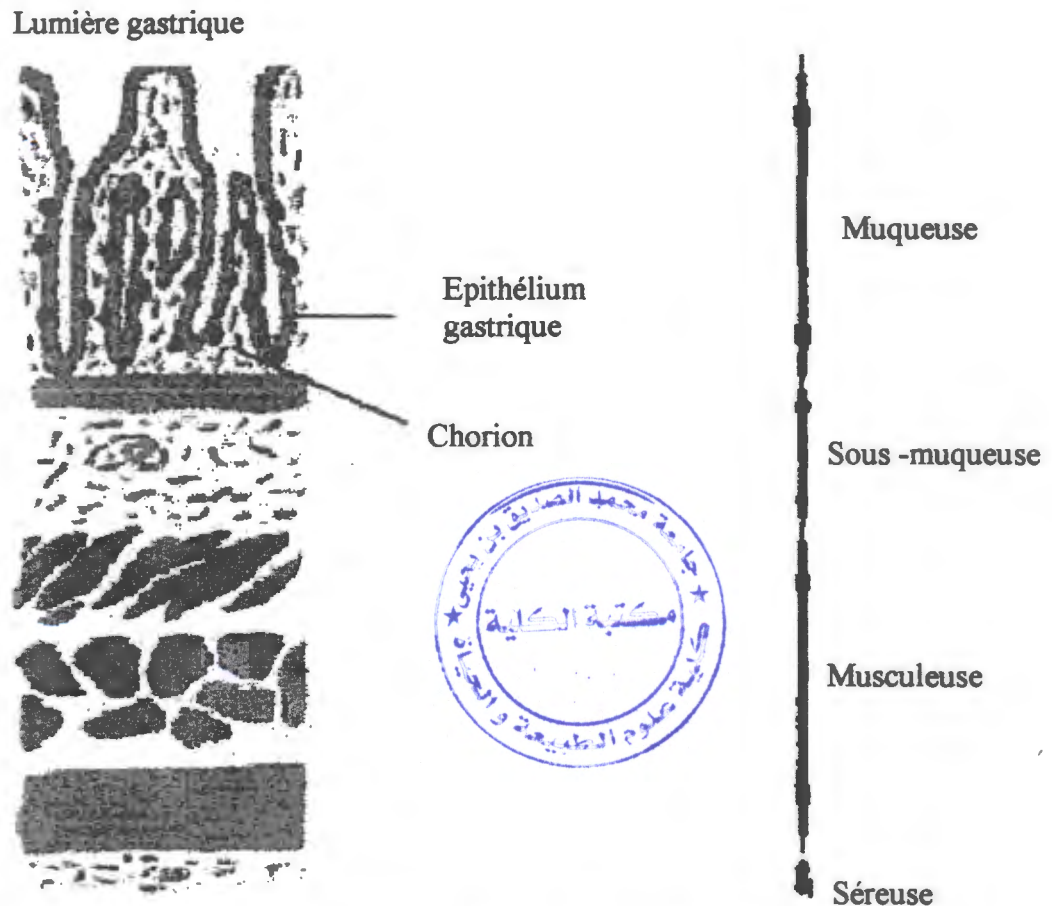


Fig.5 : Coupe longitudinale au niveau de la paroi gastrique (22).

1.2. Biologie cellulaire

a- Les cellules à mucus : Elles recouvrent la surface muqueuse et l'orifice des glandes gastriques, elles produisent notamment du mucus et des bicarbonates.

b- Les cellules principales : Elles sont les plus nombreuses dans les 2/3 profonds des glandes fundiques, riches en réticulum endoplasmique granuleux, elles synthétisent, stockent et exportent des poly peptides enzymatiques : Les pepsinogènes.

c- Les cellules pariétales : Elles sont localisées dans la partie profonde des glandes fundiques, ces cellules sont très riches en mitochondries, ce qui suggère qu'elles sont capables d'un effort énergétique important et par les modifications morphologiques qu'elles subissent, elles sécrètent de l'acide chlorhydrique et du facteur intrinsèque (21).

d- Les cellules endocrines et paracrines : Elles sont abondantes, surtout dans les glandes antrales, elles renferment au pôle basal de nombreux granules sécréteurs renferment des peptides

(gastrine, somatostatine) ou des amines. Ces cellules présentes parfois des prolongements cytoplasmiques en contact direct avec les cellules exocrines telles que les cellules pariétales (20).

1.3. Le suc gastrique : Joue un rôle modeste dans la digestion, c'est un liquide incolore, légèrement visqueux, sécrété à raison de 1 à 1,5 L par jour, le débit étant rythmé par les repas. (21).

a- Composition hydro minérale : Le suc gastrique renferme des ions K^+ , Cl^- , Na^+ , Co_3H^- . Les bicarbonates n'atteignent une concentration notable qu'à l'intérieur de la mince couche de mucus qui recouvre l'épithélium.

Les concentrations en H^+ et en Na^+ varient en sens inverse en fonction du débit de suc gastrique : lorsque le débit augmente, la concentration en H^+ augmente et celle en Na^+ diminue. On explique ce phénomène par la « théorie de double composant » selon laquelle, le suc gastrique résulte du mélange de deux sécrétions : La sécrétion « acide primaires » produite par les cellules pariétales, et la sécrétion « alcaline primaire » produite par les cellules muqueuses (20).

b- Composition organique : Il comporte des protéines du plasma (en particulier de l'albumine des immunoglobuline), des activités enzymatiques (pepsinogènes et pepsines produit par les cellules principales), des gluco protéines (sécrétées par les cellules muqueuses), le facteur intrinsèque (glyco protéine à faible teneur en glucides sécrétées par les cellules pariétales) et surtout une riche sécrétion acide (21).

2. Pathologie de l'Ulcère Gastrique

2.1. Généralités

L'ulcère gastrique est une perte de substance arrondie ou ovalaire de taille variable de la muqueuse de l'estomac provoqué par une rupture d'équilibre entre la sécrétion chlorhydropeptique et la résistance de la paroi digestive (23), selon leur mode d'apparition et leurs caractères évolutifs existent des ulcères aigus et des ulcères chroniques (24).

L'ulcère est une maladie fréquente frappant 5% des individus à un moment quelconque de leur existence (24), dont la fréquence diminue chez l'homme tandis qu'elle augmente chez la femme de façon régulière depuis quelque décennies (25).

2.2. Anatomie pathologique

L'ulcère gastrique est caractérisé par les critères suivants :

- Il siège à la jonction des muqueuses antrale et fundique dans près de 90% des cas sur la petite courbure, la répartition des différentes localisations est la suivante : Antre (50%), corps (25%), pylore (16%) et cardia (5%).
- Sa forme est le plus souvent régulière, arrondie ou ovalaire parfois linéaires ou fusunaire au niveau du pylore, le fond est scléreux induré avec épaissement blanchâtre de la séreuse.

- La taille moyenne de l'ulcère est comprise entre 15 et 25 mm pouvant dépasser 40 mm (25) (fig.6).



Fig.6 : L'ulcère de l'estomac (26).

