

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

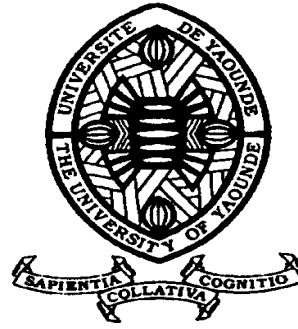
FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET

PHYSIOLOGIE VEGETALES

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE

ANIMALE



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF PLANT

BIOLOGY

LABORATORY OF ANIMAL

PHYSIOLOGY

**Activités antihypertensives des extraits des écorces du tronc
de *Vitex cienkowskii* Kotschy & Peyritsch (Verbenaceae)
chez le rat**

THESE

Présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat / Ph.D en
Biologie des Organismes Animaux

Par : **METCHI DONFACK Mireille Flaure**
D.E.A en Physiologie Animale

Sous la direction de
DIMO Théophile
Professeur Université de Yaoundé I
DONGMO Alain Bertrand
Maître de Conférences Université de Douala

Année Académique : 2017



REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

BP 812 Yaoundé

Tél : (237) 22 23 95 84 / (237) 22 23 44 96

Fax : (237) 22 23 95 88

E-mail : facsciences@uy1.uninet.cm



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

PO. Box 812 Yaoundé

Tél : (237) 22 23 95 84 / (237) 22 23 44 96

Fax : (237) 22 23 95 88

E-mail : facsciences@uy1.uninet.cm

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES

DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

**ATTESTATION DE CORRECTION DE THESE DE
DOCTORAT /Ph.D**

Nous soussignés, membres du jury de la soutenance de thèse de **Doctorat/Ph.D** en Biologie des Organismes Animaux (Option Physiologie Animale), de **Madame METCHI DONFACK Mireille Flaure**, matricule **04V588**, soutenance autorisée par la correspondance N° 309/017/UYI/CRFD/URFD-SV/OC/17 de Monsieur le Recteur de l'Université de Yaoundé I en date du 17/10/2017, attestons que les corrections exigées à la candidate lors de cette évaluation faite le 26/10/2017, ont été réellement effectuées et que le présent document peut être déposé sous sa forme actuelle.

En foi de quoi cette attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé le **01 JUN 2018**


Président du jury

Pierre KAMTCHOUING
Laboratoire Physiologie Animale
Professeur

Examineur

Chef de Département



UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNÉE ACADEMIQUE 2017/2018

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION: 10 Mars 2018

ADMINISTRATION

DOYEN: AWONO ONANA Charles, *Professeur*

VICE-DOYEN / DPSAA: DONGO Etienne, *Professeur*

VICE-DOYEN / DSSE: OBEN Julius ENYONG, *Professeur*

VICE-DOYEN / DRC: MBAZE MEVA'A Luc Léonard, *Maitre de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière: NDOYE FOE Marie C. F., *Maitre de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche : ABOSSOLO

Monique, *Maitre de Conférences*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (41)			
N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
2	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
3	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
4	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
5	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
6	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
7	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
8	BIGOGA DIAGA Jude	Maître de Conférences	En poste
9	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
10	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
11	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
12	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
13	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
14	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
15	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
16	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
17	ACHU Merci BIH	Chargée de Cours	En poste
18	DEMMANO Gustave	Chargé de Cours	En poste
19	DJOKAM TAMO Rosine	Chargée de Cours	En poste
20	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Chargée de Cours	En poste
21	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
22	EVEHE BEBANDOUE Marie-Solange	Chargée de Cours	En poste
23	EWANE Cécile Anne	Chargée de Cours	En poste
24	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste

25	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
26	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
27	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Chargée de Cours	Inspecteur de Service MINESUP
28	NJAYOU Frédéric Nico	Chargé de Cours	En poste
29	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
30	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargée de Cours	En poste
31	PACHANGOU NSANGO Sylvain	Chargé de Cours	En poste
32	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
33	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
34	BEBOY EDZENGUELE Sara Nathalie	Chargée de Cours	En poste
35	DAKOLE DABOY Charles	Chargée de Cours	En poste
36	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
37	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
38	BEBEE Fadimatou	Assistante	En poste
39	TIENTCHEU DJOKAM Leopold	Assistant	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (44)			
1	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
2	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En poste
4	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>V. Doyen/FMSB/UIYI</i>
5	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
6	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	EN POSTE
7	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
8	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
9	NOLA Moïse	Professeur	En poste
10	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
11	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Coord. Progr. MINSANTE</i>
12	AJEAGAH Gidéon AGHAINDUM	Maître de Conférences	Chef Service DPER
13	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
14	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	En poste
15	KAMGANG René	Maître de Conférences	<i>C.S. MINRESI</i>
16	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
17	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
18	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
19	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
20	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste
21	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
22	ATSAMO Albert Donatien	Chargée de Cours	En poste
23	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
24	BILANDA Danielle Claude	Chargée de Cours	En poste

25	DJIOGUE Séfirin	Chargée de Cours	En poste
26	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
27	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Chargée de Cours	En poste
28	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
29	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
30	METCHI DONFACK Mireille Flaure	Chargé de Cours	En poste
31	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
32	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargée de Cours	En poste
33	NGOULATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
34	NGUEGUIM TSOFACK Florence	Chargée de Cours	En poste
35	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
36	NJATSA Hermine épouse MEGAPTCHE	Chargée de Cours	En Poste
37	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	CD/UBa
38	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
39	TADU Zephyrin	Chargée de Cours	En poste
40	YEDE	Chargée de Cours	En poste
41	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste
42	KANDEDA KAVAYE Antoine	Assistant	En poste
43	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (26)

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
6	DJOCGOUE Pierre François	Maître de Conférences	En poste
7	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
8	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
9	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
10	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
11	ZAPFACK Louis	Maître de Conférences	En poste
12	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/Univ Dschang
13	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste
14	ANGONI Hyacinthe	Chargée de Cours	En poste
15	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
16	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
17	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
18	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Chargé de Cours	En poste
19	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
20	NGOOU Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste

21	NSOM ZAMO Annie Claude épouse PIAL	Chargée de Cours	<i>Expert national /UNESCO</i>
22	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
23	TSOATA Esaïe	Chargé de Cours	En poste
24	DJEUANI Astride Carole	Assistante	En poste
25	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Assistante	En poste
26	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistante	En poste
27	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Assistante	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (33)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice Recteur Univ ,Bamenda</i>
2	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>RECTEUR Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Directeur Cabinet PM</i>
5	LAMINSI Samuel	Professeur	En poste
6	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
7	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>ISI MINRESI/Chef de Département</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS Univ. Dschang</i>
10	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
11	DJOUFAC WOU MFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
12	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
13	KONG SAKÉO	Maître de Conférences	<i>Chargé de Mission au P. M.</i>
14	NDIKONTAR Maurice KOR	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
15	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	<i>VC/UB</i>
16	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
17	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
18	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
19	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
20	KAMGANG YOUNBI Georges	Chargé de Cours	En poste
21	NDI NSAMI Julius	Chargée de Cours	En poste
22	NJOYA Dayirou	Chargé de Cours	En poste
23	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
24	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
25	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	En poste
26	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
27	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
28	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
29	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
30	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
31	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste

32	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
33	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargé de Cours	En poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (34)

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen / DPSAA
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir IBAF/UDS
3	MBAFOR Joseph	Professeur	En poste
5	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	En poste
6	NKENGFAK Augustin Ephraïm	Professeur	Chef de Département
7	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Directeur/UN</i>
8	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP</i>
9	WANDJI Jean	Professeur	En poste
10	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>DEPE/ Rectorat/UYI</i>
11	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
15	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
16	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>VR/ UYII</i>
17	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
18	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
19	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	En poste
21	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
22	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
23	AMBASSA Pantaléon	Chargé de Cours	En poste
24	EYONG Kenneth OBEN	Chargé de Cours	En poste
25	FOTSO WABO Ghislain	Chargé de Cours	En poste
26	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
27	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	En poste
28	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Chargé de Cours	Chef Service/Minesup
29	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
31	ZONDENDEGOUMBA Ernestine	Chargée de Cours	En poste
32	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
33	NGNINTEDO Dominique	Assistant	En poste

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	Chef de Département
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef Div Sys.MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste

4	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
5	CHEDOM FOTSO Donatien	Chargé de Cours	En poste
6	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
7	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
8	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
9	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
10	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
11	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
12	ABESSOLO ALO'O Gislain	Assistant	En poste
13	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
14	DJOUWE MEFFEJA Merline Flore	Assistante	En poste
15	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
16	EBELE Serge	Assistant	En poste
17	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
18	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistante	En poste
19	KAMGUEU Patrick Olivier	Assistant	En poste
20	KENFACK DONGMO Clauvice V.	Assistant	En poste
21	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
22	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Assistant	En poste
23	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (35)

1	BEKOLLE David	Professeur	<i>Vice-Recteur UN</i>
2	BITJONG NDOMBOL	Professeur	<i>En poste</i>
3	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
4	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	Chef de Département
5	EMVUDU WONO Yves S.	Maître de Conférences	<i>CD/ MINESUP</i>
6	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
7	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
8	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
9	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
10	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
11	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
12	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
13	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
14	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
15	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
16	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
17	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste
18	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
19	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
20	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste

21	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
22	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
23	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargée de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
26	DJIADEU NGAHA Michel	Assistant	En poste
27	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
28	NIMPA PEFOUNKEU Romain	Assistant	En poste
29	TANG AHANDA Barnabé	Assistant	Directeur/MINTP

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (13)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	DRV/IMPM
2	ETOA François Xavier	Professeur	Chef de Département Recteur Université de Douala
3	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
6	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
7	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ENO Anna Arey	Chargée de Cours	En poste
11	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste

9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY)

1	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
2	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
3	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
4	NJOMO Donatien	Professeur	En poste
5	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
6	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen Univ/Bda
7	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
8	WOAFO Paul	Professeur	En poste
9	EKOBENA FOUA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Division. UN</i>
10	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Maître de Conférences	<i>Sous Directeur/ MINRESI</i>
11	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
12	BEN- BOLIE Germain Hubert	Maître de Conférences	CD/ENS/UN
13	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste
14	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
15	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste

16	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
17	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
18	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
19	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
20	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
21	OUMAROU BOUBA	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
22	SAIDOU	Maître de Conférences	Sous Directeur/Minresi
23	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
24	BODO Bernard	Chargé de Cours	En poste
25	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
26	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	En poste
27	MBANE BIOUELE	Chargé de Cours	En poste
28	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste
29	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
30	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
31	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
32	TABI Conrad Bertrand	Chargé de Cours	En poste
33	TCHOFFO Fidèle	Chargé de Cours	En poste
34	VONDOU Derbetini Appolinaire	Chargé de Cours	En poste
35	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste
36	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
37	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Chargée de Cours	En poste
38	WAKATA née BEYA Annie	Chargée de Cours	<i>Sous Directeur/ MINESUP</i>
39	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
40	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste
41	MLI JOELLE LARISSA	Assistante	<i>En poste</i>

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)

1	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
2	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
3	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
4	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
5	MEDJO EKO Robert	Professeur	<i>Coseiller Technique/UYII</i>
6	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Maître de Conférences	En poste
7	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
8	NGOS III Simon	Maître de Conférences	DAAC/Uma
9	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
10	NKOUMBOU Charles	Maître de Conférences	En poste
11	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
12	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
13	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Chef div. DAASR / FS</i>

14	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/UMa
15	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>Chef Div. MINIMDT</i>
16	ONANA Vincent	Maître de Conférences	En poste
17	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
18	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>
19	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
20	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
21	BISSO Dieudonne	Chargé de Cours	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
22	ESSONO Jean	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
23	EKOMANE Emile	Chargé de Cours	<i>En pste</i>
24	FUH Calistus Gentry	Chargée de cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
25	GANNO Sylvestre	Chargé de Cours	En poste
26	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
27	MBIDA YEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
28	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
29	MOUAFUO Lucas	Chargé de Cours	En poste
31	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
32	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
33	NGUETCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	CEA/MINRESI
34	NYECK Bruno	Chargé de Cours	En poste
35	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Chargée de Cours	<i>CT / MINRESI</i>
36	METANG Victor	Chargé de cours	En poste
37	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de cours	En poste
38	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de cours	En poste
39	TEHNA Nathanaël	Chargé de cours	En poste
40	TEMGA Jean Pierre	Chargé de cours	En poste
41	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de cours	En poste
42	ELISE SABABA	Chargé de cours	En poste
43	EYONG JOHN TAKEM	Assistant	En poste
44	ANABA ONANA Achille Basile	Assistant	En poste

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
B.C.	5 (1)	10 (5)	20 (10)	3 (1)	39 (16)
B.P.A.	11 (1)	9 (3)	20 (8)	3 (5)	43 (17)
B.P.V.	4 (0)	9(2)	10 (2)	4 (4)	27 (8)
C.I.	9(1)	8(2)	16 (4)	0 (2)	33 (9)
C.O.	8 (0)	13 (3)	8 (2)	1 (0)	30 (5)
I.N.	3 (0)	1 (0)	8 (0)	12 (3)	24 (3)
M.A.	3 (0)	5 (0)	18 (1)	4 (0)	30 (1)
M.B.	2 (0)	5 (2)	6 (2)	0 (0)	13 (4)
P.H.	8 (0)	17 (0)	15 (2)	2 (1)	42 (3)
S.T.	5 (0)	15 (2)	22 (3)	2 (0)	44 (5)
Total	58 (3)	92(19)	144 (33)	31(16)	325(71)

Soit un total de **325(71)** dont :

- Professeurs **58 (3)**
- Maîtres de Conférences **92 (19)**
- Chargés de Cours **144 (33)**
- Assistants **31 (16)**

() = Nombre de Femmes

DEDICACE

A mon très cher et tendre époux, Monsieur Ghoumo Jean Pierre Robins et à nos enfants Ghoumo Donfack Olivia Shelsie, Ghoumo Natacha Ariane, Ghoumo Nago Christ Brad, Ghoumo Tananze Ted Axel et Ghoumo Zangue Yann Nolan. Cette thèse n'aurait jamais vu le jour sans votre amour, votre patience et votre soutien.

REMERCIEMENTS

Au seuil de ce travail, je tiens à remercier :

Le Professeur Alain Bertrand Dongmo, pour m'avoir accueillie au sein de l'univers du système cardiovasculaire. Votre grande disponibilité a permis un suivi permanent du déroulement des travaux. Le matériel que vous avez gracieusement mis à ma disposition, vos conseils et vos encouragements ont été indispensables pour l'élaboration et l'aboutissement ce travail. Je vous témoigne ma très grande reconnaissance.

Le Professeur Théophile Dimo, pour l'équipement mis à notre disposition, la qualité de l'encadrement et la rigueur scientifique, qui ont été la clé de la réalisation de cette thèse. Vos conseils et remarques ont été enrichissants et constructifs tout au long de ce travail. Trouvez ici l'expression de toute ma gratitude et de ma profonde considération.

Le Professeur Jean Claude Desfontis, qui m'a accueillie avec beaucoup d'enthousiasme au sein de l'Unité de Recherche Physiopathologie Animale et Pharmacologie Fonctionnelle de l'Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique. Votre prompt réaction pour les démarches administratives a été la clé de l'obtention de la bourse de l'Agence Universitaire de la Francophonie qui m'a été d'une importance capitale pour l'achèvement de travail. Je n'oublierai pas toutes ces dispositions que vous avez prises, dès que je suis arrivée dans votre laboratoire, pour que je puisse réaliser en peu de temps, une grande partie des tests. Le matériel de pointe et la qualité du personnel mis à ma disposition ont été capitaux pour la réalisation de ce travail. Je vous exprime mes remerciements respectueux.

Le Professeur Yassine Mallen, pour l'apprentissage de la technique de la manipulation des anneaux d'aorte. Votre énergie communicative, vos encouragements de tout instant, vos conseils et votre attention, dont j'ai eu l'honneur de bénéficier, ont été d'un précieux apport dans l'aboutissement de ce travail. Soyez assuré de toute ma gratitude.

Le professeur Jacques Noireaud et le Docteur Amine Abdelkrim pour la réalisation des tests effectués sur les cardiomyocytes isolés. Je vous adresse ici mes remerciements respectueux et ma profonde reconnaissance.

Le Professeur Charles Félix Bilong Bilong, Chef du Département de Biologie et Physiologie Animales. Malgré vos multiples occupations, vous avez toujours été disponible pour toutes les démarches administratives. Trouvez ici ma profonde gratitude.

Les professeurs Etienne Tsamo, Ephraïm Nkengfack, Etienne Dongo du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I pour vos conseils, vos encouragements permanents et le matériel mis à ma disposition pour l'extraction chimique du matériel végétal utilisé dans ce travail.

Je remercie aussi tous les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales de la Faculté des Sciences des Universités de Yaoundé I et de Dschang, pour toutes les connaissances qu'ils m'ont données tout au long de cette formation.

Je voudrais également remercier tous les membres du Jury qui nous font l'honneur d'évaluer ce travail. Vos suggestions et vos critiques nous permettront d'améliorer la qualité scientifique de ce document.

Aux Professeur Paul Désiré Dzeufiet et Docteurs Florence Nguéguim, Racéline Gounoue et Paulin Nana pour votre attention, vos conseils et vos encouragements depuis la conception du projet jusqu'à la rédaction du document.

Aux Docteurs Danielle Claude Bilanda, Esther Ngo Lemba Tom, Sephirin Djiogué, Omer Bébé Ngouateu et Albert Atsamo pour la promptitude avec laquelle vous avez toujours réagi chaque fois que j'étais confrontée à un problème. Vos conseils pratiques et techniques m'ont été d'une aide précieuse. Je vous remercie vivement.

A toute la dynamique équipe de l'Unité de Recherche Physiopathologie Animale et Pharmacologie Fonctionnelle de Nantes, Carole Lenne, Nars Kabbesh, Rock Lapo et tous les autres pour votre encadrement et votre chaleur humaine.

A mes camarades du Laboratoire Dr Roméo Joel Temdié, Dr Edwige Ymele Vouffo, Dr Antoine Kada, Dr Jean Beppe, Dr Sandrine Mengue, Dr Mireille Kameni, Joseph Jiaza, Marthe Tsague, David Kemeta, Achille Ndayou, Thierry Tabi et tous les autres pour votre assistance constante pendant les manipulations. Je vous en remercie une fois de plus.

Aux amis de la famille Ghoumo, les familles Nguéfack, Azebaze, Kaze et Chelo, pour votre sincère amitié et votre soutien constant. Soyez assurés de ma profonde gratitude.

A toute ma famille et ma belle-famille pour vos encouragements et votre soutien constant.

A l'Agence Universitaire de la Francophonie pour la bourse qu'elle m'a octroyée et qui m'a permis d'effectuer un stage de recherche à l'Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique de Nantes.

SOMMAIRE

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS	i
DEDICACE.....	xi
REMERCIEMENTS	xii
SOMMAIRE	xiv
LISTE DES TABLEAUX.....	xviii
LISTES DES FIGURES.....	xix
LISTE DES ABREVIATIONS	xxiv
RESUME.....	xxvi
ABSTRACT	xxviii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE.....	5
I.1. Présentation du système cardiovasculaire.....	6
I.1.1 Anatomie et physiologie du cœur	6
I.1.2. Morphologie des cardiomyocytes	8
I.1.3. Régulation de la fonction cardiaque	14
I.1.4. Système circulatoire.....	15
I.2. Contraction /relaxation des cellules musculaires lisses vasculaires.....	16
I.2.1. Mécanisme de l'élévation du calcium intracellulaire	17
I.2.2. Mécanisme moléculaire de la contraction de la cellule musculaire lisse.....	18
I.2.3. Relaxation de la cellule musculaire lisse vasculaire	18
I.3. Physiologie de la circulation.....	20
I.4. Pression artérielle.....	20
I.4.1. Régulation de la pression artérielle	21
I.4.2. Autres voies de régulation de la pression artérielle	23
I.5. Hypertension artérielle.....	25
I.5.1. Définition et classification	25
I.6. Stress oxydatif.....	25
I.6.1 Importance des radicaux libres	26
I.6.2. Inconvénients des radicaux libres	26
I.6.3. Mécanismes pro-oxydants	26
I.6.4. Défenses antioxydantes.....	27

I.6.5. Evaluation du stress oxydatif	28
I.6.6. Stress oxydant, dysfonctionnement endothélial et hypertension artérielle	29
I.7. Modèles d'hypertension artérielle.....	29
I.7.1. Hypertension rénovasculaire.....	29
I.7.2. Hypertension diététique	30
I.7.3. Hypertension endocrine	31
I.7.4. Hypertension psychogénique	31
I.7.5 Hypertension neurogénique	31
I.7.6. Hypertension génétique	31
I.7.7. Hypertension induite par les agents cholinomimétiques.	32
I.7.8. Hypertension induite par l'angiotensine II	32
I.7.9. Hypertension induite par le cadmium	33
I.7.10. Hypertension induite par ischémie utérine	33
I.7.11. Hypertension induite par inhibition chronique de l'oxyde nitrique.....	33
I.8. Traitements de l'hypertension artérielle	33
I.8.1. Traitements non pharmacologiques	33
I.8.2. Traitements pharmacologiques	34
I.9. Phytothérapie	35
I.10. Etude de la toxicité.....	36
I.10.1. Définition et intérêt	36
I.10.2. Toxicité aiguë.....	37
I.10.3. Toxicité subchronique.....	37
I.10.4. Toxicité chronique.....	37
I.11. <i>Vitex cienkoswkii</i> Kotschy & Peyritsch	38
I.11.1. Classification.....	38
I.11.2. Origine et distribution géographique	38
I.11.3. Description	39
I.11.4. Utilisations empiriques et travaux antérieurs.....	39
I.11.5. Phytochimie	40
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES.....	42
II.1. Matériel.....	43
II.1.1. Matériel animal.....	43

II.1.2. Matériel végétal	43
II.2. Méthodes	44
II.2.1. Préparation des extraits de <i>Vitex cenkowskii</i>	44
II.2.2. Effets aigus des extraits de <i>Vitex cenkowskii</i> sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque des rats normotendus	45
II.2.4. Evaluation des effets préventifs de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cenkowskii</i> chez les rats rendus hypertendus par le N ^w -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) ..	48
II.2.5. Evaluation des effets curatifs de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cenkowskii</i> chez les rats rendus hypertendus par le L-NAME	49
II.2.6. Evaluation des effets préventifs de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cenkowskii</i> chez les rats rendus hypertendus par le désoxycorticostérone acétate et le sel (DOCA-sel).....	50
II.2.7. Evaluation des effets curatifs de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cenkowskii</i> chez les rats rendus hypertendus par la DOCA.....	51
II.2.8. Evaluation des effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cenkowskii</i> chez les rats spontanément hypertendus (SHR)	52
II.2.9. Evaluation des effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cenkowskii</i> sur les cardiomyocytes isolés des rats adultes.....	53
II.2.10. Etude de la toxicité aiguë et subaiguë des extraits aqueux et CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cenkowskii</i>	57
II.2.11. Détermination des effets de <i>Vitex cenkowskii</i> sur le taux des protéines par la méthode du Biuret	59
II.2.12. Détermination des paramètres du stress oxydatif	60
II.2.13. Evaluation des marqueurs des fonctions hépatique et rénale	64
II.2.14. Evaluation des paramètres du profil lipidique	67
II.2.15. Etudes histologiques	70
II.2.16. Analyse des paramètres hématologiques	71
II.2.17. Analyse statistique des résultats	71
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION	72
III.1. Résultats	73
III.1.1. Effets aigus des extraits de <i>Vitex cenkowskii</i> sur quelques paramètres hémodynamiques	73
III.1.2. Effets comparés de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>V. cenkowskii</i> et de quelques substances pharmacologiques sur la pression artérielle moyenne et la fréquence cardiaque des rats normotendus	75

III.1.3. Effets du carbachol et de la noradrénaline en présence des antagonistes pharmacologiques	77
III.1.4. Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>V. cienkowskii</i> en présence de quelques substances pharmacologiques	79
III.1.5. Effets préventifs de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur l'hypertension induite par le L-NAME	80
III.1.6. Effets curatifs de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> chez les rats hypertendus par le L-NAME	92
III.1.7. Effets préventifs de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> contre l'hypertension artérielle induite par la désoxycorticostérone acétate et le sel.....	104
III.1.8. Effets curatifs de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> chez les rats rendus hypertendus par la désoxycorticostérone acétate et le sel.....	116
III.1.9. Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> chez les rats spontanément hypertendus	128
III.1.10. Effets de l'extrait au mélange CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur l'activité fonctionnelle des cardiomyocytes isolés des rats adultes.	132
III.1.11. Toxicité aiguë et subchronique des extraits aqueux et au CH ₂ Cl ₂ -MeOH des écorces de <i>Vitex cienkowskii</i>	133
III.2. Discussion	143
CONCLUSION	158
RÉFÉRENCES	160
ANNEXES	183
LISTE DE PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS	196

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Définition et classification des niveaux de pression artérielle	25
Tableau II : Dosage des protéines sériques par la méthode du Biuret.....	59
Tableau III : Technique de réalisation de la courbe d'étalonnage pour le dosage de la catalase	61
Tableau IV: Technique de réalisation des courbes d'étalonnage pour le dosage de l'ASAT/ALAT	65
Tableau V : Technique de dosage des transaminases dans les échantillons	66
Tableau VI : Technique de dosage de la bilirubine totale	66
Tableau VII : Technique de dosage des triglycérides.....	68
Tableau VIII : Technique de dosage du cholestérol total.....	69
Tableau IX: Effets de VCMM sur l'activité fonctionnelle des cardiomyocytes isolés des rats Wistar adultes.....	132

LISTES DES FIGURES

Figure 1: Anatomie macroscopique du cœur de mammifère.	7
Figure 2: Coupe longitudinale des cardiomyocytes.	8
Figure 3 : Changement du potentiel de membrane et de la perméabilité membranaire pendant le potentiel d'action des cellules contractiles du muscle cardiaque.....	9
Figure 4 : Electrocardiogramme obtenu en dérivation I montrant les différentes ondes de l'activité cardiaque.....	11
Figure 5 : Structures des artères, veines et capillaires.....	16
Figure 6: Mécanisme de la contraction des cellules musculaires lisses vasculaires. La contraction est principalement due à l'activation d'une phospholipase C (PLC) et à la production d'IP3.	18
Figure 7 : Mécanismes de la baisse de Ca^{2+} dans les CMLV. La phosphorylation du phospholambane (PLB) va lever l'inhibition du PLB sur les SERCAs.	19
Figure 8: Mécanismes de régulation de la pression artérielle..	21
Figure 9 : Activation des récepteurs endothéliaux (R) induisant un accroissement en calcium intracellulaire dans le cytoplasme de la cellule endothéliale.....	24
Figure 10 : Photo de <i>Vitex cienkowskii</i> prise à Fouban en 2013 par A. B. Dongmo.	39
Figure 11: Protocole de préparation des extraits aqueux et au mélange chlorure de méthylène/méthanol (CH_2Cl_2 -MeOH (1:1)).	44
Figure 12: Dispositif d'enregistrement de la Pression artérielle.	45
Figure 13: Intubation de la veine fémorale et de la carotide du rat anesthésié.	47
Figure 14 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines.....	60
Figure 15 : Courbe d'étalonnage pour dosage de la catalase	61
Figure 16 : Courbe d'étalonnage pour dosage de l'oxyde nitrique	64
Figure 17 : Courbes d'étalonnage pour le dosage de l'ALAT (A) et de l'ASAT (B).	65
Figure 18 : Effets aigus de l'extrait aqueux de <i>Vitex cienkowskii</i> sur la pression artérielle moyenne (A) et la fréquence cardiaque (B) des rats normotendus.....	74
Figure 19 : Effets aigus de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) les rats normotendus.	75
Figure 20 : Effets comparés d'une dose unique d'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> , du carbachol, du propranolol et de la cimétidine sur la pression artérielle moyenne (A) et la fréquence cardiaque (B) chez les rats normotendus.	77
Figure 21 : Effets du carbachol sur la pression artérielle moyenne (A) et la fréquence cardiaque (B) en présence de l'atropine chez les rats normotendus.....	78
Figure 22 : Effets de la noradrénaline sur la pression artérielle moyenne (A) et la fréquence cardiaque (B) en présence du propranolol chez les rats normotendus.....	79
Figure 23 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur la pression artérielle moyenne (A) et la fréquence cardiaque (B) en présence de quelques antagonistes pharmacologiques chez les rats anesthésiés.	80

Figure 24: Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur la variation du poids corporel en traitement préventif chez les rats traités avec du L-NAME.	81
Figure 25: Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le poids relatifs du cœur entier, des ventricules droits et gauches (A), des reins et du foie (B) en traitement préventif chez les rats traités avec du L-NAME.	82
Figure 26 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur les prise alimentaire (A) et hydrique (B) en traitement préventif chez les rats traités avec du L-NAME.	83
Figure 27 : Effets de l'extrait CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) en traitement préventif chez les rats soumis à l'action du L-NAME.	84
Figure 28: Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur les taux de nitrites en traitement préventif chez les rats traités avec L-NAME.	85
Figure 29 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le taux de malondialdéhyde en traitement préventif chez les rats traités avec du L-NAME. ..	86
Figure 30 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le taux de glutathion réduit en traitement préventif chez les rats traités avec du L-NAME	87
Figure 31 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur les taux de superoxyde dismutase (A) et de catalase (B) en traitement préventif chez les rats hypertendus par le L-NAME.	88
Figure 32 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le taux de lipides sériques en traitement préventif chez les rats traités avec du L-NAME.....	89
Figure 33 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur les taux de bilirubine (A), d'ASAT (B), d'ALAT (C) et de créatinine (D) en traitement préventif chez les rats traités avec du L-NAME.	91
Figure 34 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le poids corporel en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.	92
Figure 35 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le poids relatifs du cœur entier, des ventricules droits et gauches (A), des reins et du foie (B) en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.	93
Figure 36 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur les prises alimentaires et hydrique en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.	95
Figure 37: Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.	96
Figure 38 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur les taux de nitrites en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.	97
Figure 39 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur les taux de Malondialdéhyde en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.	98
Figure 40 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur les taux de glutathion réduit en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME	99
Figure 41 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur l'activité de la superoxyde dismutase (A) et de la catalase (B) en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.	100

Figure 42 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur les lipides sériques en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.	101
Figure 43 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur les taux de bilirubine (A), d'ASAT (B), d'ALAT (C) et de créatinine (D) en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.	103
Figure 44 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le poids corporel en traitement préventif contre l'hypertension induite par la DOCA et le sel.	104
Figure 45 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le poids relatifs du cœur entier, des ventricules droits et gauches (A), des reins et du foie (B) en traitement préventif contre l'hypertension artérielle induite par la DOCA et le sel.	105
Figure 46 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur les prises alimentaire (A) et hydrique (B) en traitement préventif contre l'hypertension induite la DOCA et le sel.	106
Figure 47 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) en traitement préventif contre l'hypertension induite par la DOCA et le sel.	108
Figure 48 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le taux de nitrites en traitement préventif contre l'hypertension artérielle induite par la DOCA et le sel.	109
Figure 49 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le taux de malondialdéhyde en traitement préventif contre l'hypertension artérielle induite par la DOCA et le sel.	110
Figure 50 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le taux de glutathion réduit en traitement préventif contre l'hypertension artérielle induite par la DOCA et le sel.	111
Figure 51 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur les taux de superoxyde dismutase et de catalase en traitement préventif contre l'hypertension artérielle induite par la DOCA et le sel.	112
Figure 52 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur les lipides sériques en traitement préventif contre l'hypertension artérielle induite par la DOCA et le sel.	113
Figure 53 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur l'activité de l'ASAT (A), l'ALAT (B) et le taux de bilirubine (C) en traitement curatif des rats hypertendus par la DOCA et le sel.	114
Figure 54 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur les concentrations sériques en sodium, potassium et chlore en traitement préventif contre l'hypertension artérielle induite par DOCA et le sel.	115
Figure 55 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur l'activité de la créatinine en traitement curatif des rats hypertendus par la DOCA et le sel.	116
Figure 56 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> en traitement curatif sur le poids corporel des rats hypertendus par la DOCA et le sel.	117

Figure 57 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> au terme du traitement curatif sur le poids relatifs du cœur entier, des ventricules droits et gauches (A), des reins et du foie (B) chez des rats hypertendus par la DOCA et le sel.....	118
Figure 58 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> en traitement curatif sur les prises alimentaire (A) et hydrique (B) des rats hypertendus par la DOCA et le sel.	119
Figure 59 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> en traitement curatif sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) des rats hypertendus par la DOCA et le sel.....	120
Figure 60 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> en traitement curatif sur la concentration en nitrites des rats hypertendus par la DOCA et le sel.....	121
Figure 61 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> en traitement curatif sur la concentration en malondialdéhyde des rats hypertendus par la DOCA et le sel.	122
Figure 62 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> en traitement curatif sur la concentration du glutathion réduit des rats hypertendus par la DOCA et le sel.....	123
Figure 63 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> en traitement curatif sur l'activité de la superoxyde dismutase (A) et de la catalase (B) des rats hypertendus par la DOCA et le sel.....	124
Figure 64 : Effets curatifs de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> en traitement curatif sur les lipides sériques chez les rats hypertendus par la DOCA et le sel. ..	125
Figure 65 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur d'ASAT (A), d'ALAT (B), de bilirubine (C) et de créatinine (D) en traitement curatif des rats hypertendus par la DOCA et le sel.....	126
Figure 66 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> en traitement curatif sur les concentrations sériques en sodium, potassium et chlore des rats hypertendus par la DOCA et le sel.	127
Figure 67 : Effets de l'extrait CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur l'activité de la créatinine en traitement curatif des rats hypertendus par la DOCA et le sel.....	128
Figure 68 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le poids relatif du cœur et des ventricules des rats SHR.....	129
Figure 69 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) des rats spontanément hypertendus.	130
Figure 70 : Effets d'un traitement subchronique à l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur la relaxation induite par l'ACh (A), le NPS (B) et l'A23187 (C) des anneaux d'aorte intacts des rats SHR précontractés par la phényléphrine (10 ⁻⁶ M).	131
Figure 71 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le poids corporel des rats en traitement subchronique.	134
Figure 72 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le poids relatif du cœur, du foie et des reins des rats en traitement subchronique.....	134
Figure 73 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur la prise alimentaire (A) et hydrique (B) des rats en traitement subchronique.....	135