2.3. Les facteurs pathogéniques

La physiopathologie de la maladie ulcéreuse est encore loin d'être connue avec précision, la phrase classique « Pas d'acide... Pas d'ulcère » peut être acceptée dans de très nombreux cas. Cependant l'apparition de cette affection est facilitée localement par :

a- L'hyper sécrétion Chlorhydropeptique : Et plus particulièrement l'ion H^+ sont considérés comme le facteur agressif primordial, la concentration des ions H^+ étant un million de fois supérieur dans la lumière gastrique que dans le milieu intérieur, le pH du concentration peut provoquer des lésions cellulaires, et c'est ainsi que en dehors de l'estomac (c'est à dire en dehors de la zone muqueuse conçue pour résister à cette agression) (21).

b- Défaillance des mécanismes de défense : L'altération de la barrière muqueuse dont la diminution de la différence de potentiel transépithélial est un facteur majeur de l'ulcérogénèse particulièrement au niveau gastrique (25) les modifications qualitatives ou quantitatives du mucus présentent un aspect granulaire et inhomogène, l'augmentation de sa teneur en glycoprotéines de faible poids moléculaire rend compte de la diminution de ses propriétés de gélification et de viscoélasticité (23). L'altération du revêtement épithélial de surface le rend plus perméable et fonctionnellement déficient vis à vis de l'agression acide.

c-*Helico bacter pylori* (Hp) : Précédemment appelé *Campylobacter pylori*, est le nom donné à des bactéries spiralées, Gram négatif, dont le milieu écologique chez l'homme est exclusivement la muqueuse gastrique (20) (27). L'affaiblissement des défenses de la muqueuse semble bien être le principal mécanisme par lequel *Hp* favoriserait l'apparition d'ulcères, il provoque des modifications de structure du mucus par les enzymes qu'il sécrète notamment une uréase, et altère l'épithélium de revêtement par les toxines cytopathogènes qu'il produit (20).

d- Facteurs génétiques : La maladie ulcéreuse est une affection à hérédité récessive liée au sexe (28), révélée plus élevée chez les personnes du groupe sanguin O que chez les sujets du groupes A,B ou AB (29).

e- Effets médicamenteuses : Comme l'aspirine et les anti-inflammatoires non stéroïdiens en prise unique ou lors de traitement chronique, sont responsables de poussés évolutives d'ulcère gastrique et de complications comme l'hémorragie, perforation (29).

f- Facteur environnement : Le tabagisme augmente le risque de maladie ulcéreuse par l'élévation de la sécrétion de l'acide gastrique (25).

g- Facteurs psychologiques : Le stress, par le biais de facteurs neuro psychiques observé lors d'état de choc ou de traumatisme (29).

2.4. Traitement de l'ulcère gastrique

La suppression de l'acidité gastrique et la protection de la barrière muqueuse gastrique, est un concept non encore parfaitement élucidé, sont susceptible de cicatrifier la plupart des ulcères gastriques mais la guérison de la maladie ulcéreuse reste encore illusoire (20).

2.4.1. Règles hygiéno –diététiques générales

Le repos est nécessaire lors des poussés très douloureuses (28). Le régime alimentaire se contentera habituellement d'exclure seulement les mets agressifs pour l'estomac (épices, condiments, vin blanc, alcool), le tabac (surtout à jeun). Il comprendra plusieurs petits repas pris à intervalles réguliers dans la journée (23).

2.4.2. Les Médicaments :

Les médicaments sont classés en :

2.4.2 .1. Les anti-acides

a- Les anti-sécrétoires : Les anti-histaminiques H₂ : En bloquant les récepteurs de l'histamine sur la cellule pariétale, ils bloquent les mécanismes de stimulation de la sécrétion acide exemple la Cimétidine (Tagmet^(R)), la Ranitidine (Azantac^(R)), Famotidine (Pepdine^(R)).

Les inhibiteurs de la pompe à protons : Le système de la pompe à protons règle l'excrétion des ions H⁺ au niveau des canaux apicaux de la cellule pariétale, exemple : Lanzoprazole (Ogast^(R)), l'Oméprazole (Mopral^(R)) dont l'action exerce un blocage directement à l'intérieur de la cellule sur l'ATPase spécifique membranaire, permettant l'élimination de l'ion acide au niveau de la membrane des canalicules sécrétoires d'où le nom d'inhibiteur de la pompe à protons (la pompe H⁺/ K⁺ - ATPase) (21) (28).

b- Les médicaments neutralisant de l'acide chlorhydrique : Les alcalins actuellement utilisés sont les hydroxydes d'aluminium et de magnésium (Maalox^(R)), le phosphate d'aluminium (Phophalugel^(R)) (28).

2.4.2.2. Les médicaments protecteurs de la muqueuse : Les médicaments couvrants protègent la muqueuse de la sécrétion chlorhydrique. Il s'agit essentiellement du sucralfate (Ulcars^(R)) qui forme sous l'effet de l'acidité gastrique une substance visqueuse qui adhère par une liaison électrostatique stable aux protéines du cratère ulcéreux et au reste de la muqueuse, cette barrière s'oppose à la diffusion des ions H⁺ حفرية

2.4.2.3. Médicaments visant à l'éradication d'*helicobacter pylori* : Lorsque cette bactérie est présente dans la muqueuse, à l'heure actuelle le traitement comporte en association au traitement anti-sécrétoire (en particulier les inhibiteurs de pompes à protons) un anti-biothérapie, comportant l'amoxicilline, le Tinidazole (21).

2.4.3. Psychothérapie

Souvent indispensable dans cette affection dite psycho somatique tels les tranquillisants à type de Témesta, Valium ou bien neuroleptique tel le Sulpiride (23).

2.4.4. La chirurgie

Les principes de la chirurgie résultent des connaissances physiopathologiques, les objectifs de la chirurgie sont d'enlever l'ulcère gastrique et de supprimer les mécanismes de la maladie ulcéreuse, cette technique est appelée gastrectomie (28).

2.5. Traitement traditionnel

La médecine populaire et l'herboristerie ne cessèrent jamais et s'employèrent même à maintenir vivant une tradition thérapeutique connue dès les premiers temps de l'évolution humaine, parmi les plantes médicinales utilisées dans le traitement de l'ulcère gastrique on cite. :

- Thym (30).
- Grande camomille.
- Eucalyptus (31).
- Pâquerette.
- Petite centaurée.
- Frêne (32).

PARTIE PRATIQUE

Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Notre travail est basé sur la plante *Ranunculus repens L* en vue d'étudier l'effet biochimique des flavonoïdes sur l'ulcère gastrique, pour cela on a récolté une quantité suffisante de la plante à partir de la région de Chekfa – Jijel – le début de Mai 2005.

1.2. Matériel animal

Nous avons utilisé 20 Rats *WISTAR ALBINOS* femelles, provenant de l'Institut Pasteur d'Alger. Ils sont élevés dans des cages en métal, nourris de croquettes et l'eau, et vivant dans l'animalerie à température ambiante 22°C - 27°C, en bonnes conditions d'hygiène, de lumière et d'aération maintenue par un extracteur .

2. Méthodes

2.1. Extraction des flavonoïdes glycosidiques à partir de la RRL.

L'extraction a été faite au niveau de laboratoire pharmacologie -faculté de science- jijel, est effectuée selon le protocole expérimental résumé dans la fig. 7 qui consiste en :

Le séchage

Après la cueillette des parties jeunes de la plante et le lavage par l'eau distillée, on les sèche à l'air libre du laboratoire pendant 4 jours, puis dans l'étuve à 40°C pendant 2 jours.

Le broyage

Nous avons fait le broyage à l'aide d'un mortier à sec, puis par un broyeur jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine (60g).

L'extraction hydro- éthanolique

On met 60g du matériel végétal dans un bêcher et on ajoute 300ml d'eau distillée avec 700ml d'éthanol à 96°, on laisse macérer pendant 5 jours puis on filtre le mélange à l'aide du papier filtre, on obtient deux phases, l'une liquide (phase liquide 1) et l'autre solide, cette dernière soumise à une 2^{ème} macération, ceci permet de récupérer les substances organiques et notamment les flavonoïdes.

L'évaporation à sec

Afin de séparer l'extrait sec de la phase éthanolique ; nous avons évaporé la phase liquide totale (extrait hydro-éthanolique) dans un rota à vapeur (R -200 -SWITISERLAND-) à température de 45°C pendant 2 h.

L'extraction liquide- liquide par des solvants non miscibles a l'eau

a- Affrontement par le Chloroforme : Nous avons ajouté 60 ml de Chloroforme à l'extrait total. Après l'agitation énergique, on met le mélange dans une ampoule à décantation. Deux phases sont obtenues.