Figure 74 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le taux de globules rouges, de globules blancs (A), de plaquettes (B) et l'hématocrite (C) des rats en traitement subchronique.....	136
Figure 75 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le taux protéines totales sérique et hépatique et rénale des rats en traitement subchronique.....	137
Figure 76 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le taux d'ASAT (A), d'ALAT (B) et de bilirubine (C) sérique et hépatique des rats en traitement subchronique.....	138
Figure 77 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le taux de créatinine sérique et rénal des rats en traitement subchronique.	139
Figure 78 : Effets de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> sur le profil lipidique des rats en traitement subchronique.	139
Figure 79 : Microphotographies du cœur (A, B, C, D, E) et de l'aorte (F, G, H, I, J) des rats témoins (A, F) et des rats traités avec l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> aux doses de 200 mg/kg (B, G), 400 mg/kg (C, H), 600 mg/kg (D, I) et des rats satellites traités avec la dose de 600 mg/kg (E, J).	141
Figure 80 :Microphotographies du foie (K, L, M, N, O) et des reins (P, Q, R, S, T) des rats témoins (K, P) et des rats traités avec l'extrait au CH ₂ Cl ₂ -MeOH de <i>Vitex cienkowskii</i> aux doses de 200 mg/kg (L, Q), 400 mg/kg (M, R), 600 mg/kg (N, S) et des rats satellites traités avec la dose de 600 mg/kg (O, T).	142

LISTE DES ABREVIATIONS

ACh : Acétylcholine

AC : Adénylate cyclase

ADH: “Antidiuretic Hormone”

ATP: Adénosine triphosphate

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique

Cholestérol HDL: “High density lipoprotein cholesterol”

CMLV : Cellule musculaire lisse vasculaire

DL₅₀ : Dose Létale médiane

DOCA : Désoxycorticostérone acétate

EDHF: “Endothelium derived hyperpolarizing factor”

ERN: Espèces réactives à l’azote

ERO : Espèces réactives à l’oxygène

FC : Fréquence cardiaque

GC : Guanylate-cyclase

GMPc : Guanosine monophosphate cyclique

GTP: Guanosine triphosphate

HTA : Hypertension artérielle

IP3: Inositol 1,4,5-trisphosphate

L-NAME: N^w-nitro-L-arginine methyl ester

MLCK: “Myosin light chain kinase”

MLCP: “Myosin Light Chain Phosphatase”

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NO : Monoxyde d’azote

NOS : “Nitric oxide synthase”

NPS : Nitroprussiate de sodium

OCDE : Organisation de la Coopération et du Développement Economique

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PA : Pression artérielle

PKA: Protéine kinase A

PKG: Protéine kinase G

PLC: Phospholipase C

ROS: “Reactive oxygen species”

SHR: Rat spontanément hypertendus

TR: Thiorédoxine réductase

WHO: “World Health Organisation”

RESUME

L'hypertension artérielle (HTA) est la principale pathologie cardiovasculaire qui peut induire des complications graves en l'absence de traitement. La prise en charge de l'HTA par la médecine moderne est très coûteuse, ce qui amène les malades à se tourner vers la phytothérapie facilement accessible et tout aussi efficace. *Vitex cienkowskii* Kotschy & Peyritsch (*V. cienkowskii*) est une plante (de la famille des Verbénacées) couramment utilisée dans la médecine traditionnelle camerounaise pour le traitement de nombreuses pathologies parmi lesquelles l'HTA. L'objectif de ce travail était d'évaluer les effets antihypertenseurs des extraits des écorces de *V. cienkowskii* chez le rat mâle. Les études pharmacologiques ont été effectuées à partir des extraits aqueux ou au mélange méthanol/chlorure de méthylène (1:1) des écorces du tronc de *V. cienkowskii*. Les animaux utilisés dans cette étude étaient des rats normotendus, des rats spontanément hypertendus, des rats rendus expérimentalement hypertendus par le L-NAME ou par la DOCA-sel. Les effets hypotenseurs ont été évalués par administration intraveineuse d'une dose unique d'extrait aqueux (VCE) ou d'extrait au mélange chlorure de méthylène/méthanol (1/1) (VCMM) de *V. cienkowskii* (10, 20, 30 et 40 mg/kg) chez les rats normotendus anesthésiés. Les mécanismes d'action ont été déterminés en évaluant l'effet d'une dose unique de VCMM (40 mg/kg ; *iv*) sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque, des rats préalablement traités avec l'atropine, le propranolol, la cimétidine ou la réserpine. VCMM (0,1 ; 0,5 et 1 mg/ml) a été évalué sur l'activité contractile des cardiomyocytes isolés de rats en présence ou en absence d'antagonistes (bisoprolol, nicardipine). L'activité antihypertensive de *V. cienkowskii* a été étudiée sur la pression artérielle (PA), la fréquence cardiaque (FC), la lipidémie, quelques marqueurs du stress oxydant et des fonctions hépatique et rénale, après un traitement subchronique des rats hypertendus avec VCMM (200 et 400 mg/kg), au cours des traitements préventif et curatif. La toxicité de *V. cienkowskii* a été effectuée après administration d'une dose unique de chaque extrait (2000 mg/kg) en traitement aigu, ou après administration quotidienne pendant 4 semaines, des doses de 200, 400, et 600 mg/kg. L'administration intraveineuse d'une dose unique de VCE ou VCMM à la dose la plus élevée (40 mg/kg) chez les rats normotendus, a entraîné une chute immédiate de la pression artérielle moyenne (PAM) de 33,54 % ($P < 0,05$) et de 36,04 % ($P < 0,01$), respectivement. Cette baisse de la PAM était encore significative après une heure avec VCMM à la dose 40 mg/kg. Les extraits n'ont pas induit une modification significative de la fréquence cardiaque. Le prétraitement des rats avec l'atropine a significativement ($P < 0,01$) réduit les réponses hypotensives immédiate et tardive de VCMM. La baisse fugace de la PAM induite par VCMM (40 mg/kg) est passée de 36,04 % à 18,02 % en présence de l'atropine (0,1

mg/kg). Le traitement des cardiomyocytes isolés de rats avec VCMM, a entraîné un effet inotrope positif qui a été bloqué par la nicardipine. VCMM a augmenté le temps nécessaire pour atteindre une contraction maximale de 20-30 % et de 40-60 % respectivement aux concentrations de 0,5 et de 1 mg/mL. L'administration simultanée de VCMM avec le L-NAME ou la DOCA-sel a prévenu l'élévation de la PAM des rats. Le taux de NO qui a subi une baisse significative lors du traitement au L-NAME ou à la DOCA-sel, a plutôt augmenté chez rats traités simultanément avec l'extrait de plante (200 et 400 mg/kg). Une amélioration du statut oxydant (malondialdéhyde, glutathion réduit, superoxyde dismutase et catalase) et de la lipidémie (cholestérol total, cholestérol HDL, cholestérol LDL et triglycérides) a été également observée chez les rats traités concomitamment avec l'extrait de plante et le L-NAME ou la DOCA-sel. En traitement curatif, VCMM (400 mg/kg) a réduit de manière significative la PAM de 35,92 et 28,07 %, respectivement chez les rats rendus expérimentalement hypertendus par le L-NAME et la DOCA-sel. L'hypertrophie ventriculaire gauche induite par le L-NAME ou la DOCA-sel a été corrigée par l'extrait (400 mg/kg) qui a réduit cette hypertrophie de 10,75 et 20,38 % respectivement. Le taux de nitrites, les paramètres du stress oxydatif et de la lipidémie ont été ramenés vers les valeurs proches de la normale. L'augmentation des taux sériques de Na⁺ et de Cl⁻ induite par l'administration de la DOCA-sel, a été réduite de manière significative de 4,49 et 21,84 % par le traitement à l'extrait de plante (400 mg/kg). Chez les rats SHR, la relaxation de l'aorte suite à l'administration de l'acétylcholine (ACh), du nitroprussiate de sodium (NPS) ou du calcium ionophore a été améliorée par le traitement des animaux avec VCMM. Les deux extraits de plante n'ont pas présenté de signes majeurs de toxicité. Les résultats obtenus au cours de ce travail montrent que *V. cienkowskii* possède des effets antihypertenseurs chez les rats rendus hypertendus avec le L-NAME ou la DOCA-sel et les rats spontanément hypertendus. Les effets antihypertenseurs de *Vitex cienkowskii* pourraient être dus aux composés bioactifs qui le constituent tels que les flavonoïdes, les tripernoïdes (l'acide oléanolique et l'acide maslinique) et le tetra-acétylajugastérone. Ces résultats justifieraient l'utilisation de *V. cienkowskii* par les populations pour le traitement l'hypertension artérielle.

Mots clés : *V. cienkowskii*, hypertension artérielle, antioxydant, L-NAME, DOCA-sel.

ABSTRACT

Arterial hypertension (AHT) is the most common cardiovascular disease in the world which could lead to severe lethal complications in the absence of treatment. The treatment of AHT with modern medicine is too expensive, leading patients to tend to use medicinal plants because they are easily accessible and efficient. *Vitex cienkowskii* Kotschy & Peyritsch (*V. cienkowskii*) is a plant of the family Verbenaceae, whose stem barks are commonly used in Cameroonian traditional medicine to treat many pathologies such as AHT. The present study was designed to investigate the antihypertensive effects of the *V. cienkowskii* stem bark extracts in adult male rat. Pharmacological studies were carried out on aqueous (VCE) and methanol/methylene chloride mixture (1:1) (VCMM) of stem bark extracts of *V. cienkowskii*. Experimental animals used were normotensive rats, spontaneously hypertensive rats, L-NAME hypertensive rats and DOCA-salt hypertensive rats. The hypotensive study was evaluated by intravenous injection of a single dose of VCE or VCMM (10, 20, 30 and 40 mg/kg) on anesthetized normotensive rats. Hypotensive mechanisms were investigated on blood pressure and heart rate of normotensive anesthetized rats after *iv* injection of a single dose of VCMM (40 mg/kg) in the presence of atropine, propranolol, cimetidine or reserpine. The effect of VCMM (0.1, 0.5 and 1 mg/kg) was evaluated on contractile activity of rat cardiomyocytes in the absence or presence of antagonists (bisoprolol, nicardipine). The antihypertensive effects of *V. cienkowskii* were studied after subchronic curative and preventive treatments of hypertensive rats with VCMM (200 and 400 mg/kg) on blood pressure, heart rate, oxidative stress parameters, blood lipids, hepatic and renal markers. The toxicity of *V. cienkowskii* was done by acute treatment with a single dose of each extract (2000 mg/kg) and subacute treatment with daily administration of VCMM (200, 400, and 600 mg/kg) for a duration of 4 weeks. Intravenous administration of a single dose of VCE or VCMM at the highest dose (40 mg/kg), induced an immediate decrease of mean arterial blood pressure (MAP) of 33.54 % ($P < 0.05$) and 36.04 % ($P < 0.01$), respectively. The drop of MAP registered 25 min after the intravenous administration of *V. cienkowskii* was higher for VCMM (26.48 %) than VCE (8.24 %). These extracts did not modify the heart rate significantly. Pretreatment of rat with atropine was significantly ($P < 0.01$) reduced the immediate and late hypotensive effect of VCMM. The fleeting effect of MAP induced by *V. cienkowskii* (40 mg/kg) decreased from 36.04 % to 18.02 % in presence of atropine (0.1 mg/kg). Treatment of rat isolated cardiomyocytes with VCMM, induced a positive inotropic effect inhibited by nicardipine. *V. cienkowskii* increased the time necessary to obtain a peak of contraction of 20-30 % and 40-60 % respectively at concentrations of 0.5 and 1 mg/mL. The simultaneous administration of VCMM and L-NAME or DOCA-salt

prevented the increase of MAP in rats. The concentration of NO which significantly reduced after the treatment of rats with L-NAME or DOCA-salt, increased in rats treated simultaneously with plant extract (200 and 400 mg/kg). An improvement of antioxidant status (malondialdehyde, reduced glutathione, superoxide dismutase and catalase) and lipidemia (total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol and triglycerides) was also observed in rats treated concomitantly with the plant extract and L-NAME or DOCA-salt. In the curative treatment, VCMM (400 mg/kg) significantly reduced the MAP to 35.92 and 28.07 % respectively in L-NAME and DOCA-salt hypertensive rats. The left ventricular hypertrophy induced by L-NAME or DOCA-salt treatment was corrected using the plant extract (400 mg/kg), which reduced hypertrophy to 10.75 and 20.38 % respectively. The plant extract corrected nitrite concentrations and some parameters of oxidative stress and lipidemia. The increase of Na⁺ and Cl⁻ blood levels induced by DOCA-salt treatment was significantly reduced to 4.49 and 21.84 % respectively by the plant extract (200 mg/kg). In SHR, vascular reactivity to acetylcholine (ACh), sodium nitroprusside (NPS) and ionophore calcium was improved after treatment of rats with VCMM. The two extracts did not reveal major signs of toxicity. The results obtained at the end of this work revealed that, *V. cienkowskii* possesses antihypertensive effects on L-NAME, DOCA-salt and spontaneously hypertensive rats. The antihypertensive effects of *V. cienkowskii* could be due to the bioactive substances that are present in this plant such as flavonoids, triterpenoids (oleanolic acid and maslinic acid) and the tetra-acetyljugasterone. These results justify the use of *V. cienkowskii* by the population to treat arterial hypertension.

Keywords: *V. cienkowskii*, arterial hypertension, antioxidant, L-NAME, DOCA-salt.

INTRODUCTION

L'hypertension artérielle (HTA) encore appelée « tension artérielle » est une affection cardiovasculaire marquée par une élévation constante de la pression artérielle systolique au-delà de 140 millimètres de mercure et/ou de la pression diastolique au-delà de 90 millimètres de mercure (Guyton et Hall, 2006). Elle représente la principale pathologie cardiovasculaire et affecte environ 26 % de la population adulte dans le monde (OMS, 2013). L'HTA est responsable du décès d'environ 9,4 millions de personnes par an (Lim *et al.*, 2012 ; OMS, 2013). Selon les estimations des spécialistes, environ 1,56 milliards de personnes, soit 60 % de la population mondiale, souffrira d'HTA en 2025 (Zafar et Mushtaq, 2015). Au Cameroun, la prévalence de l'hypertension artérielle se situe autour de 31 % (Arrey *et al.*, 2016).

L'HTA est le plus souvent silencieuse, ce qui la rend encore plus dangereuse. Son contrôle non optimal est responsable d'au moins 51 % des décès causés par les accidents vasculaires cérébraux, 45 % des décès résultants des atteintes cardiaques et de plusieurs cas d'insuffisance rénale nécessitant une suppléance rénale. L'hypertension non maîtrisée se trouve ainsi être la cause importante de morts prématurées et de morbidité dans le monde, ce qui constitue un lourd fardeau social et économique (OMS, 2013).

Les facteurs favorisant l'HTA sont multiples. Il y a d'une part des facteurs non contrôlables tels que l'hérédité et l'âge, et d'autre part, des facteurs maîtrisables tels que la consommation excessive de graisses, de sucres, de sel, d'alcool et de tabac. De même, la sédentarité, l'absence d'activité physique, une mauvaise gestion du stress et les pathologies comme le diabète peuvent être responsables de l'HTA (OMS, 2013 ; Lafay *et al.*, 2014 ; Zafar et Mushtaq, 2015). Il est bien établi que tous ces facteurs conduisent au développement du stress oxydatif fortement impliqué dans la pathologie de l'hypertension artérielle (Greig *et al.*, 2010 ; Rodrigo *et al.* ; 2007 ; Kukongviriyapan *et al.*, 2015).