- Une phase chlorophylle en haut contenant la chlorophylle et la matière gras.
- Une phase aqueuse en bas.

b- Affrontement par le n-butanol : Nous avons ajouté 100ml de n-butanol à la phase aqueuse et après agitation énergique et la décantation pendant 10 minutes, les deux phases obtenues sont :

- Une phase n- butanol en haut contenant les flavonoïdes glycosidiques.
- Une phase aqueuse en bas.

L'évaporation à sec

La phase n- butanol totale subit une évaporation à sec dans le rota à vapeur à 45°C et à cause de la difficulté d'évaporer l'eau à sec nous avons utilisé une étuve à température 45°C pour avoir un concentrât en poudre.

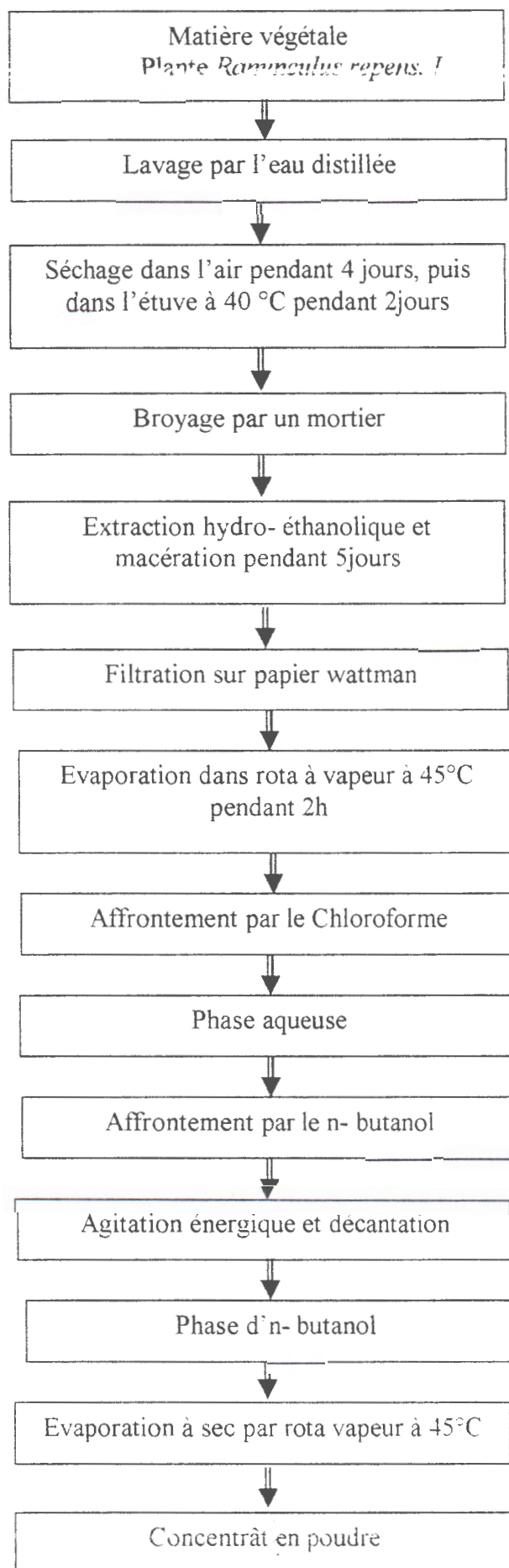


Fig.7 : Protocole général de l'extraction des flavonoïdes (8)

2.2. Substances médicamenteuses

Les substances utilisées sont l'alcool éthylique (éthanol) et l'Oméprazole 20mg (Lomac : Cipla LTd Mumbai INDE).

- L'éthanol : Préparé à 75 degrés alcooliques par méthode de mouillage utilisant les titres pondéraux alcools .
- L'Oméprazole 20mg (Lomac) gélule : C'est également une spécialité pharmaceutique contenant l'Oméprazole comme principes actifs sous forme de micro granules gastro- résistantes, c'est un anti ulcéreux de référence.

2.3. Les solutions physiologiques

Pour conserver et maintenir l'état physiologique in vitro de l'estomac, nous avons utilisé le liquide de tyrode dont la composition est la suivante (33).

Na Cl.....	80g
KCl.....	2g
MgCl ₂	1g
MgSO ₄ 7H ₂ O 5%.....	25,9ml
Na H ₂ PO ₄ 2H ₂ O.....	0,65
KH ₂ PO ₄ 10%	
Glucose.....	10g
NaHCO ₃	10g
CaCl ₂ 2H ₂ O.....	2
Gaz.....	Carbogène
T°.....	37°C

2.4. Préparation des solutions administrées

2.4.1. Préparation de solution flavonique

Nous avons préparé la solution des glucosides en additionnant 100 ml d'eau distillée à 2g d'extrait brut, ceci nous permet une administration sous forme de solution à la dose de 200 mg/kg.

2.4.2. Préparation de la solution de l'oméprazole

La dose thérapeutique du L'oméprazole (20 mg) est de 2 gélules par jour.

a- Le calcul de la posologie

$$40 \text{ mg} \longrightarrow 60 \text{ Kg}$$

$$X \longrightarrow 1 \text{ Kg}$$

$$X = 0,66 \text{ mg/kg/ jours.}$$

b- Le calcul de la dose administrée par rat

La dose thérapeutique est multipliée par 2,5. Donc :

$$2,5 \times 0,66 \text{ mg} \longrightarrow 1000\text{g}$$

$$Y \longrightarrow 200\text{g}$$

$$y = 0,33\text{mg} / \text{rat}$$

c- Le calcul du volume de la solution médicamenteuse

$$1 \text{ ml} \longrightarrow 0,33\text{mg}$$

$$Z \longrightarrow 20\text{mg}$$

$$Z = 60\text{ml}$$

Donc nous avons dissous le contenu d'une gélule dans 60 ml d'eau distillée.

2.5. Traitement des animaux.**2.5.1. Répartition des animaux**

Nous avons répartis les 20 rats en 5 groupes dans des cages métalliques différents, chaque groupe contient 4 rats :

Groupe 1 : Lot témoin, reçoit l'eau distillée.

Groupe 2 : Lot ulcéreux, chaque rat reçoit 1ml /kg/j de l'éthanol 75° durant 2jours.

Groupe 3 : Lot préventif, traités par l'extrait flavonique préalablement pendant 3jours suivi d'un traitement associé d'extrait flavonoïde et de l'alcool après 30 min au 4^{ème} jour, puis par l'alcool seul au 5^{ème} jour.

Groupe 4 : Lot curatif, les rats reçoivent l'alcool éthylique seul au 1^{er} jour suivi d'un traitement par l'éthanol et de l'extrait flavonique à 30min après au 2^{ème} jour, puis par l'extrait flavonique seul pendant 9jours de suite.

Groupe 5 : Lot standard, chaque rat reçoit 1ml/kg d'éthanol au 1^{er} jours puis reçoit de l'éthanol suivi de l'Oméprazole 20 mg après 30min au 2^{ème} jusqu'au 8^{ème} jour

2.5.2. Administration des substances étudiées aux animaux

Nous avons pris les rats par la queue pour les faire sortir de la cage, la nuque a été fixée par l'index et le pouce de façon à tenir la peau du rat dans la paume de la main gauche.

L'administration par voie orale a été effectuée par la main droite qui porte la seringue menue de canule. cette dernière applique une pression sur la base de la langue pour assurer une ouverture bucco pharyngée. et permet sa pénétration dans l'œsophage (fig.8)



Fig.8 : photo représente l'étape de l'administration

2.5.3. Sacrifice des animaux

a- Anesthésie des animaux

Afin d'anesthésier les rats, nous avons versé quelques millilitres de l'éther de pétrole dans un dissecteur contenant l'animal (fig.9).



Fig.9 : photo représente l'étape d'anesthésie d'animaux

b- Dissection

Les rats sont fixés sur le dos à l'aide d'épingles posées sur chaque patte, et la dissection a été faite au niveau de l'abdomen à l'aide d'une pince et d'une paire de ciseaux (fig.10).



Fig.10 : photo représente l'étape de dissection des rats

2.6. L'observation anatomopathologique

Après la dissection des rats, nous avons prélevé et maintenu l'estomac dans le liquide de tyrode. L'ouverture de l'estomac se fait à l'aide de ciseau dans le sens longitudinal du cardia vers le pylore, il est ensuite étalé et fixé à l'aide d'épingles sur une table. L'observation anatomopathologique de l'ulcère est faite à l'aide d'une loupe et sous binoculaire. (34)

2.7. Dosage de l'acidité titrable (acidité Chlorhydrique)

Principe

Elle est mesurée par titration d'un échantillon de suc gastrique dilué dans de l'eau distillée, à l'aide d'une solution titré de NaOH (0,1N) en présence de phénolphtaléine (1%) (20).

Mode opératoire

A l'aide d'une micro pipette, nous avons prélevé un volume de suc gastrique et nous l'avons introduit dans un bêcher puis nous avons ajouté 2 à 3 gouttes de solution de phénolphtaléine 1% ensuite nous avons titré par le NaOH (0,1N) à l'aide d'une burette graduée jusqu'au virage du rose de phénol (fig.11).

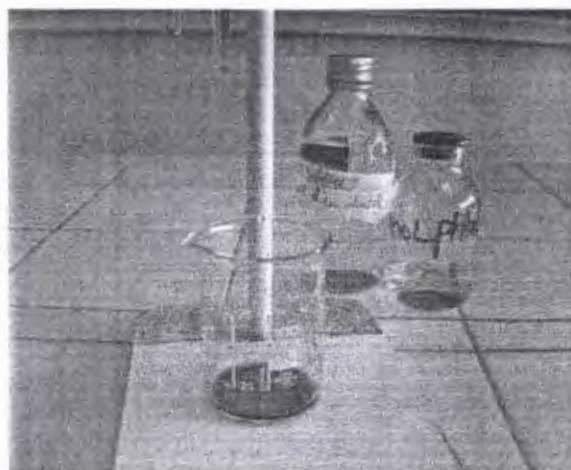


Fig.11 : photo montre la titration de l'acidité gastrique.

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION

Résultats et interprétations

Notre étude expérimentale réalisée sur les rats *WISTAR ALBINOS* consiste à vérifier l'effet des flavonoïdes glucosides sur l'ulcère gastrique. Elle consiste en :

- ❖ Les variations de l'acidité titrable du suc gastrique.
- ❖ L'évaluation des lésions de l'estomac.

1. Variation de l'acidité gastrique selon les différents traitements.

a- Chez les rats ulcéreux (témoin positif)

Les résultats des dosages de l'acidité chlorhydrique sont regroupés dans le tableau 3 et représentée dans la fig.12.

Tableau 3- L'acidité gastrique chez les rats traités par l'alcool éthylique 75° (1ml/kg/jour)

	Témoin (1ml ED/jour) n= 4	Ulcéreux Alcool éthylique 75° (1 ml/kg/jour), pendant 2jours n= 4
	Moyenne ± écartype	Moyenne ± écartype
Acidité titrable (g/l)	*0,32 ± 0,09	*2,22 ± 0,05

Acidité gastrique g/l

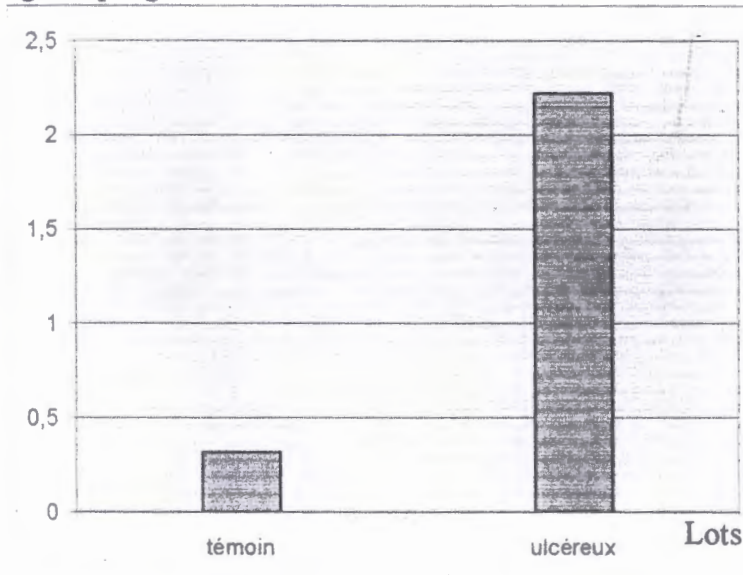


Fig. 12: Evolution de l'acidité gastrique chez les rats ulcéreux.

Les résultats nous permettent de vérifier l'effet de l'éthanol utilisé seul sur la sécrétion de l'acidité gastrique (substance ulcérogène). En effet nous constatons que l'acidité augmente d'une manière significative ($p = 0,05$) chez les rats recevant l'éthanol par rapport au témoins.

b- Chez les rats traités par les flavonoïdes

b-1- A titre préventif

L'étude de l'effet des flavonoïdes sur l'acidité titrable après leur administration en préventive durant 4 jours suivie par un traitement alcoolique 75°, nous a donné les résultats affichés dans le tableau 4 et représenté dans la fig.13.

Tableau 4- L'effet d'un traitement préventif à base de flavonoïdes 200 mg/kg/jour sur l'acidité gastrique (g/l).

	Témoin (1ml ED/jour) n= 4	Ulcéreux Alcool éthylique 75° (1 ml/kg/jour) n= 4	Préventif Flavonoïdes (200mg/kg/ jour) + Alcool éthylique 75° (1 ml/kg/jour) n=4
	Moyenne ± écartype	Moyenne ± écartype	Moyenne ± écartype
Acidité titrable (g/l)	*0,32 ± 0,09	*2,22 ± 0,05	*1,83 ± 0,19

Acidité gastrique g/l

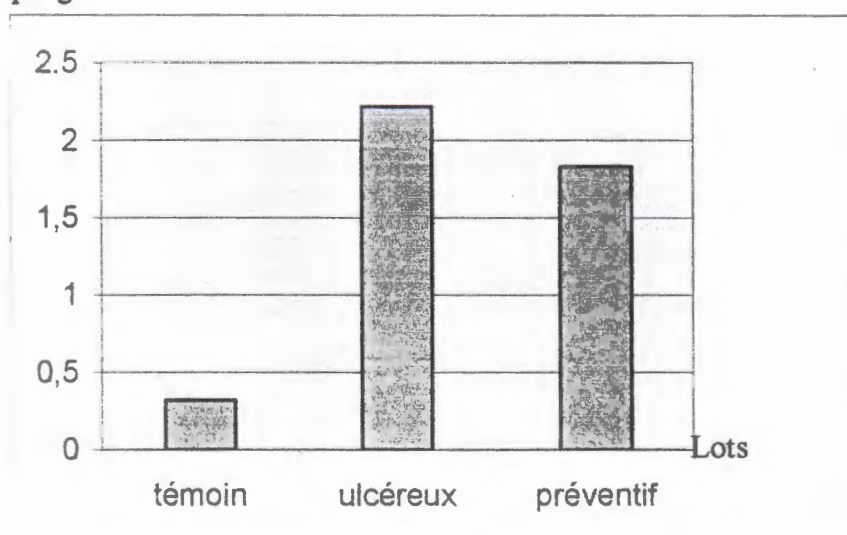


Fig.13 : Variations de l'acidité gastrique chez les rats témoins, ulcéreux et chez les préventifs.