Les médicaments antihypertenseurs agissent généralement en induisant une élimination de l'excès de sel et de liquide (surcharge hydrosodée) de l'organisme, un ralentissement du rythme cardiaque et une relaxation des vaisseaux sanguins (OMS, 2013). Il s'agit des diurétiques, des beta bloquants, des alpha bloquants, des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, des inhibiteurs de l'angiotensine II, des bloqueurs des canaux calciques, des médicaments mimant l'effet du monoxyde d'azote (NO), des inhibiteurs de rénine et des antihypertenseurs centraux (alpha 2 agonistes) (Guyton et Hall, 2006). Le traitement de l'HTA se fait pendant toute la vie avec un médicament ou une association de médicaments, ce qui représente un coût énorme pour les patients et leurs familles, aussi bien dans les pays

industrialisés ou émergents comme le Cameroun. De plus, ces médicaments de la médecine conventionnelle ne sont toujours pas dénués d'effets indésirables. C'est pour cette raison que les malades préfèrent se tourner vers la phytothérapie moins coûteuse, efficace et facilement accessible (Zeggwagh *et al.*, 2013). Cependant, l'utilisation des plantes antihypertensives par les populations n'est pas toujours réglementée et peut entraîner des dommages graves. Il s'avère donc nécessaire d'établir scientifiquement l'efficacité, les mécanismes d'action et l'innocuité de ces plantes utilisées en médecine traditionnelle. C'est dans cette optique que l'Etat du Cameroun a créé plusieurs institutions et centres de recherche spécialisés dans l'étude des plantes médicinales tels que l'Institut de Recherches Médicales et d'études des Plantes Médicinales (IMPM). C'est également le cas du Laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Yaoundé I, qui a orienté ses recherches sur l'évaluation des propriétés pharmacologiques des extraits de plantes médicinales sur les grands systèmes de l'organisme parmi lesquels le système cardiovasculaire.

Les plantes du genre vitex (famille des Verbénacées) sont couramment utilisées pour traiter la dépression, les maladies vénériennes, le paludisme, les morsures de serpent, l'asthme, les allergies, les blessures, les dermatoses, les douleurs corporelles et l'hypertension artérielle (Neuwinger, 2000). *Vitex cienkowskii* Kotschy & Peyritsch encore appelé *Vitex doniana*, a fait l'objet de plusieurs études scientifiques qui ont entre autres démontré ses effets contraceptifs (Higham *et al.*, 2007), anti-inflammatoires (Ochieng *et al.* en 2013) et antimicrobiens (Akaniro-Ejim *et al.*, 2016). Au Cameroun, *Vitex cienkowskii* est utilisé par les populations du Noun (Ouest-Cameroun) pour le traitement de l'insomnie et des affections cardiovasculaires. Sontia en 2005 a montré les effets relaxants des extraits au méthanol et à l'acétate d'éthyle de *Vitex cienkowskii* sur les anneaux d'aorte de cobayes. Au regard de l'activité vasorelaxante observée, il s'est avéré important d'étendre ce travail, en étudiant les propriétés antihypertensives des extraits de *Vitex cienkowskii* chez le rat albinos.

Pour atteindre cet objectif, nous avons:

- évalué l'activité hypotensive des extraits aqueux et au mélange chlorure de méthylène/méthanol (1/1) de *Vitex cienkowskii* chez les rats normotendus;
- élucidé les mécanismes d'action probables de l'extrait le plus efficace administré par voie intraveineuse chez le rat et sur les cardiomyocytes isolés de rat;

- évalué les effets préventifs et curatifs de l'extrait au mélange chlorure de méthylène/méthanol chez les rats rendus expérimentalement hypertendus par le L-NAME ou par la DOCA-sel ;
- évalué les effets de l'extrait au mélange chlorure de méthylène/méthanol de *Vitex cienkowskii* sur la pression artérielle et la réactivité vasculaire des rats spontanément hypertendus ;
- évalué la toxicité des extraits.

CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. Présentation du système cardiovasculaire

Le système cardiovasculaire est constitué d'un appareil de pompage qui est le cœur et d'un appareil de distribution constitué par les vaisseaux sanguins. Il est principalement impliqué dans l'approvisionnement des cellules de l'organisme en nutriments et, dans l'élimination des déchets issus du métabolisme cellulaire.

I.1.1 Anatomie et physiologie du cœur

Le cœur est un muscle creux formé de deux oreillettes et deux ventricules, qui sert de pompe aspirante et refoulante du sang (Figure 1). Il permet grâce à ses contractions rythmiques, de maintenir la circulation pour un approvisionnement adéquat du sang dans tous les tissus de l'organisme. Le cœur est formé d'un tissu musculaire spécial appelé myocarde, qui est tapissé extérieurement par une couche faite de tissu conjonctif appelée péricarde, et intérieurement par l'endocarde qui est en continuité avec l'endothélium des vaisseaux sanguins (Marieb, 1998). Le myocarde est formé de cellules ramifiées, les cardiomyocytes qui sont rattachés par les fibres du tissu conjonctif enchevêtrées et forment des faisceaux spiralés ou circulaires.

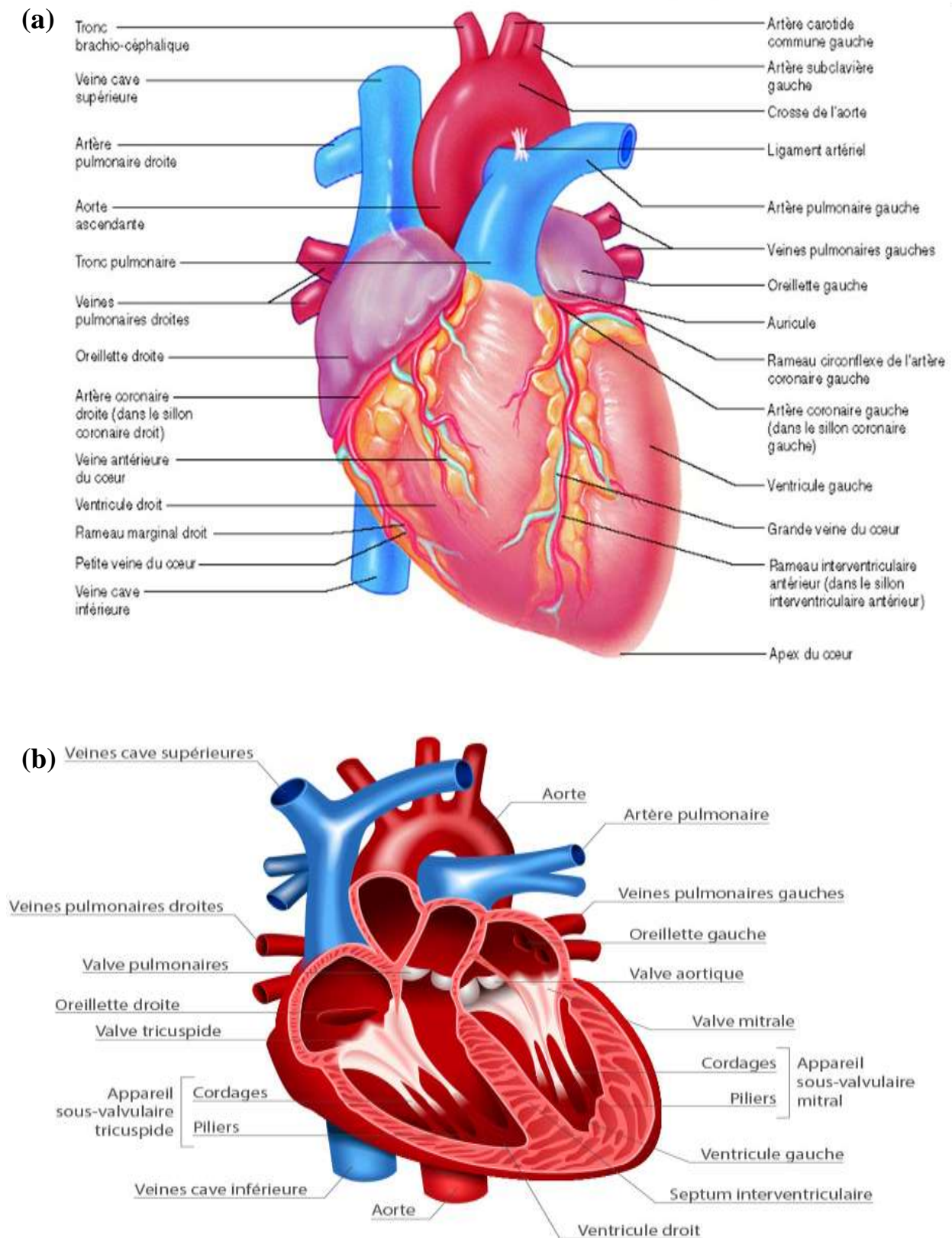


Figure 1: Anatomie macroscopique du cœur de mammifère (Marieb, 1998).

(a) Face antérieure ; (b) Coupe frontale montrant les différentes cavités internes et les valves.

I.1.2. Morphologie des cardiomyocytes

Les cardiomyocytes ou cellules myocardiques peuvent être répartis en 2 groupes : les cardiomyocytes automatiques ou cardionectrices et les cardiomyocytes non automatiques. Les cardiomyocytes automatiques sont présents dans le système de conduction ou cardionecteur du cœur et constituent le tissu nodal. Les cardiomyocytes non automatiques sont présents dans le reste du myocarde. Ce sont des myotubes de formes cylindriques avec des diamètres de 10 à 25 μm et des longueurs de 60 à 150 μm . Ils présentent des contours irréguliers et des striations cloisonnées dues à l'organisation cytosolique des myofilaments. Ils sont responsables des phénomènes de contraction et de relaxation du cœur (Bakehe, 2013) (Figure 2).

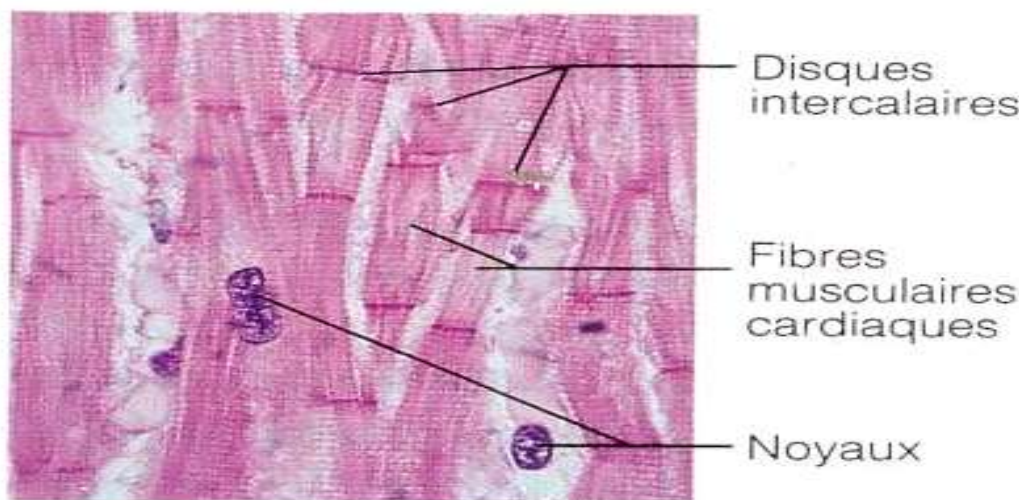


Figure 2: Coupe longitudinale des cardiomyocytes (Ross et Wilson, 2003).

I.1.2.1. Automatisation cardiaque

Le myocarde est un muscle strié doué d'un fonctionnement autonome et automatique. Il est formé de cellules myocardiques qui constituent le muscle atrial et le muscle ventriculaire, et des cellules cardionectrices qui forment le système cardiaque d'excitation et de conduction. Ces cellules constituent le tissu nodal qui est responsable de l'automatisme cardiaque (Guyton et Hall, 2006). Le tissu nodal est constitué des éléments suivants :

- le nœud de Keith et Flack ou nœud sino auriculaire, situé à la jonction de la veine cave supérieure avec l'oreillette droite, est le point de départ de l'excitation qui se propage à toutes les régions du cœur, d'où le nom de Pacemaker qui lui est attribué ;
- le nœud d'Aschoff-Tawara ou nœud atrio-ventriculaire, situé dans la partie inférieure du septum interauriculaire, est excité par la contraction des oreillettes et donne à son tour une excitation qui entraîne la contraction des ventricules ;

- le faisceau de His, situé dans la cloison interventriculaire qui se divise en deux branches formant le réseau de Purkinje, est responsable de la propagation de l'excitation dans tout le ventricule.

I.1.2.2. Activité électrique du cœur

Les cellules myocardiques présentent une polarisation membranaire de repos d'environ -90 mV qui peut être inversée suite à une stimulation pour générer un potentiel d'action qu'elles vont conduire. La forme du potentiel d'action varie en fonction du tissu considéré. L'analyse de la courbe du potentiel d'action d'une cellule myocardique (Figure 3) présente :

- une phase initiale caractérisée par une dépolarisation rapide. Elle est due à une ouverture brusque des canaux sodiques entraînant une augmentation rapide de la perméabilité au sodium ;
- une phase de repolarisation lente, marquée par un plateau. Elle résulte d'une activation des canaux sodiques et calciques ;
- une phase de repolarisation rapide, due à une activation du courant potassique sortant, et une inactivation des courants sodiques et calciques ;
- une phase de dépolarisation diastolique spontanée, caractérisée par un rétablissement des concentrations initiales de sodium et potassium de part et d'autre de la membrane (Sherwood, 2006).

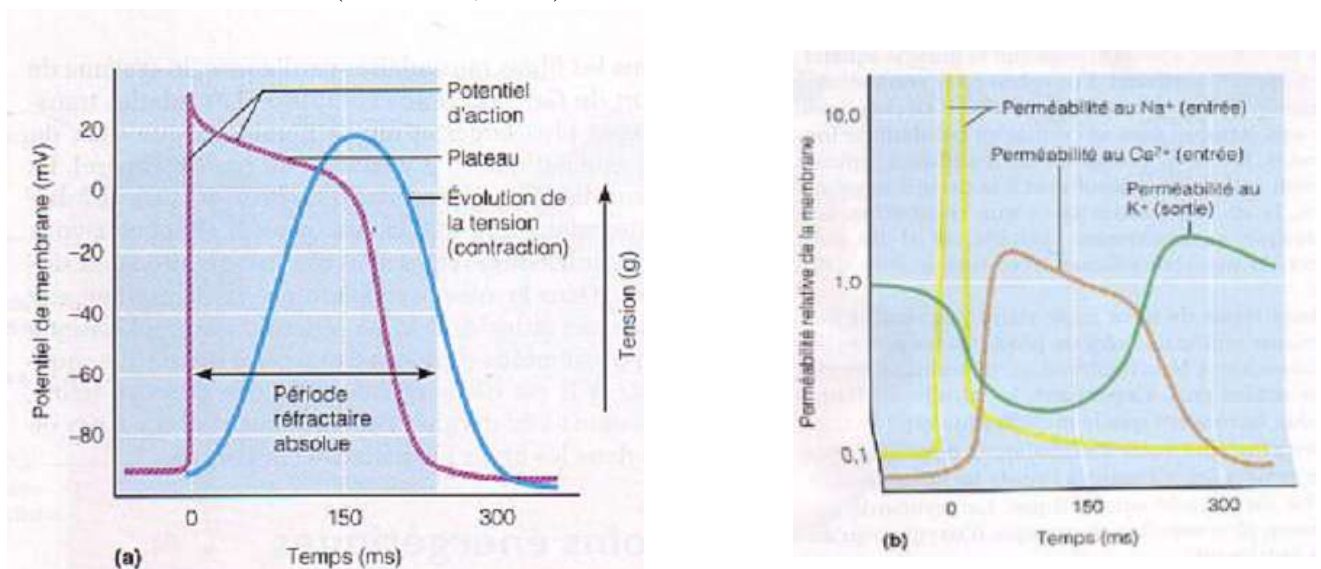


Figure 3 : Changement du potentiel de membrane et de la perméabilité membranaire pendant le potentiel d'action des cellules contractiles du muscle cardiaque (Marieb, 1998).

- (a) : Relation entre le potentiel d'action, la phase de contraction et la période réfractaire absolue dans une cellule ventriculaire;
 (b) : changements de la perméabilité membranaire pendant le potentiel d'action d'une cellule contractile cardiaque.

I.1.2.3. Electrocardiogramme

L'électrocardiogramme (ECG) est le tracé de l'enregistrement en fonction du temps, de l'activité électrique au cours du cycle cardiaque. Un électrocardiogramme typique est formé de cinq ondes (Figure 4):

- l'onde P qui traduit la dépolarisation des oreillettes engendrée par le nœud sinusal. Les oreillettes se contractent environ 0,1 s après le début de cette onde. Elle dure environ 0,08 s ;
- les ondes Q, R, et S qui forment le complexe QRS et traduisent la dépolarisation des ventricules. Sa forme compliquée est due à la taille inégale des ventricules de même que le temps que chacun met pour se dépolariser. Ce complexe dure environ 0,08 s ;
- l'onde T correspond à la repolarisation ventriculaire et dure environ 0,16 s. La repolarisation auriculaire quant à elle survient pendant la dépolarisation ventriculaire et est masquée par le complexe QRS ;

L'intervalle PQ ou PR représente le temps écoulé entre le début de la dépolarisation des oreillettes et celui des ventricules. Il dure environ 0,16 s. C'est le temps de conduction. L'intervalle QT correspond au temps qui s'est écoulé entre la dépolarisation des ventricules et leur repolarisation. Il dure environ 0,36 s. La durée et la succession des ondes sont assez constantes dans un cœur sain, c'est pourquoi toute modification pourrait révéler des anomalies de conduction ou des cardiopathies. Des modifications de l'ECG peuvent être observées après des lésions du myocarde. Ainsi une hypertrophie ventriculaire est représentée par une onde R grossie tandis qu'une onde T aplatie indique une ischémie et un intervalle QT allongé traduit une dépolarisation du cœur qui accentue les risques d'arythmies (Sherwood, 2006).