Les résultats nous montrent une diminution significative de l'acidité gastrique après l'administration d'une dose de (200 mg/kg/jour) en préventif de l'extrait flavonique par rapport à celle des animaux traités par l'alcool éthylique.

Cependant l'acidité gastrique chez les rats recevant les glucosides se trouve augmentée de façon significative par rapport aux témoins.

b-2- A titre curatif

Après l'induction de l'ulcère suivie par un traitement flavonique pendant 10 jours.

La mesure de l'acidité gastrique est illustrée dans le tableau 5 et représentée dans la fig.14.

Tableau 5- La valeur de l'acidité gastrique, obtenue après le traitement des animaux par les flavonoïdes (200 mg/kg/jour).

	Témoin (1ml ED/jour) n= 4	Ulcéreux Alcool éthylique 75° (1ml/kg/jour) Pendant 2jours n= 4	Curatif Alcool éthylique 75° (1ml/kg/jour), pendant 2jours + flavonoïdes (200mg/kg pendant 10 jours). n=4
	Moyenne ± écartype	Moyenne ± écartype	Moyenne ± écartype
Acidité titrable (g/l)	*0,32 ± 0,09	*2,22 ± 0,05	*1,65 ± 0,20

Acidité gastrique g/l

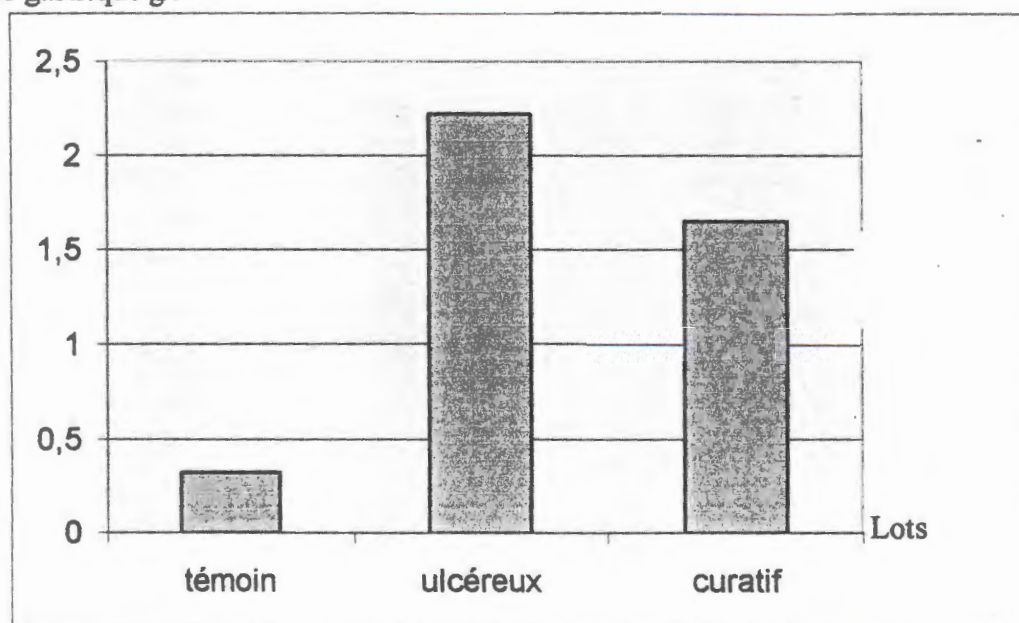


Fig.14 : Variations de l'acidité gastrique chez les rats témoins, ulcéreux et chez les curatifs.

Nous remarquons que l'acidité gastrique chez les rats traités par l'extrait glycoside diminue de façon significative par rapport aux animaux ulcéreux, mais elle reste augmentée par rapport à celle des animaux témoins.

c- Chez les rats traités par un médicament anti- ulcéreux

L'ulcère est provoqué chez les rats par l'administration répétée d'alcool éthylique à 75° (1ml / kg/ jour), suivie par un traitement d'un médicament anti- ulcéreux Oméprazole 20 mg (Lomac) pendant 8 jours.

L'acidité gastrique moyen mesurée est illustrée dans le tableau 6 et représentée dans la fig.15

Tableau 6- Variation de l'acidité titrable chez les rats traités par l'Oméprazole à la dose 0,66mg/ kg.

	Témoin (1ml ED/jour) n= 4	Ulcéreux Alcool éthylique 75° 1ml/kg/jour, pendant 2jours n= 4	Standard Alcool ethylique 75° 1ml/kg/jour, pendant 2jours+ l'Oméprazole 0,66mg/kg/jour pendant 8 jours n=4
	Moyenne ± écartype	Moyenne ± écartype	Moyenne ± écartype
Acidité titrable (g/l)	*0,32 ± 0,09	*2,22 ± 0,05	*1,17 ± 0,15

Acidité gastrique g/l

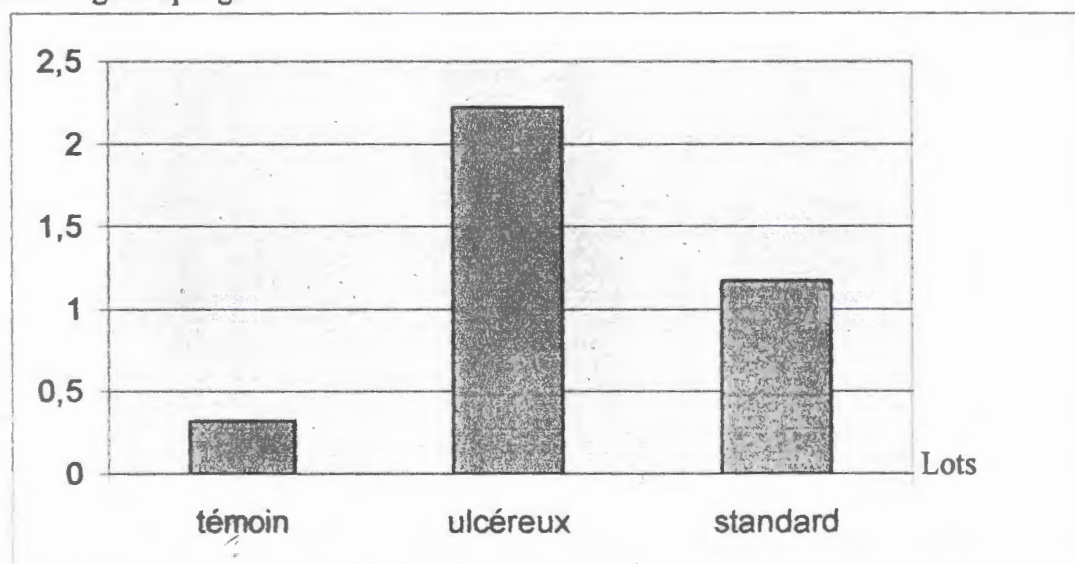


Fig.15 : Variations de l'acidité gastrique chez les rats témoins, ulcéreux et standard.

Nous avons constaté une diminution significative après l'administration de l'Oméprazole par rapport aux animaux traités par l'éthanol. D'après ces résultats, nous notons que l'Oméprazole a atténué l'hyper acidité gastrique.

Les effets des flavonoïdes glucosides et le médicament de référence sont résumés dans le tableau 7 et représenté dans la fig. 16

Tableau 7- Tableau récapitulatif des résultats obtenus de différents traitements.

	Témoin 1 ml d'eau distillée/ jour	Ulcéreux Alcool éthylrique 75° 1 ml/kg/jour pendant 2jours	Préventif Flavonoïdes (200 mg/kg) pendant 4 jours + Alcool éthylrique 75° pendant 2 jours	Curatif Alcool éthylrique 75° 1 ml/kg/jours pendant 2jours + Flavonoïdes glycosides (200 mg/kg, pendant 10 jours)	Standard Alcool éthylrique 75° (1 ml/kg/jours) pendant 2jours + l'Oméprazole 0,66 mg/rat pendant 8 jours
	Moyenne ± écart type	Moyenne ± écart type	Moyenne ± écart type	Moyenne ± écart type	Moyenne ± écart type
Acidité titrable g/l	*0,32 ± 0,09	*2,22 ± 0,05	*+1,83 ± 0,19	*+1,65 ± 0,20	*+1,17 ± 0,15

* $\bar{x} \pm \text{écart type}$: La différence est significative à $P = 0,05$

+ $\bar{x} \pm \text{écart type}$: La différence n'est pas significative à $P > 0,05$.

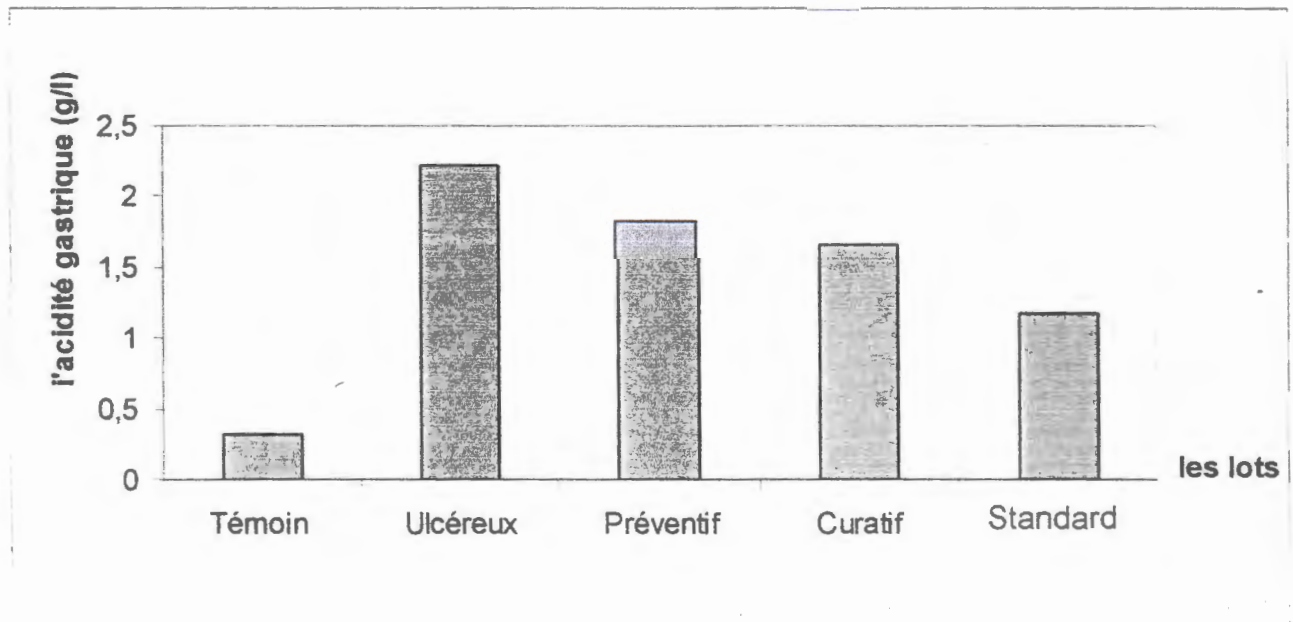


Fig.16 : Variations de l'acidité gastrique chez les rats témoins, ulcéreux, préventifs, curatifs et standard.

2. Résultats de l'examen anatomopathologique

Cet examen comporte une évaluation de l'état des animaux aux cours de différents traitements, ainsi qu'une observation sous loupe et sous binoculaire de l'estomac de chacun des animaux traités et témoins.

a- Etat des animaux au cours de l'expérience

Les animaux utilisés dans notre étude sont élevés dans des bonnes conditions de nourriture et en libre accès à l'eau. Mais, hormis des animaux témoins, nous avons constaté des signes clairs dans différents groupes de traitement et surtout dans le groupe ulcéreux, ces signes correspondent à un amaigrissement, poly urée et une anorexie.

b- Résultats de l'observation anatomopathologique

Après la dissection de l'estomac, une section dans le sens longitudinal est pratiquée permettant l'examen macroscopique.

❖ Chez les rats témoins

L'estomac est un sac en forme de « J » comprenant deux parties : un réservoir fundique et la pompe antro- pylorique, il est limité en haut par le cardia et en bas à droite par le pylore (35).

Sur le plan histologique, l'estomac est formé de la superficie à la profondeur de 4 couches : séreuse, musculuse, sous muqueuse et la muqueuse. Les mêmes tuniques précédentes ont été observées chez le rat et la seule différence se situe au niveau de la 2^{ème} couche, la quelle est subdivisée en 2 plans de fibres : tunique musculaire superficielle à fibres longitudinales, et tunique musculaire profond à fibres circulaires (33).

L'examen sous binoculaire de l'estomac ne montre aucune saillie des vaisseaux sanguins, les quelles parcourent la sous muqueuse (fig. 17).



Fig. 17: Estomac d'un rat témoin

❖ **Chez les rats traités par l'alcool seul**

Chez les rats ulcéreux, nous avons remarqué des anomalies et des altérations structurelles au niveau de différentes régions de l'estomac, ont été mise en évidence :

- 1- La couche du mucus est fragmentée, hétérogène et presque totalement disparais dans les régions fundiques et du corps de l'estomac.
- 2- Lésions vasculaires artérielles avec des plaques hémorragiques. Ces derniers sont localisés principalement dans les régions des petites et grandes courbures (fig.18).



Fig.18 : Estomac d'un rat traité par l'éthanol.

❖ **Chez les rats traités par les flavonoïdes**

a- A titre préventif

L'observation sous loupe et sous binoculaire montre une meilleure prévention de la muqueuse grâce a la présence d'un revêtement épais et homogène de mucus sur toute la surface de l'estomac. Mais nous avons noté l'apparition des petits sillons rouges dans les deux extrémités des deux courbures (fig.19).



Fig.19 : Estomac d'un rat traité par les flavonoïdes en préventif.

b- A titre curatif

L'estomac présente de surface gastrique plus nette. Nous avons noté aussi l'absence totale d'érosions des vaisseaux sanguins (fig.20).



Fig.20 : Estomac d'un rat traité par les flavonoïdes en curatif.

❖ Chez les rats traités par l'Oméprazole

L'aspect anatomique de l'estomac des rats traités par un anti- ulcéreux est le même que des celui observé chez les rats traités en curatif (fig21).



Fig.21 : Estomac d'un rat traité par l'Oméprazole

DISCUSSION

Discussion

L'estomac a une fonction mécanique et chimique, la sécrétion gastrique renferme des substances alcalines et d'autres acides. La sécrétion gastrique comporte trois phases :

- 1- Phase céphalique : Comporte surtout des actions stimulantes par mécanisme nerveux (pneumogastrique) et ensuite neuro-hormonal. Elle provoque une sécrétion de pepsine d'eau, d'acide chlorhydrique et de gastrine (21).
- 2- Phase gastrique : Elle est déclenchée et entretenue par la présence d'aliments dans l'estomac (20), et comporte d'action stimulante mécanique par distension du fundus et distension d'antrale. Cette stimulation provoque la sécrétion d'une hormone peptidique dite « la gastrine » élaborée par les cellules endocrines G de l'antré, possède une action trophique essentielle sur la muqueuse fundique en favorisant la prolifération cellulaire (21).
- 3- La phase intestinal : Lorsque les premières fractions du chyme arrivent dans le duodénum stimulent la sécrétion gastrique acide par voie endocrine ; l'entéro oxyntine (36).