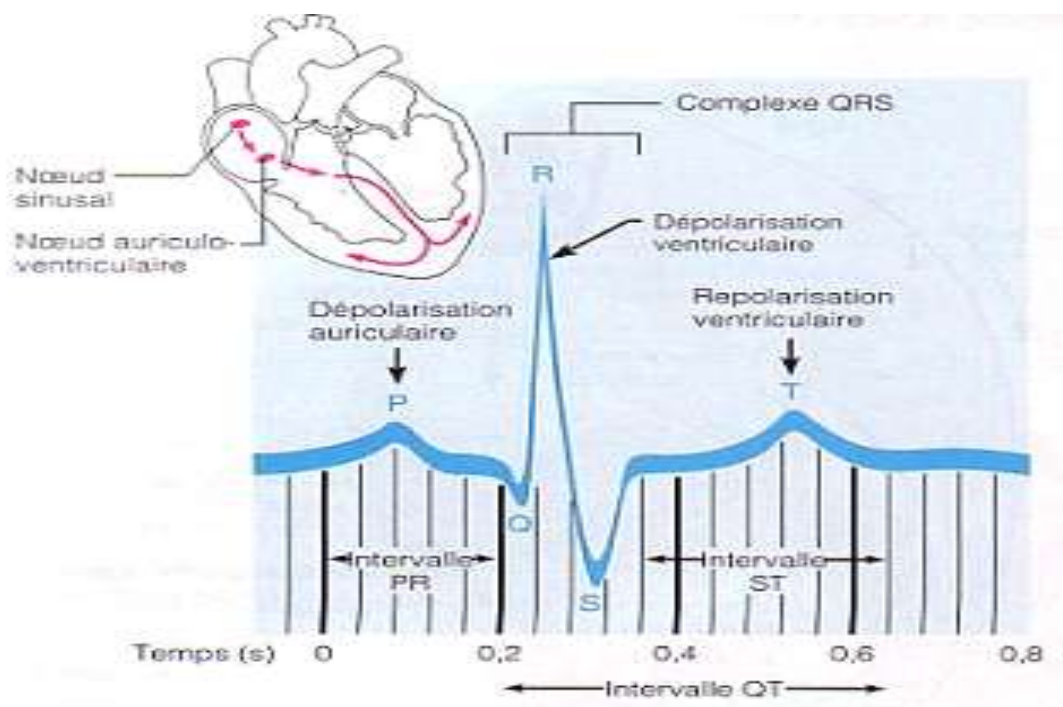


Figure 4 : Electrocardiogramme obtenu en dérivation I montrant les différentes ondes de l'activité cardiaque (Marieb, 1998).

I.1.2.4. Arythmies cardiaques

Les troubles du rythme cardiaque sont l'une des causes principales d'un fonctionnement défectueux de cœur. Plusieurs causes intervenant de façon individuelle ou combinée peuvent être à l'origine des arythmies (Rang *et al.*, 2003). On peut citer :

- un rythme anormal du pacemaker ;
- le déplacement du pacemaker du nœud sinusal vers d'autres régions du cœur ;
- la présence des blocs de conduction cardiaque ;
- la conduction anormale de l'impulsion dans le cœur ;
- la présence des foyers ectopiques.

I.1.2.4.1. Arythmies sinusales

Des perturbations de la genèse de l'excitation pourraient induire une modification du rythme sinusal. On peut ainsi noter une tachycardie qui est l'augmentation de la fréquence sinusale de repos à plus de 100 battements par minutes. Par contre, la baisse de la fréquence sinusale en deçà de 60 battements par minutes correspond à une bradycardie. La tachycardie peut être causée par une élévation de la température corporelle, la stimulation du système nerveux sympathique et une intoxication cardiaque. La tachycardie est représentée sur un ECG

par un raccourcissement du temps d'intervalle entre les complexes QRS successifs. Ainsi, on pourrait enregistrer en une minute environ 150 complexes QRS au lieu de 72 généralement observés pour un cœur normal (Houghton *et al.*, 2012).

I.1.2.4.2. Blocs de conduction cardiaque

Des lésions du nœud auriculo-ventriculaire peuvent ralentir ou interrompre complètement la propagation de l'onde de dépolarisation du nœud sinusal jusqu'au ventricule. On parle de bloc auriculo-ventriculaire complet ou bloc de troisième degré lorsqu'aucun influx n'est propagé des oreillettes vers les ventricules. Les ventricules adoptent leur propre rythme qui est trop lent pour assurer une circulation adéquate. Il se traduit sur l'ECG par une dissociation auriculo-ventriculaire. Les ondes P et les complexes QRS sont réguliers, mais il n'y a pas un rapport constant entre eux (Marieb, 1998).

Lorsque la conduction n'est pas complètement interrompue, on parle de bloc auriculo-ventriculaire incomplet. Quand toutes les ondes de dépolarisation auriculaires parviennent au ventricule avec un allongement de l'intervalle PR, on parle de bloc partiel de premier degré. Dans le cas des blocs partiels de second degré, tous les influx auriculaires ne sont pas conduits jusqu'aux ventricules qui battent alors plus lentement que les oreillettes. Il peut se produire deux ou trois battements auriculaires avant que ne soit observé celui des ventricules (Houghton *et al.*, 2012).

Il existe également des blocs sino-auriculaires qui sont rarement observés. Dans ce cas, l'impulsion venant du nœud sinusal est bloquée avant son entrée dans les oreillettes entraînant alors la cessation de l'onde P. Le ventricule génère son propre rythme et on peut noter sur le tracé de l'ECG, un complexe QRS normal (Houghton *et al.*, 2012).

I.1.2.4.3. Présence de foyers ectopiques

Dans les conditions pathologiques, l'excitation peut être générée par des régions du cœur autres que le nœud sinusal. Ces zones représentent alors des foyers ectopiques qui sont responsables des contractions prématurées appelées extrasystoles. Ces foyers ectopiques peuvent être causés par une ischémie locale, la présence de plaques calcifiées en différents points du cœur ou une irritation toxique par des substances telles que la caféine et la nicotine. Ces foyers peuvent apparaître dans les oreillettes, les ventricules ou les fibres de Purkinje et générer occasionnellement une décharge rythmique et rapide des impulsions qui sont conduites dans toutes les régions du cœur. Ceci a pour conséquence la formation d'un courant réentrant

responsable d'une réexcitation répétée locale (Guyton et Hall, 2006). On parle de tachycardie paroxystique ou flutter lorsqu'on a des contractions rapides et régulières, suite à la décharge répétée, régulière et rapide, du foyer ectopique. Par contre, la décharge à grande fréquence et de façon irrégulière d'un ou de plusieurs foyers entraînent des contractions rapides et non coordonnées appelées fibrillations. La fibrillation auriculaire est la plus fréquente des arythmies cardiaques. La fibrillation ventriculaire est beaucoup plus dangereuse parce qu'elle est rapidement fatale (Cohen et Jacquot, 2001). Le flutter et la fibrillation sont communément appelés palpitations cardiaques.

I.1.2.5. Révolution cardiaque

La révolution cardiaque correspond à la période comprise entre le début d'un battement cardiaque et le début du battement suivant. Elle comprend une période de relaxation appelée diastole pendant laquelle le cœur se remplit de sang, et une période de contraction appelée systole. Le cycle complet comprend les phases suivantes :

- la diastole générale ou phase de repos: généralement, 80 % du sang venant des grandes veines remplit continuellement les oreillettes, ensuite les ventricules : c'est le volume télédiastolique. La vitesse de remplissage diminue au fur et à mesure que les ventricules se distendent.
- la systole auriculaire: la contraction auriculaire entraîne un remplissage supplémentaire des ventricules d'environ 20 %. Les oreillettes jouent ainsi le rôle de pompes initiatrices qui augmentent l'efficacité de la pompe des ventricules.
- la systole ventriculaire: les oreillettes se relâchent pendant que les ventricules commencent à se contracter. Leurs parois compriment le sang qui s'y trouve et la pression ventriculaire augmente brusquement, entraînant la fermeture des valvules auriculo ventriculaires. Toutes les issues du ventricule sont fermées et le volume de sang reste constant pendant une fraction de seconde : c'est la phase de contraction isovolumétrique. La pression ventriculaire continue de s'élever jusqu'à dépasser celle qui règne dans l'aorte et l'artère pulmonaire. Ceci entraîne l'ouverture des valvules aortiques et pulmonaires et l'expulsion du sang dans les artères : c'est la phase d'éjection ventriculaire au cours de laquelle la pression atteint 120 mm Hg dans l'aorte.

- la phase de relaxation isovolumétrique ou protodiastole : après l'éjection du sang des ventricules, la pression des artères s'élève par rapport à la pression ventriculaire et le sang qui commence à refluer dans les ventricules entraîne la fermeture des valvules sigmoïdes. Le volume de sang qui reste dans les ventricules après la systole est appelé volume téléstolique.

Pendant la systole ventriculaire, les oreillettes sont en diastole et commencent à se remplir. La pression qui règne dans les oreillettes commence à s'élever et finit par dépasser la pression ventriculaire. Ceci entraîne l'ouverture des valvules auriculo-ventriculaires, puis le remplissage rapide des ventricules qui ralentit à l'approche de la contraction suivante et le cycle recommence (Silbernagl et Despopoulos, 2001).

Le volume de sang pompé par le cœur, n'est pas toujours constant. Il varie selon qu'on soit au repos ou en activité. Ainsi, chez une personne au repos, le cœur pompe environ 4 à 6 litres de sang par minute. Cependant, le débit cardiaque peut atteindre les 35 litres par minute, soit 4 à 7 fois supérieur à la quantité de sang pompé au repos (Ganong, 2005). C'est pourquoi, des mécanismes de régulation appropriés sont mis en jeu pour permettre au cœur de s'adapter à ces variations constantes de volume.

I.1.3. Régulation de la fonction cardiaque

La régulation du volume de sang pompé par le cœur peut se faire par une régulation cardiaque intrinsèque d'une part, et par le système nerveux autonome d'autre part.

I.1.3.1. Autorégulation intrinsèque : loi de Frank Starling

Généralement, la quantité de sang pompé par le cœur dépend presque du volume de sang revenant des veines appelé retour veineux. Chaque tissu périphérique contrôle son propre débit et le sang qui part de tous les tissus, se combine dans les veines pour être transporté jusqu'à l'oreillette droite. Le cœur à son tour pompe ce sang qui revient des veines par les artères. Le cœur doit donc s'adapter à des arrivées de sang qui varient de secondes en secondes. Cette capacité du cœur à s'adapter à l'augmentation du retour veineux est appelée loi de Frank Starling qui stipule que « plus le cœur se remplit pendant la diastole, plus sa force de contraction sera grande et plus la quantité de sang expulsée de l'aorte sera grande » (Ganong, 2005).

Le mécanisme permettant au cœur de s'adapter au changement de volume est le suivant : lorsque le cœur reçoit un volume supplémentaire de sang, ses chambres se distendent davantage entraînant une augmentation de la force de contraction du muscle cardiaque, et donc une

expulsion automatique de l'excédent du sang dans les artères. De plus, la distension des parois de l'oreillette augmente directement la fréquence cardiaque de 10 à 20 % entraînant une augmentation du volume de sang pompé par minute (Guyton et Hall, 2006).

I.1.3.2. Contrôle du système nerveux autonome

Le volume de sang pompé peut aussi être régulé par les nerfs sympathique et parasympathique qui innervent le cœur. La stimulation sympathique entraîne une augmentation de la force de contraction du cœur et donc un accroissement du volume d'éjection du cœur. Par contre la stimulation du parasympathique entraîne une chute de la fréquence cardiaque de 20 à 40 battements/min et une baisse de la force de contraction du cœur. Ces deux effets combinés contribuent à la réduction du volume de sang pompé par le cœur (Guyton et Hall, 2006). Une fois le sang éjecté du cœur, il est irrigué dans l'organisme grâce au système circulatoire.

I.1.4. Système circulatoire

Le sang pompé par le cœur circule dans tout le corps grâce à un système clos de vaisseaux sanguin. Le système circulatoire est responsable de l'approvisionnement des cellules de l'organisme en oxygène et en nutriments et de l'élimination du gaz carbonique et des déchets. Le réseau vasculaire de distribution du sang est constitué par les artères, les veines et les capillaires (Bakehe, 2013).

I.1.4.1. Artères

Les artères transportent le sang oxygéné du cœur vers les organes. Elles sont formées d'une paroi épaisse constituée de 3 couches (Figure 5a). De l'intérieur vers l'extérieur, on distingue l'intima, la media et l'adventice (Wheather *et al.*, 1988). Selon leur taille et leur fonction, on distingue les artères élastiques ou conductrices, les artères musculaires ou distributrices et les artérioles (Higuchi *et al.*, 2000 ; Bakehe, 2013).

I.1.4.2. Veines

Les veines apportent le sang provenant des capillaires jusqu'au cœur. Elles sont formées de trois couches avec une paroi beaucoup plus mince et une plus grande lumière que celle des artères (Figure 5b). Elles renferment à tout moment environ 65% du sang de l'organisme, d'où leur nom de réservoir de sang. Les veines sont dotées de valvules veineuses qui assurent l'écoulement unidirectionnel du sang (Bakehe, 2013).

I.1.4.3. Capillaires

Ce sont les plus petits vaisseaux. Ils sont constitués d'une couche de cellules endothéliales (Figure 5c). Ils mesurent environ 1mm de long avec un diamètre allant de 8 à 10 μm . Ils sont responsables de l'échange de substances entre le sang et le liquide interstitiel (Bakehe, 2013).

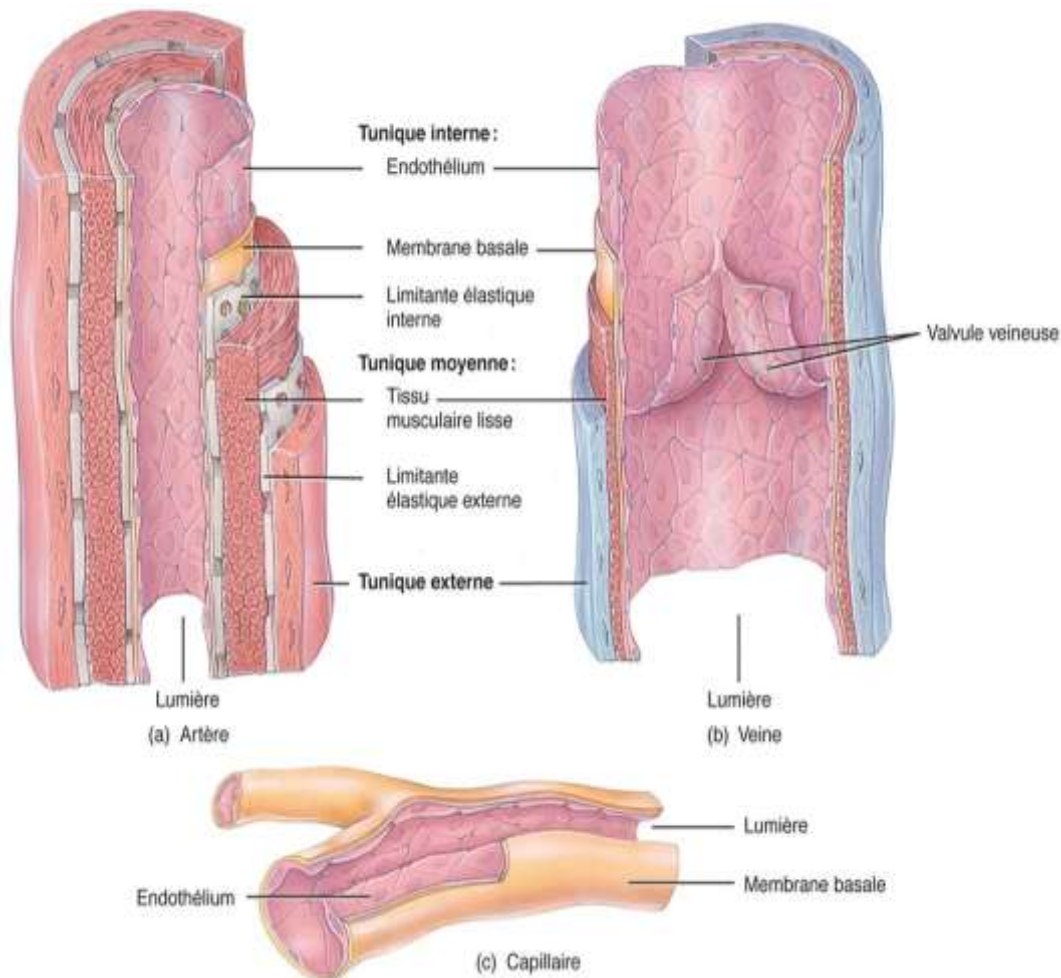


Figure 5 : Structures des artères, veines et capillaires (Campbell et Reese, 2007).

(a) : artères ; (b) : veines ; (c) : capillaires

La motricité des vaisseaux sanguins joue entre autre un rôle important dans la circulation sanguine.

I.2. Contraction /relaxation des cellules musculaires lisses vasculaires

La cellule musculaire lisse se contracte lorsque la concentration cytoplasmique en calcium est supérieure à $1\mu\text{M}$ et se relâche lorsque cette concentration descend en deçà de $1\mu\text{M}$ (Guyton et Hall, 2006).

I.2.1. Mécanisme de l'élévation du calcium intracellulaire

La cellule musculaire lisse vasculaire utilise le calcium beaucoup plus d'origine extracellulaire que sarcoplasmique pour augmenter sa concentration intracellulaire. L'augmentation du calcium intracellulaire peut être due à une modification du potentiel de membrane (initiation électromécanique) qui va entraîner une ouverture des canaux calciques voltage dépendants et l'entrée du calcium extracellulaire. La hausse du calcium intracellulaire peut aussi être due à la liaison d'un agoniste à un récepteur (initiation pharmacomécanique) qui va induire la libération du calcium des réserves intracellulaires (Ganong, 2005).

I.2.1.1. Couplage électromécanique

En fonction des territoires vasculaires, le potentiel de membrane des cellules musculaires varie de 45 à 70 mV. La modulation du potentiel de membrane dépend des canaux K^+ et des canaux Cl^- dépendants du calcium. L'augmentation de la concentration extracellulaire en K^+ entraîne une dépolarisation de la membrane plasmique. L'activation des canaux Cl^- entraîne la sortie du chlore responsable de la dépolarisation de la membrane plasmique. La modification du potentiel de membrane de 3 mV augmente (dépolarisation) ou diminue (hyperpolarisation) deux fois l'entrée de calcium par les canaux calciques voltage dépendants. Dans les cellules musculaires vasculaires, il existe les canaux calciques de types L (Long lasting) et T (Transient). Les canaux de types T sont activés par des dépolarisations moyennes et inactivés rapidement, alors que les canaux de types L sont activés par de fortes dépolarisations et inactivés plus lentement que les canaux de types T. (Sherwood, 2006).

I.2.1.2. Couplage pharmacomécanique

La liaison d'un agoniste à son récepteur peut induire une hausse du calcium intracellulaire en mettant en jeu plusieurs voies d'activation dont la plus importante est celle qui induit l'augmentation de l'inositol triphosphate (IP3). Après fixation de l'agoniste sur le récepteur, la protéine régulatrice G et la phospholipase C (PLC) sont activées. La phospholipase transforme le phosphatidyl inositol diphosphate (PIP2) de la membrane cellulaire en inositol triphosphate (IP3) et en diacylglycérol (DAG). L'IP3 va ensuite se fixer sur les récepteurs à IP3 (R-IP3) des canaux calciques du réticulum sarcoplasmique pour induire la sortie du calcium. Les récepteurs canaux calciques sensibles au calcium (R-IP3) et surtout les récepteurs canaux de la ryanodine (R-Rya) peuvent aussi être activés par le calcium libre du cytoplasme (résultant du calcium du réticulum sarcoplasmique et extracellulaire) induisant ainsi, le mécanisme de libération du calcium par le calcium ou « calcium induced calcium release » (CICR) qui va se mettre en

place et entraîner la sortie massive du calcium des réserves intracellulaires (Figure 6) (Toussaint *et al.*, 2005).

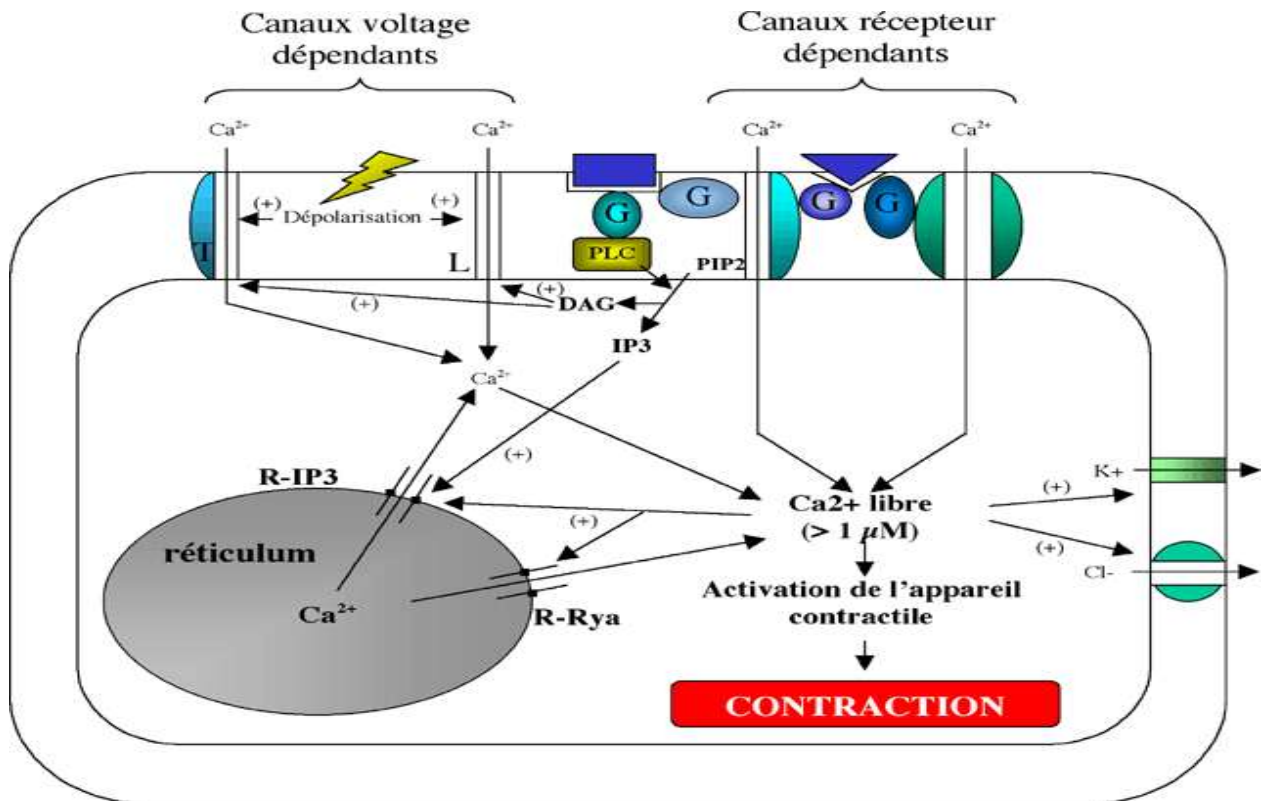


Figure 6: Mécanisme de la contraction des cellules musculaires lisses vasculaires. La contraction est principalement due à l'activation d'une phospholipase C (PLC) et à la production d'IP3 (Ganong, 2005).

DAG: Diacylglycérol; IP3: Inositol 1,4,5-trisphosphate cyclique ; PIP2: Phosphatidyl inositol-4,5-diphosphate cyclique; PLC : Phospholipase C ; R-Rya: Récepteur de la ryanodine; R-IP3 : Récepteur de l' IP3.

I.2.2. Mécanisme moléculaire de la contraction de la cellule musculaire lisse

Le calcium dans le milieu cellulaire va se fixer à la calmoduline dans la proportion de quatre ions calciques pour une molécule de calmoduline (Means *et al.*, 1991). Le complexe calcium/calmoduline va activer la kinase de la chaîne légère de la myosine (MLCK) qui va phosphoryler la chaîne légère de la myosine. Cette phosphorylation permet l'interaction actine-myosine et donc la contraction de la cellule musculaire lisse (Ikebe *et al.*, 1987).

I.2.3. Relaxation de la cellule musculaire lisse vasculaire

La relaxation peut être passive par libération de l'agent vasoconstricteur ou active lorsqu'un agent vasodilatateur se fixe sur le récepteur. Cette relaxation résulte d'un ensemble de mécanismes homéostatiques qui vont réduire le calcium.

La baisse du calcium intracellulaire peut être due à son expulsion à l'extérieur de la cellule ou à son recapture par le réticulum sarcoplasmique via les « Sarco-Endoplasmic Reticulum Ca^{2+} -ATPases » (SERCAs) (Figure 7). Les SERCAs sont inhibées lorsqu'elles sont liées au phospholambane (PLB) sous la forme déphosphorylée et le recapture du calcium par le réticulum est ralenti. Le PLB phosphorylé suite à une augmentation de l'AMPc ou du GMPC, va perdre son affinité avec les SERCAs et le transport du calcium va être accéléré. De plus les PKA et PKG peuvent phosphoryler dans la cellule musculaire lisse vasculaire, le R-IP3, les pompes calciques transmembranaires et la MLCK. La MLCK dans la cellule musculaire lisse est en compétition avec la « Myosin Light Chain Phosphatase » (MLCP) qui va déphosphoryler la chaîne légère de la myosine et entraîner la rupture du complexe actine-myosine (Ganong, 2005).

De même, la baisse de calcium intracellulaire peut être due également à une augmentation de l'efflux de calcium par stimulation des Ca^{2+} -ATPase de la membrane ou de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. La phosphorylation par la PKG diminue le relargage du calcium. Un autre mécanisme serait une hyperpolarisation due à l'activation des canaux K_{Ca} par la PKG (Toussaint, 2005). L'état de contraction des cellules musculaires lisses vasculaires est l'un des déterminants du niveau de pression artérielle (Ganong, 2005).

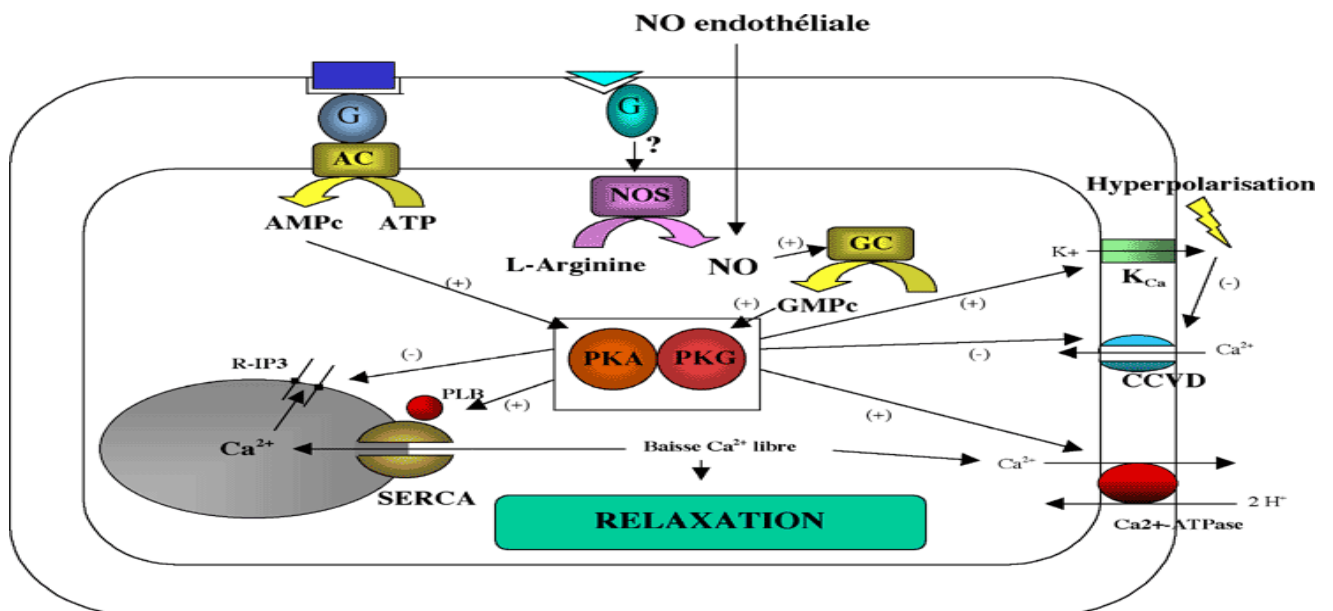


Figure 7 : Mécanismes de la baisse de Ca^{2+} dans les CMLV. La phosphorylation du phospholambane (PLB) va lever l'inhibition du PLB sur les SERCAs (Ganong, 2005).

ATP : Adénosine triphosphate ; AMPc : Adénosine monophosphate cyclique ; GMPc : Guanosine monophosphate cyclique ; NO : Oxyde nitrique ; NOS : NO synthase ; PKA : Protéines kinase A ; PKG : Protéines kinase G ; GC : Guanylate cyclase soluble ; AC : Adénylate cyclase ; CCVD : Canaux calcique voltage dépendant ; SERCA : Sarco-Endoplasmic Reticulum Ca^{2+} -ATPase ; PLB : Phospholambane, R-IP3 : Récepteur de l'IP3.

I.3. Physiologie de la circulation

Le bon fonctionnement du système circulatoire est indispensable à la vie. Il ravitaille les cellules de l'organisme en nutriments et en oxygène et collecte les déchets du métabolisme pour les éliminer par le biais des organes appropriés. Il existe trois facteurs importants dans l'étude de la circulation sanguine : le débit sanguin, la résistance périphérique et la pression sanguine.

Le débit sanguin est le volume de sang qui s'écoule sur une portion du vaisseau par unité de temps. Le débit sanguin correspond généralement au débit cardiaque. Il est constant au repos, mais peut varier en fonction des besoins d'un organe. La résistance est la force qui s'oppose à l'écoulement du sang. Elle résulte du frottement du sang sur la paroi des artères. La résistance périphérique est proportionnelle à la viscosité du sang et la longueur du vaisseau. Elle est inversement proportionnelle au diamètre du vaisseau. La pression sanguine est la force exercée par le sang sur la paroi d'un vaisseau par unité de surface (Ganong 2005). Le cœur et les vaisseaux assurent l'irrigation continue des organes et des tissus sous une pression plus ou moins constante appelée pression artérielle.

I.4. Pression artérielle

La pression artérielle est la force que le sang exerce sur la paroi des artères. D'une manière générale, la pression artérielle est le produit du débit cardiaque par la résistance périphérique. La mesure de la pression artérielle permet de déterminer quatre différentes pressions : la systolique, la diastolique, la moyenne et la pulsée ou différentielle (Guénard, 2001 ; Sherwood, 2006).

La pression systolique est la pression observée au cours de la systole ventriculaire. Elle est d'environ 120 mm Hg. Ses déterminants sont le débit d'éjection ventriculaire gauche, les résistances périphériques, les ondes de réflexion périphériques et l'état de la paroi des grosses artères. La pression diastolique est la pression minimale observée au cours de la diastole ventriculaire. Elle varie de 70 à 80 mm Hg chez l'adulte en bonne santé. Elle dépend essentiellement des résistances périphériques artériolaires. La pression différentielle est la différence entre la pression systolique et la pression diastolique. Sa valeur s'élève de façon chronique chez les personnes atteintes d'artériosclérose, ceci à cause de la perte de l'élasticité des artères avec pour conséquence l'augmentation de la pression systolique (Asmar, 2007). La pression artérielle moyenne est la pression qui propulse le sang dans les tissus tout au long de la révolution cardiaque. Elle ne représente pas seulement la moyenne de la pression systolique

et diastolique, car la diastole dure plus que la systole. Elle correspond approximativement à la pression diastolique, additionnée au tiers de la pression différentielle (Sherwood, 2006).

Afin d'assurer le bon fonctionnement de l'organisme, la pression artérielle doit être maintenue constante. Pour ce faire, de nombreux mécanismes entrent en jeu, soit pour influencer la résistance périphérique des vaisseaux, soit pour modifier le fonctionnement du cœur.

I.4.1. Régulation de la pression artérielle

La pression artérielle est régulée par plusieurs systèmes associés accomplissant chacun des fonctions spécifiques (Figure 8). On distingue des systèmes de régulation à court terme et à long terme (Silbernagl et Despopoulos, 2001).