Certaines substances médicamenteuses à caractère acide sont à l'origine d'une hyperacidité gastrique, elle-même responsable d'ulcération, siégeant souvent dans la petite et la grande courbure de l'estomac telles que les anti-inflammatoires (corticoïdes,...) et les alcools (éthanol,...).

En effet, l'étude que nous avons réalisée a bien démontré les altérations de revêtement épithélial des surfaces gastriques et l'hyperacidité constatée chez les rats traités par l'éthanol 75° (1ml/kg/jour). Les différents animaux traités par l'alcool montrent une augmentation significatives ($p = 0,05$) de l'AG puisqu'elle atteint $2,22 \text{ g/l} \pm 0,05$ chez les rats ulcéreux contre $0,32 \text{ g/l} \pm 0,09$ chez les rats témoins.

L'hyperacidité par l'alcool entraîne :

- La rétro diffusion des ions H^+ par le gradient de pH entre la lumière gastrique et le milieu intérieur. L'acidification des cellules épithéliales déstabilise leurs lysosomes en libérant les hydrolases qui sont capables de détruire les structures cellulaires.
- L'acidification de la barrière muqueuse qui favorise à la pepsine d'exercer une action mucolytique et cytolytique (25). L'hyperacidité pourrait être le résultat d'une inhibition par l'alcool de la production des prostaglandines, en particulier les PGE₂ présentes en grande quantité dans la muqueuse gastrique en tant que cytoprotecteur ou pourrait être le résultat d'une stimulation de la libération d'histamine qui à son tour stimule les récepteurs H_2 des cellules pariétales fundiques en développant leur sécrétion en HCl et les récepteurs H_1 des vaisseaux de chorion détermine une vasodilatation et augmente la perméabilité capillaire (21).

Dans le but d'étudier l'activité préventive et curative des extraits flavoniques de *RRL* nous avons d'abord administré 200 mg /kg aux animaux avant l'ulcération durant 4 jours pour remarquer finalement une diminution significative ($p = 0,05$) de l'acidité gastrique allant d'une moyenne de $2,22\text{g/l} \pm 0,05$ chez les rats ulcéreux jusqu'à $1,83\text{ g/l} \pm 0,19$ chez les rats recevant l'extrait glucosides.

L'observation anatomo pathologique montre également une meilleure prévention de l'épithélium du muqueuse. Cet effet préventif des flavonoïdes sur l'ulcère gastrique pourrait être due à la possibilité d'une stimulation de la biosynthèse des PGE par nos extraits flavoniques pour développer une cyto protection contre l'agression nocive de l'éthanol, selon les actions suivantes :

- En stimulant la sécrétion du mucus gastrique et de bicarbonates.
- En freinant la sécrétion d'ion H^+ par le biais de récepteurs spécifiques situés sur la cellule pariétale gastrique.
- En participant au maintien du flux sanguin muqueux (29).

La protection exercée par les flavonoïdes est peut être due aussi de leur pouvoir de capter l'ion superoxyde et le radical hydroxyle, suggère que les radicaux libres interviennent dans le processus de destruction tissulaire (20).

Pour expliciter notre hypothèse basée sur les résultats de notre étude, l'analyse bibliographique donne la confirmation par l'énoncé du mécanisme de l'action antioxydant sous l'effet des flavonoïdes puisque ces derniers sont considérés des piègeurs efficaces des radicaux libre (37).

En ce qui concerne la persistance des lésions et notamment au niveau de la petite courbure, la littérature donne l'explication suivante :

L'excitation du pneumogastrique entraîne la sécrétion d'un suc gastrique riche en pepsine et fortement acide, les glandes de la petite courbure rependent d'ailleurs mieux d'autant plus à cette excitation que celle de la grande courbure, et sécrètent un suc plus actifs (38), ceux-ci endommagent d'avantage les tissus dans ces régions.

L'effet préventif de nos flavonoïdes ne semble pas un cas isolé puisque d'autres travaux sur un dérivé flavonique qui soit le Diosmine ont prouvé la mieux activité préventive chez les rats traités par l'éthanol et l'indométacine (39). Ceci confirme le pouvoir protecteur contre les agents ulcérogène de nos extraits.

Quant à l'étude de l'effet des flavonoïdes en curatif après un traitement pendant 10 jours, nous avons enregistré une diminution significative de l'AG, allant d'une moyenne $2,22\text{ g/l} \pm 0,05$ chez les animaux ulcéreux jusqu'à $1,65\text{ g/l} \pm 0,2$. Ainsi que l'observation anatomo pathologique montrée un bon résultat d'où nous avons noté la présence presque totale de mucus sur la surface gastrique et l'absence des lésions vasculaires. Par ailleurs ces mêmes résultats sont comparables à ceux obtenus

avec le médicament de référence puisque l'acidité dans les deux cas a diminué de même degré de 1,65 p^m chez les rats traités par les flavonoïdes et de 1,17 g/l chez les rats traités par l'Oméprazole. (p>0,05). Le pouvoir cicatrisant des flavonoïdes pourrait dépendre du mécanisme de régénération des capillaires par diminution de la perméabilité capillaires. C'est-à-dire la diminution des échanges liquidiens trans- capillaires et la diffusion des protéines plasmatiques, ils augmentent aussi la péri- vasculaire des dégradations enzymatique (40) selon deux modes d'actions :

- Directe : Par fixation sur le collagène de la membrane basale, ils assurent une meilleure stabilité de celle- ci, cette action est réalisée avec la participation de la vitamine C.
- Indirecte : La captation des radicaux libres par les flavonoïdes entraînent une diminution du chimiotactisme des leucocytes et une inhibition des elastases ainsi libérées (16).

Des recherches ont été réalisées sur la propolis (flavonoïdes d'origine végétal) confirme le rôle curatif joués par les flavonoïdes. En effet le traitement de 72 malades ayant un ulcère gastrique et duodénal avec une capsule huileuse à la propolis dosée à 25 mg de l'extrait 3 fois/ jour a fait disparaître l'ulcère dans 80% des cas (41). Une autre étude a été effectuée sur les rats ulcéreux (l'ulcère provoqué par l'administration répétée d'acide acétyle salicylique 250 mg/kg) traités par les flavonoïdes a montré une régénération des lésions et une diminution de la sécrétion d'acide (34).

CONCLUSION

Conclusion

Les plantes médicinales constituent la source majeure des médicaments dont les principes sont exclusivement des drogues végétales, totalement dépourvues de toxicité et sont utilisées couramment dans ce que l'on dénomme la phytothérapie.

Dans ce sens, nous avons choisi la plante *RRL* pour sa richesse en flavonoïdes qui jouent un rôle bénéfique sur différentes pathologies (cancer, diabète...). Notre étude a encore une fois prouvé une autre vertu thérapeutique contre l'ulcère gastrique.. En effet l'administration des extraits flavoniques à la dose de 200 mg /kg/ jour aux rats induits d'ulcères gastriques par l'éthanol 75° (1ml/kg/jour) en curative et en préventive s'est avéré très positif puisque dans les deux cas nous avons constaté :

- Le pouvoir curatif et préventif sur l'ulcère gastrique.
- L'efficacité de nos extraits démontrée par rapport au médicament anti- ulcéreux de référence car leurs effets est très proche.
- Les extraits flavoniques montrent un potentiel curatif plus favorable par rapport à son pouvoir préventif.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE