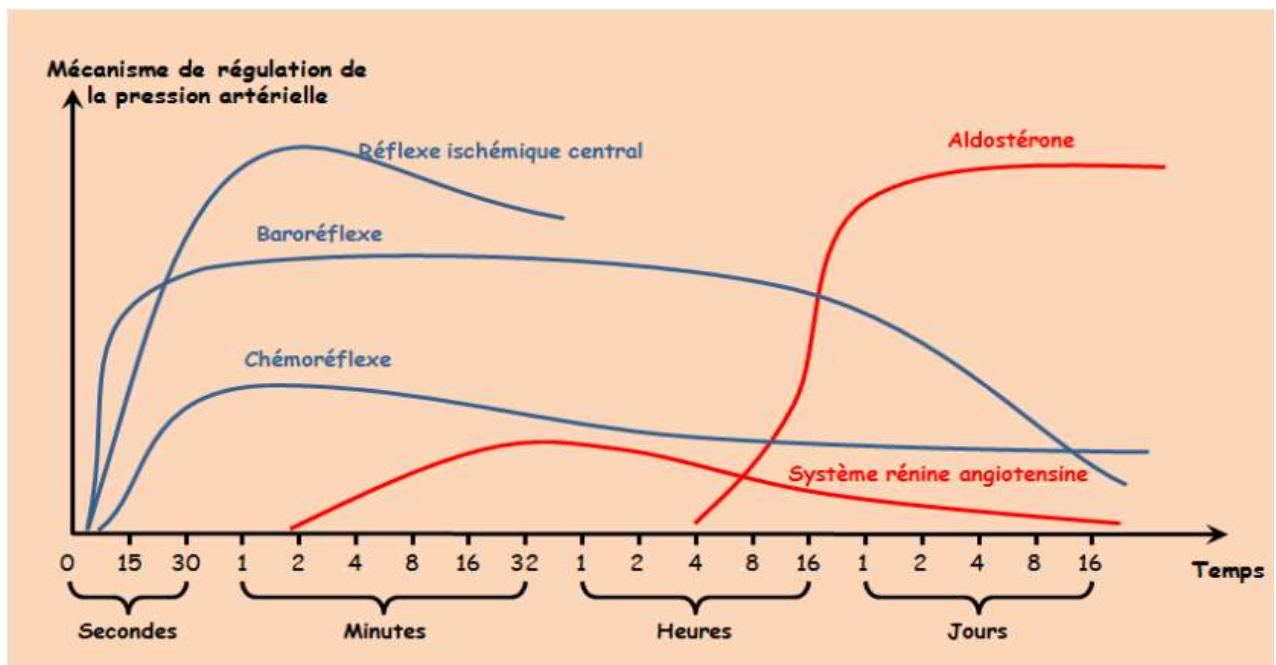


Figure 8: Mécanismes de régulation de la pression artérielle. (Asmar, 2007).

I.4.1.1. Mécanismes de régulation à court terme

Il s'agit des mécanismes qui réagissent rapidement aux variations de la pression artérielle, par l'intermédiaire du contrôle nerveux ou hormonal, permettant ainsi le retour immédiat de la pression à sa valeur normale (Silbernagl et Despopoulos, 2001).

I.4.1.1.1. Mécanisme nerveux à action rapide

Ce mécanisme fait intervenir les chémorécepteurs, le reflexe ischemique central et les barorécepteurs.

- Les chémorécepteurs situés au niveau de la crosse aortique, du sinus carotidien et à l'origine de l'artère occipital interviennent en cas d'hypoxie et d'hypercapnie.
- Les barorécepteurs encore appelés tensorécepteurs quant à eux sont situés dans les parois du cœur et dans les grosses artères systémiques. Ils sont stimulés par la distension des structures où ils se trouvent. Lorsque la pression augmente, ces barorécepteurs déchargent à une pression plus grande que celle de la structure. Les impulsions qui en résultent, inhibent le centre vasomoteur médullaire et excitent le centre vagal avec pour conséquence, la vasodilatation du système circulatoire périphérique, une diminution de la fréquence et de la force de contraction du myocarde. Ces deux mécanismes contribuent à réduire la pression artérielle.
- Le réflexe ischémique central entre en jeu lorsque la pression chute en deçà de 50 mmHg. Le cerveau se trouve alors en état d'ischémie car sa perfusion devient insuffisante. Dans un tel contexte, le centre vasomoteur devient alors hyperactif. Il s'ensuit une vasoconstriction périphérique intense avec une augmentation de la pression moyenne qui peut atteindre 270 mm Hg (Marieb, 1998).

I.4.1.1.2. Mécanismes hormonaux à action rapide.

Ils sont aussi qualifiés de contrôle à moyen terme. Il s'agit du système vasoconstricteur adrénaline-noradrénaline, du système rénine-angiotensine et du système vasoconstricteur faisant intervenir la vasopressine.

- ***Le système vasoconstricteur adrénaline-noradrénaline***

La stimulation du système sympathique entraîne en plus de l'activation nerveuse, une décharge d'adrénaline et de noradrénaline par la médullo surrénale. Ces hormones peuvent atteindre des territoires ne bénéficiant pas d'une stimulation sympathique, et induire une vasoconstriction durant 1 à 3 min environ avant d'être détruites (Marieb, 1998).

- ***Le système rénine-angiotensine***

Ce mécanisme ne se met en jeu qu'au bout de 20 minutes et sa durée d'action est plus longue. En effet, la baisse de la pression artérielle stimule la production de la rénine par les reins. La rénine catalyse la conversion de l'angiotensinogène du foie en angiotensine I qui sera convertie à son tour en angiotensine II grâce à l'enzyme de conversion de l'angiotensine. Ce qui entraîne une augmentation de la concentration sanguine en angiotensine II. L'angiotensine

Il stimule alors la production d'aldostérone, qui va induire la rétention du sel et de l'eau, conduisant à une augmentation de la pression artérielle (Marieb, 1998).

Le système vasoconstricteur faisant intervenir l'hormone antidiurétique

Dans les conditions normales, l'hormone antidiurétique (ADH) joue un rôle minime dans la régulation à court terme de la pression artérielle. Cependant, une chute dangereuse de la pression artérielle (en cas d'hémorragie) peut induire une sécrétion accrue d'ADH, qui va conduire à un rétablissement prompt de la pression artérielle en provoquant une vasoconstriction intense et une augmentation de la volémie (Marieb, 1998).

Ces mécanismes à court terme bien efficaces, perdent leurs performances au bout de quelques jours et passent le relais aux mécanismes de régulation à long terme faisant intervenir les reins et les liquides biologiques (Silbernagl et Despopoulos, 2001).

I.4.1.2. Mécanisme de régulation à long terme par les reins et les liquides biologiques.

Ce système est lent à agir et son efficacité maximale n'est atteinte qu'au bout de plusieurs heures. L'augmentation de la pression artérielle entraîne une augmentation de la vitesse de passage des liquides du compartiment sanguin vers les tubules rénaux. Cependant, les reins ne peuvent pas traiter aussi rapidement le filtrat glomérulaire et un plus grand volume de liquide passe dans les urines. L'excrétion de l'eau par les reins se trouve ainsi augmentée et conduit à une baisse de la volémie. La baisse de la volémie entraîne une diminution du retour veineux et par la même occasion, la baisse du débit cardiaque qui ramène la pression artérielle à sa valeur normale (Guyton et Hall, 2006).

I.4.2. Autres voies de régulation de la pression artérielle

L'endothélium est une couche de monocellulaire qui garantit la qualité de la macrocirculation et de la microcirculation. Il joue un rôle important dans la régulation du tonus vasculaire. Les cellules endothéliales sont responsables de la production de puissants facteurs vasodilatateurs (monoxyde d'azote, prostacycline, facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium) et des facteurs vasoconstricteurs (endothéline-1, prostanoïdes vasoconstricteurs, anion superoxyde). Dans les conditions physiologiques normales, les facteurs vasodilatateurs et vasoconstricteurs sont en équilibre et, les produits vasodilatateurs protègent la paroi artérielle contre les effets vasoconstricteurs s'exerçant par l'intermédiaire des systèmes hormonaux ou des peptides sécrétés par les plaquettes (Duong-Quy *et al.*, 2011). Ainsi, lorsque les agonistes vasorelaxants activent les cellules endothéliales, il se produit une augmentation d'inositol

triphosphate (IP3) qui peut contribuer à l'accroissement de Ca^{2+} cytoplasmique en le libérant du réticulum sarcoplasmique. Cette augmentation de Ca^{2+} active la NO synthase (NOS), la cyclo-oxygénase, et conduit à la libération du facteur hyperpolarisant endothélial (EDHF). Le NO provoque la relaxation en activant la formation du guanosine monophosphate cyclique (GMPc) à partir de la guanosine triphosphate (GTP) par l'intermédiaire de la guanylate-cyclase soluble (GC). L'EDHF provoque l'hyperpolarisation et la relaxation en augmentant la conductance potassique. La prostacycline (PGI_2) génère la relaxation en activant l'adénylate-cyclase (AC), ce qui conduit à la formation de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc). L'hyperpolarisation et l'augmentation des facteurs tels que l'AMPc et le GMPc sont tous responsables de la baisse du taux de calcium, et ainsi, de la relaxation (Vanhoutte, 2003) (Figure 9). La perte de cet équilibre en faveur des substances vasoconstrictrices, conduit à une altération du potentiel vasodilatateur de l'endothélium qui est le marqueur principal de la dysfonction endothéliale. Le déficit en substances vasodilatatrices de façon permanente va aboutir à une hausse des résistances périphériques conduisant à l'installation de l'hypertension artérielle (Puddu *et al.*, 2000).

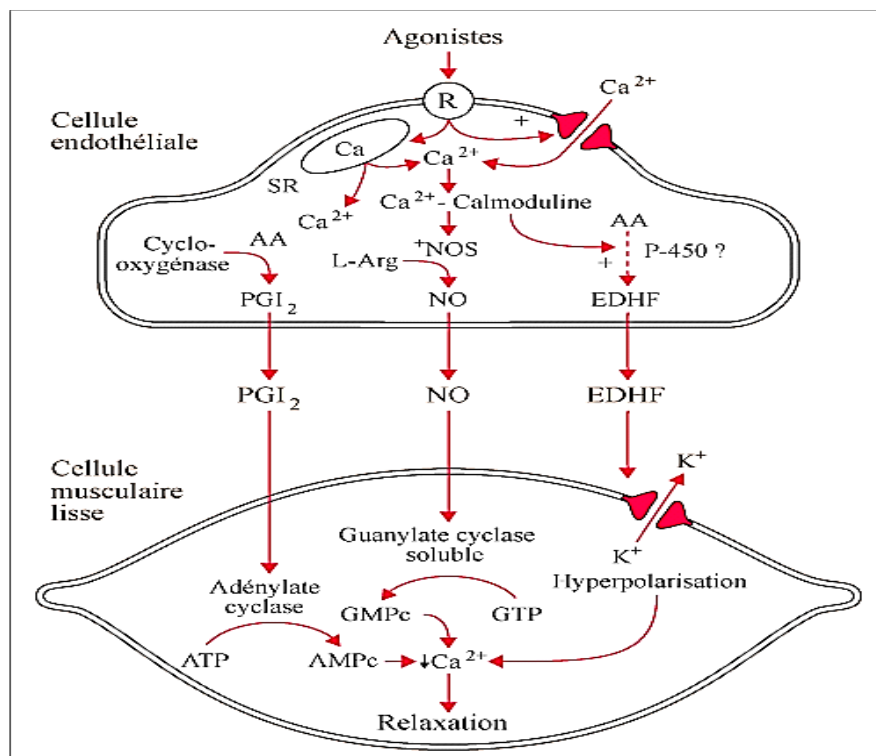


Figure 9 : Activation des récepteurs endothéliaux (R) induisant un accroissement en calcium intracellulaire dans le cytoplasme de la cellule endothéliale (Vanhoutte, 2003)

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique, GMPc : Guanosine monophosphate cyclique, AA : Acide arachidonique, L-arg : L- arginine, P-450 : phytochrome 450, SR : Réticulum sarcoplasmique.

I.5. Hypertension artérielle

I.5.1. Définition et classification

L'hypertension artérielle est un état dans lequel les vaisseaux sanguins sont constamment soumis à une pression élevée. Elle est marquée par une pression artérielle systolique supérieure ou égale à 140 mm Hg et une diastolique supérieure ou égale à 90 mm Hg (OMS, 2013). Le tableau I présente les différents niveaux de pression artérielle. Dans 90 % des cas, les causes de l'hypertension ne sont pas connues, on parle alors de l'hypertension essentielle. Toutefois, les facteurs tels que le régime alimentaire, l'âge, le sexe, l'obésité, la race, l'hérédité, le stress et le tabagisme peuvent y contribuer. Dans 10 % des cas, l'origine de l'hypertension est bien connue et on parle d'hypertension secondaire. Elle peut être due à des troubles tels que l'hypersécrétion de rénine, l'artériosclérose, le syndrome de Cushing ou l'hyperthyroïdie.

Tableau I: Définition et classification des niveaux de pression artérielle (OMS,1999)

Catégorie	PA systolique (mm Hg)	PA diastolique (mm Hg)
PA optimale	< 120 et	< 80
PA normale	120 – 129 et/ou	80 – 84
PA normale–haute (pré-HTA)	130 – 139 et/ou	85 – 89
HTA de grade 1 (légère)	140 – 159 et/ou	90 – 99
HTA de grade 2 (modérée)	160 – 179 et/ou	100 – 109
HTA de grade 3 (sévère)	≥ 180 et/ou	≥ 110
HTA systolique isolée	≥ 140 et	< 90

PA : pression artérielle ; HTA : hypertension artérielle

Les causes de l'hypertension artérielle sont très variées. Elles peuvent aller du remodelage vasculaire (dysfonctionnement endothéliale) à la production excessive des espèces réactives oxygénées.

I.6. Stress oxydatif

Le stress oxydatif traduit le déséquilibre entre la production des prooxydants (radicaux libres, espèces réactives à l'oxygène (ERO), espèces réactives à l'azote (ERN)) et les systèmes de défenses antioxydantes avec comme conséquence, l'apparition de dégâts dans la cellule (Rodrigo *et al.*, 2007). Les radicaux libres sont des molécules ou atomes contenant un ou plusieurs électrons célibataires sur la couche orbitale externe qui leur confèrent une instabilité énergétique et cinétique (Pincemail *et al.*, 2002 ; Beaudoux *et al.*, 2006 ; Koechlin-Ramonatxo,

2006). Parmi les espèces réactives, on peut citer l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le radical peroxyde (ROO^{\cdot}) et le radical alkoxyde (RO^{\cdot}). L'oxyde nitrique (NO^{\cdot}) et le dioxyde d'azote (NO_2^{\cdot}) sont deux radicaux libres azotés. Ces espèces réactives à l'oxygène et à l'azote peuvent être converties en espèces non radicalaires telles que l'oxygène singulet (O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), les hydroperoxydes ($ROOH$) ou encore l'anion peroxydite ($-OONO$) (Andrea *et al.*, 2005 ; Valko *et al.*, 2007).

I.6.1 Importance des radicaux libres

Les radicaux libres jouent un rôle important dans l'origine de la vie et l'évolution biologique par leurs effets bénéfiques sur les organismes vivants. Par exemple, les ERO peuvent agir comme signaux de transcription génique (Zheng *et al.*, 2000). Le NO est l'une des molécules de signalisation la plus répandue et il participe au fonctionnement de presque toutes les cellules et les organes du corps. La production de NO par les cellules endothéliales est essentielle pour la relaxation et la prolifération des cellules musculaires lisses, pour l'adhésion leucocytaire, l'agrégation plaquettaire, l'angiogenèse et le tonus vasculaire (Ignarro *et al.*, 1999). De plus, le NO produit par les neurones sert de neurotransmetteur tandis que le NO produit par les macrophages sert de médiateur pour la réponse immunitaire (Fridovich, 1999).

I.6.2. Inconvénients des radicaux libres

Au-delà des concentrations physiologiques normales, les radicaux libres tels que l'oxygène singulet, le radical superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et l'oxyde nitrique peuvent devenir des oxydants très cytotoxiques. Ils vont donc endommager les cellules des mammifères s'ils ne sont pas neutralisés, et être responsables de la pathogenèse de plusieurs maladies chroniques (Fridovich, 1999, Evans et Halliwell, 2001).

I.6.3. Mécanismes pro-oxydants

Les ERO et les ERN peuvent avoir une origine exogène (exposition au soleil, aux produits chimiques et aux métaux toxiques, consommation de tabac et d'alcool) ou endogène au niveau des membranes, des organites (peroxysomes, lysosomes, réticulum endoplasmique, mitochondrie) et du cytoplasme de différents types cellulaires à travers des réactions enzymatiques ou non enzymatiques. La principale source de production des espèces réactives est la chaîne respiratoire mitochondriale où environ 2 à 3 % de l'oxygène destinée pour la respiration sont plutôt transformés en anion superoxyde qui déclenche la chaîne de formation des autres espèces réactives (Pincemail *et al.*, 2002 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006). D'autres systèmes enzymatiques pouvant produire potentiellement des ERO aussi bien au niveau du tissu

vasculaire, myocardique que des cellules inflammatoires sont, les NADPH oxydases, le système xanthine oxydoréductase, la NO synthase, la myéloperoxydase et les lipoxygénases (Negrey-Salvayre et Salvayre, 2005 ; Beaudoux *et al.*, 2006).