Références

- [1] : **Hallard F.**, 1988. Phytothérapie, Paris. P1.
- [2] : **Volak J.** et **Stodola J.**, 1986. Plantes médicinales. Gründ ed. Paris. P6.
- [3] : <http://www.Omwebfile/edmat/htme/phw>
- [4] : **Bruneton J.**, 1997. Plante toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et l'animal. P425.
- [5] : <http://www.hysator.liu.se/runeberg/nordebfor/160.htm>
- [6] : <http://www.dijon.inra.fr/malherbo/hyppa/hyppa-f/ranre.fh.htm>
- [7] : <http://www.fleurs-des-champs.com>
- [8] : **Bruneton J.**, 1993. Pharmacognosie ; phytochimie et plantes médicinales.lavoisier Tec et Doc. Paris. 2^{ème} ed.p266-280.
- [9] : Le métabolisme secondaire et l'extraction des flavonoïdes chez une plante –la menthe- Hadjaj.S , labed,H.,1993 p 15, 17, 29.
- [10] : **Hopkins W- G.**, 2003. Physiologie végétale. 2^{ème} ed. Paris. P138-140.
- [11] : **Machix J.**, et *al.*, 1990. Fruits phénolics. C.R.C. presse : 57-81.
- [12] : <file://A:\lesflavonides.htm>
- [13] : **Gerhard R.**,1993. Métabolisme des végétaux physiologie et biochimie. Ed CIBA-GEIGYSA, France. P317 – 339.
- [14] : <http://www.membreslycos.fr/flavonoïdes/html>
- [15] : **Scipal Reddy M** et *al.*, 2001. Bioflavonoids classification pharmacological, biochemical, effet and therapeutic potentiel. P2.
- [16] : **Blanchemaison p.**, 2000. phlébotonique de 1930'a nos jours Act Med Angiologie.
- [17] : <http://www.vile.clermont-ferrand.fr/2002.htm>
- [18] : **Shimamura H.**, et *al.*, 1993. Identification of tissues responsible for the conjugative metabolism of liquiritigenin in rats: An analysis is based on metabolite kinetics. Biol. Pharm. Bull., 16: 899-907.
- [19] : **Hechett Am.**, 1986. The metabolism of flavonoides compounds in mammals. Alan, R. tiss. Inc. New York.
- [20] : **Mignon M.**, 1992. Gastro entérologie, précis des maladies de l'appareil digestif. Edition marketing- Ellipses- Paris. P276- 279, 319, 332,333.
- [21] : **Fréxinos J.**, 1992. Hepato Gastro Enterologie clinique. Paris- 4^{ème} ed. p92, 104, 105,109.
- [22] : Anatomie de l'estomac. JPG-nte-serveur-univ-lyon1.fr/.../aa%2024-html

- [23]: **Blacque- Belair A.**, 1984. Dictionnaire médical clinique. Pharmacologique et thérapeutique. Paris. 3^{ème} ed. p1713, 1717, 1719.
- [24]: **Bourneuf J.** et **Domart, A.**, 1990. Nouveau Larousse médical. Paris. P1058.
- [25]: **Debonne J –M et Bernard, J-P.**, 1998. Gastro entérologie tom 1 : Démarche diagnostiques ; exploration- nosographiel Dion éditeur- Paris.p193-202.
- [26]: <http://www.kb.u-psud.fr/kb/acces-etudiant/cours/anatomie-pathologique/ coursanapath/photos/10/10e.htm>.
- [27]: CD : la revue de praticien 1999 PDF.
- [28]: **Quinton A.**, 1994. Gastro entérologie et hépatologie. Edition vicot- Paris. P184-196.
- [29]: **Gimenez F.** et *al.*, 2000. Pharmacie clinique et thérapeutique. Paris. P180, 181, 185.
- [30]: **أبي الفداء م.**, 1996. الزعتر- العشب الساحر... غذاء ودواء. دار الفضيلة. القاهرة. ص28.
- [31]: **رويحة أ.**, 1983. التداوي بالأعشاب. الطبعة السابعة. بيروت- لبنان. ص479.
- [32]: **طراب م. وشواقب ل.**, 1988. الداء والدواء. دار الجيل. بيروت. الطبعة العاشرة. ص 250-249.
- [33]: **Brikci M.**, 1989. Technique de pharmacologie. OPU, Alger. P116.
- [34]: Le mémoire de fin d'étude : Contribution à l'étude de l'effet nutritionnel des flavonoïdes sur l'ulcère gastrique chez le rat.2000-2001 institut de technologie agroalimentaire Université de Constantine.
Présenté par : **BENCHAREF N.**
Encadré par : **LAHOUEL M.**
- [35]: **Salmon R. et boiselier, p.**, 1986. Anatomie de l'estomac. In traité de gastro- entérologie EDS. Paris. p9-177.
- [36]: **Silbernagl S. et Despopoulos, A.**, 1993. Atlas commenté de physiologie humaine. 2^{ème} ed. Paris. P206-209.
- [37]: **Bors W.**, et *al.*, 1990. flavonoïds as antioxidants : determination of radical scavenging efficiencies. methods Enzymol.
- [38]: **Mikol CL. Et Paup,J.**, 1961. Feuilles de physiologie. 2^{ème} édition. librairie Maloine S.A., Paris. P115.
- [39]: **Amira S.** et *al.*, 2000. Protective effects of diosmin against gastric damage induced by ethanol and indometacine in the rat. First African congress on biology and health, Setif (Algeria).
- [40]: **Regnault- Roger C.**, 1986. Vitamine P. bio flavonoïde ou facteur C₂: réévaluation d'un concept. Cah. Nut. Diet. p21.
- [41]: **Stangacum S.**, 1998. Recherche sur la propolis.

Présenté par :

AHMED AZZEM Wahiba

LAIB Saïda

Date de Soutenance

Septembre 2005

**TITRE : L'EFFET ANTI ULCEREUX DES EXTRAITS FLAVONOÏDIQUES DE
*RANUNCULUS REPENS L***

Résumé

L'ulcère gastrique est une pathologie très fréquente, est caractérisée par sa tendance à la chronicité. Notre étude phytopharmacologique sur les flavonoïdes des extraits de la plante *Ranunculus repens L*, nous a permis de conclure que ces flavonoïdes doués d'une activité anti-ulcéreuse remarquable par son effet préventif et curatif à la fois car ces extraits entraînent la diminution significative de l'AG et une régénération des lésions de surface gastrique par rapport aux témoins positif (ulcéreux) et d'un effet curatif comparable à celui de l'anti-ulcéreux de référence « l'Oméprazole »

Mots clé : *Ranunculus repens L*, Flavonoïdes, Estomac, Ulcère gastrique .

المباخص

القرحة المعديّة عبارة عن مرض جد منتشر، يتميز بميوله إلى الإزمانيّة. دراستنا التي تخص الصيدلة النباتيّة على "الفلافونويدات المستخلصة من نبتة الحوذان الزاحفة *RRL*، سمحت لنا باستنتاج أن هذه الفلافونويدات تمتلك نشاط ملاحظ ضد التقرحات بتأثيرها الوقائي والعلاجي معاً، لأن هذه المستخلصات تسبب نقصان معتبر للحموضة المعديّة وإعادة تجديد الأنسجة التالفة لسطح المعدة مقارنة بالشواهد الموجبة (المحدث لها القرحة) وتأثير علاجي مقارن بالدواء المرجعي المضاد للقرحة المعديّة "Oméprazole"

الكلمات المفتاح: نبتة الحوذان الزاحفة، الفلافونويدات، المعدة، القرحة المعديّة.

Summary

The gastric ulcer is a very frequent pathologic, witch is characterized by its tendency with chronicity . Our phytopharmacologic study on the flavonoides of the extracts of the plant of *Ranunculus repens L*, enabled us to conclude that these flavonoides gifted of an anti-ulcerous activity, remarquable buy its preventive and curative effect, at the same time because these extracts entrainment a significant reduction of the gastric acidity, and a regeneration of the lesions of gastric surface, buy compareason with the witnesses positive (ulcerous), and of a curative effect comparable with that of anti-ulcerous of référence (l'Oméprazole).

Key Word *Ranunculus repens L*, Flavonoides, Stomach, Gastric ulcer.