I.6.4. Défenses antioxydantes

Dans les conditions physiologiques normales, la production d'ERO est généralement sous le contrôle homéostatique grâce à un système de défense endogène qui permet de maintenir la balance redox cellulaire. On distingue les antioxydants primaires ou radicalaires qui permettent de stopper la chaîne autocatalytique grâce à la formation d'un radical beaucoup plus stable, et les antioxydants secondaires ou préventifs qui empêchent la formation des radicaux libres (Berset et Cuvelier, 1996).

I.6.4.1. Défenses enzymatiques

Les défenses enzymatiques protègent la cellule contre le stress oxydant à travers des processus tels que la génération d'antioxydants endogènes ou encore la réduction de la mort cellulaire programmée (Venardos *et al.*, 2007). Il s'agit de :

- la superoxyde dismutase (SOD) qui catalyse dans la mitochondrie, la dismutation de l'anion superoxyde, en eau et peroxyde d'hydrogène (Nozick-Grayck *et al.*, 2005).
 - la catalase convertit le peroxyde d'hydrogène formé au cours de la bêta-oxydation de nombreux substrats en eau et oxygène. Elle est présente dans le foie, les reins, les globules rouges et en faible quantité dans le myocarde (Yazar *et al.*, 2004).
 - la glutathion peroxydase est responsable de l'élimination de la quasi-totalité du peroxyde d'hydrogène dans le cytosol et dans l'espace extracellulaire. Elle est l'enzyme clé du système et nécessite la présence du glutathion réduit (GSH) comme donneur d'électrons (Yazar *et al.*, 2004). Le rapport GSH/GSSG est un index de l'état d'oxydation dans la cellule.
- la thiorédoxine réductase est membre de la famille des protéines pyridine disulfide nucléotidique incluant la lipoamide déshydrogénase, la mercure réductase et la glutathion réductase. Elle catalyse la réduction d'une grande variété de substrats tels que la thiorédoxine, la vitamine K, l'alloxane et les hydroperoxydes lipidiques. Le système thiorédoxine réductase/thiorédoxine intervient dans la capture directe des ERO et ERN (Papp *et al.*, 2007).

I.6.4.2. Les défenses non-enzymatiques

Il s'agit en général, de petites molécules qui présentent des propriétés de type « substrat suicide » qui peuvent être, ou non, métaboliquement réparées ou recyclées. Ces molécules opèrent comme bouclier antioxydant en devenant elles-mêmes radicalaires, et protègent les acides nucléiques, les protéines et les lipides (Jeanette *et al.*, 2005). Parmi ces molécules, on distingue :

- les molécules liposolubles qui regroupent essentiellement les tocophérols ou vitamine E, les caroténoïdes et les quinones, qui sont pour la plupart, efficaces contre la propagation de la peroxydation lipidique (Krinsky, 1989 ; Neuzil et Stocker, 1993 ; Hodgson et Watts, 2003).
- les molécules hydrosolubles qui regroupent essentiellement l'acide ascorbique (vitamine C), l'acide urique, et différentes protéines (fixatrices de métaux, de l'hème ou de protéines à hème) (Heller *et al.*, 2001 ; Pincemail *et al.*, 2002 ; Nakhostin-Roohi *et al.*, 2008).

Toutes ces défenses peuvent être renforcées par des apports exogènes parmi lesquels l'acide α -lipoïque, les polyphénols (flavonoïdes, tannins, catéchines, anthocyanines), les alcaloïdes et les phytates. Enfin, un système secondaire de défense composé de phospholipases, d'ADN d'endonucléases, de ligases et de macroxyprotéinases empêche l'accumulation dans la cellule de lipides, d'ADN et de protéines oxydés et participe à l'élimination de leurs fragments toxiques (Pincemail *et al.*, 2002).

I.6.5. Evaluation du stress oxydatif

Le stress oxydatif peut être mesuré de plusieurs façons en fonction des conditions expérimentales, de la disponibilité des outils analytiques et de l'intérêt du chercheur. Il existe trois approches différentes :

- la détermination des niveaux d'antioxydants endogènes ;
- la mesure des produits générés par l'oxydation des macromolécules;
- la détection directe des radicaux libres.

Afin d'évaluer la capacité antioxydante dans la plupart des études, on mesure l'activité des enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase et réductase, la superoxyde dismutase et la catalase. Les produits d'oxydation des macromolécules incluent les peroxydes

lipidiques, les isoprostanes, le malondialdéhyde, le 4-hydroxynonanal (4-HNE) et les protéines nitrotyrosine. La capacité antioxydante des produits exogènes *in vitro* peut être déterminée par l'évaluation de leur capacité de réduction du fer, d'inhibition du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH), de piégeage du radical hydroxyle, du radical superoxyde et de l'oxyde nitrique, ainsi que par la détermination de leur pouvoir réducteur (Agbor *et al.*, 2006 ; Katalinié *et al.*, 2004; Dongmo *et al.*, 2007 ; Kakoti *et al.*, 2007).

I.6.6. Stress oxydant, dysfonctionnement endothélial et hypertension artérielle

De nombreuses études expérimentales ont montré que le stress oxydatif est fortement impliqué dans la pathogenèse de l'hypertension artérielle (Gomez-Amores *et al.*, 2007; Beaudeau *et al.*, 2006 ; Rodrigo *et al.*, 2007 ; Ciocoiu *et al.*, 2013). En effet, une production anormalement élevée d'ERO au sein du tissu vasculaire, suite à différents stimuli, génère un stress oxydant au niveau des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses. Trois mécanismes intracellulaires se complètent pour modifier l'homéostasie redox cellulaire vers un état pro-oxydant temporaire ou permanent. Il s'agit de l'activation de la NADPH oxydase vasculaire, de l'hyperproduction mitochondriale de l'anion superoxyde, et de la diminution de la biodisponibilité du monoxyde d'azote, puissant vasodilatateur (Beaudeau *et al.*, 2006). Cette réduction de l'oxyde nitrite induira donc une vasoconstriction, suivie d'une augmentation des résistances vasculaires périphériques et ainsi, de l'élévation de la pression artérielle. Il a été démontré que l'administration d'antioxydants exogènes est capable d'améliorer le statut oxydatif vasculaire par réduction des ROS chez les modèles d'animaux hypertendus et les humains (Rodrigo *et al.*, 2007).

La compréhension de l'hypertension artérielle (étiologie et mécanisme) et même le traitement nécessite l'existence des modèles expérimentaux proches des formes humaines.

I.7. Modèles d'hypertension artérielle

L'hypertension artérielle essentielle est une maladie complexe qui résulte de la combinaison de plusieurs facteurs. Dans le but de comprendre sa pathogenèse, et d'en développer des traitements, plusieurs modèles d'hypertension expérimentales ont été développés chez les animaux.

I.7.1. Hypertension rénovasculaire

Des études ont montré que la constriction de l'artère rénale entraîne une hypertension (Kaur *et al.*, 2011). On distingue trois types d'hypertension selon la méthode de Goldblatt en 1934.

I.7.1.1. Hypertension 2K1C (“two kidneys one clip”)

Elle est obtenue à la suite de la pose d'un clamp autour de l'artère rénale d'un rein afin d'en réduire le flux sanguin. Ceci entraîne une élévation de la pression artérielle due à l'augmentation de rénine plasmatique rénale suivie d'une augmentation du taux d'angiotensine II vasoconstrictrice. Il n'y a pas de rétention d'eau et de sel grâce à la présence de l'autre rein resté intact. Mais au-delà de 6 semaines, l'élévation de l'angiotensine II stimule la libération d'aldostérone et donc une hypervolémie qui va induire la baisse du taux de rénine (Badyal *et al.*, 2003 ; Dornas et Silva, 2011 ; Kaur *et al.*, 2011).

I.7.1.2. Hypertension 1K1C (“one kidney one clip”)

Elle est réalisée par une néphrectomie unilatérale avec un clamp de l'artère du rein présent. La pression artérielle s'élève en quelques heures et est rapidement dépendante du volume, à cause de la rétention de sel et d'eau. Dans ce modèle, l'activité de la rénine plasmatique est normale (Kaur *et al.*, 2011).

I.7.1.3. Hypertension 2K2C (“two kidneys two clip”)

Elle est obtenue par un clamp de l'aorte ou des deux artères rénales. L'ischémie résultante stimule l'élévation de rénine et donc de la pression artérielle. Le tissu rénal restant retient le sel et l'eau. Le plus souvent, c'est l'ischémie rénale qui est la cause de l'hypertension rénale (Kaur *et al.*, 2011).

I.7.2. Hypertension diététique

La soumission des animaux ou des hommes à un régime spécial (sel, graisse, sucre) durant une longue période peut entraîner une hypertension artérielle (Bilanda *et al.*, 2010 ; Tom *et al.*, 2010 ; Bella *et al.*, 2013). L'administration de sel dans de l'eau de boisson (1-2 %) entraîne une hypertension à partir du 9^{ème} mois. Si une néphrectomie unilatérale est associée à la prise élevée de sel, l'hypertension s'obtient à partir du 3^{ème} mois (Badyal *et al.*, 2003). L'administration chronique de sel entraîne la réduction de la superoxyde dismutase conduisant à la baisse de nitrates et l'augmentation de l'anion superoxyde au niveau plasmatique et rénal (Bopda *et al.*, 2014). Ceci altère la vasorelaxation endothélium dépendante et conduit au développement de l'hypertension artérielle (Roberts *et al.*, 2000).

La prise chronique de grandes quantités de graisses et de sucre, particulièrement les sucres simples (glucose, fructose) entraîne une hypertension marquée par une hyperlipidémie, une

insulinorésistance et une altération rénale (Sharma *et al.* 2007 ; Tom *et al.*, 2010). On note également une réduction du NO (Roberts *et al.*, 2003).

I.7.3. Hypertension endocrine

Le modèle généralement utilisé est celui de la désoxycorticostérone acétate et sel (DOCA-Sel). Il est caractérisé par une augmentation de la réabsorption d'eau et de sel, suivie d'une élévation du volume sanguin et de ce fait, de la pression artérielle. On enregistre aussi une élévation de la concentration de vasopressine conduisant à une augmentation de la réabsorption d'eau et une vasoconstriction. En plus, l'altération du système rénine-angiotensine-aldostérone observée conduit à une hyperactivité du système sympathique (Hakim et Goyal, 2000). Ce modèle est également marqué par une augmentation du stress oxydatif due à l'élévation de l'anion superoxyde (Ortiz et Garvin, 2001).

L'hypertension endocrine peut aussi être obtenue par une néphrectomie unilatérale suivie de l'ablation de la glande surrénale droite et de l'énucléation de la glande surrénale gauche. L'eau de boisson est remplacée par de l'eau saline à 1%. L'hypertension s'installe au bout de deux semaines (Dornas et Silva, 2011).

I.7.4. Hypertension psychogénique

Elle est due à une exposition de l'animal de façon répétée à des situations stressantes (Hatton *et al.*, 1993).

I.7.5 Hypertension neurogénique

Elle résulte d'une dénervation des barorécepteurs sinoaortique ou d'une stimulation électrique ou chimique de certaines zones du cerveau (Sharma, 1985).

I.7.6. Hypertension génétique

Il s'agit des modèles d'hypertension qui apparaissent chez une progéniture issue des croisements appropriés. On peut citer :

- les rats spontanément hypertendus (SHR) qui est être un excellent modèle expérimental qui mime l'hypertension essentielle humaine et ses complications (Kaur *et al.*, 2011).
- les rats «stroke-Prone Spontaneous Hypertensive Rats» (SHRSP) représentent un bon modèle pour étudier l'attaque cardiaque humaine. Ils sont caractérisés par une

hypertrophie cardiaque, une résistance vasculaire, la présence des plaques d'athéroscléroses (Henning *et al.*, 2010)

- les «Dahl-Salt sensitive rats» (DS rats) présentent une sensibilité élevée au sel. Ils développent une hypertension en s'alimentant avec un régime contenant du sel en quantité normale. Ils présentent des néphropathies sévères et un dysfonctionnement endothélial (Nagase *et al.*, 2006).
- les modèles d'hypertension transgéniques développent une hypertension suite à la surexpression d'un gène spécifique. On a par exemple les rats transgéniques TGR (mREN2)27 qui produisent de la rénine en excès (Bader *et al.*, 1992). Ils présentent une hypertension fulminante (200-260 mm Hg de pression systolique) à partir de la 5^{ème} semaine.
- les «Bordeline hypertensive Rats» (BHR) représentent un modèle d'hypertension génétique induite par l'environnement. Ces rats présentent une concentration plasmatique élevée de norépinephrine et des variations de la réactivité vasculaire suite au stress environnemental. Ces animaux sont caractérisés par une élévation du taux de vasopressine et une hypertrophie cardiaque (Dornas et Silva, 2011).
- hypertension liée à l'obésité : Ce sont les « Wistar Fatty rats » (WFR) issus d'un croisement entre les rats obèses Zucker et les rats Kyoto. Ils présentent une hyperinsulinémie persistante et une hypertension à partir de 16 semaines d'âge. C'est un bon modèle pour étudier la relation entre l'hypertension et l'hyperinsulinémie (Yamakawa *et al.*, 1995).

I.7.7. Hypertension induite par les agents cholinomimétiques.

Les agents cholinomimétiques (Physostigmine, oxotremorine) élèvent la pression artérielle via un mécanisme cholinergique central et l'activation du système nerveux sympathique (Buccafusco, 1996).

I.7.8. Hypertension induite par l'angiotensine II

L'administration sous cutanée d'angiotensine II entraîne une hypertension dans une période allant de 4 à 8 semaines (Kaur *et al.*, 2011).

I.7.9. Hypertension induite par le cadmium

L'administration des métaux lourds peut mimer l'effet du calcium comme un agoniste partiel et provoquer une contraction du muscle lisse vasculaire (Rathod *et al.*, 1997).

I.7.10. Hypertension induite par ischémie utérine

Comme dans le cas d'une préclampsie, l'ischémie utérine peut conduire à une hypertension (Combs *et al.*, 1993 ; Davisson *et al.*, 2002)

I.7.11. Hypertension induite par inhibition chronique de l'oxyde nitrique

L'administration de N^w-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) va entraîner une hypertension à partir de 4 semaines par inhibition de l'effet relaxant de l'oxyde nitrique sur la cellule musculaire lisse (Li *et al.*, 1996). Ce modèle est caractérisé par une altération rénale, une vasoconstriction périphérique et donc une augmentation des résistances périphériques vasculaires (Baylis *et al.*, 1992; Ribeiro *et al.*, 1992) et une hypertrophie du ventricule gauche (Bartunek *et al.*, 2000).

La maîtrise des mécanismes impliqués dans le développement de l'hypertension artérielle facilite la mise sur pied des traitements adéquats pour les patients, afin d'empêcher la survenue de maladies graves et invalidantes telles que l'accident cérébral vasculaire, l'infarctus du myocarde, l'insuffisance cardiaque et l'insuffisance rénale.

I.8. Traitements de l'hypertension artérielle

Les traitements antihypertenseurs font intervenir les traitements non pharmacologiques et les traitements pharmacologiques.

I.8.1. Traitements non pharmacologiques

Les modifications de l'hygiène de vie ont montré leur aptitude à réduire la pression artérielle quel que soit le niveau initial de pression. Les principales mesures efficaces sont (Blacher *et al.*, 2005) :

- la réduction pondérale, la réduction de sel dans l'alimentation ;
- une alimentation de type «Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH)» qui favorise la prise des fruits, des légumes et des produits allégés en graisses ;
- la pratique d'une activité physique ;
- la réduction de la consommation d'alcool et de tabac.

Toutefois, ces mesures hygiéno-diététiques agissent mieux lorsqu'elles sont associées avec les thérapeutiques pharmacologiques.

I.8.2. Traitements pharmacologiques

Les médicaments antihypertenseurs visent à réduire la volémie, les résistances périphériques et/ou le débit cardiaque. Ils agissent soit sur la fibre musculaire lisse, soit sur le système nerveux sympathique, soit sur le système rénine angiotensine.

Les antihypertenseurs font partie des classes suivantes :

- **les diurétiques**

Leur principale action consiste à inhiber la réabsorption du sodium au niveau du tube rénal. Ils réduisent la réactivité vasculaire aux agents presseurs (noradrénaline, angiotensine, vasopressine) en inhibant les flux sodiques et même calciques. Cette action musculaire directe pourrait expliquer la réduction des résistances périphériques. On distingue les diurétiques de l'anse qui inhibent le co-transport Na-K-Cl, les diurétiques thiazides qui inhibent le symport Na-Cl et les diurétiques distaux qui bloquent les effets de l'aldostérone tels que la spironolactone (Jeunesse *et al.*, 2007 ; Sakurabayashi-Kitade *et al.*, 2009).

- **les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine**

Ils inhibent la synthèse de l'angiotensine II et la dégradation de la bradykinine. Ils entraînent une baisse de la pression artérielle par réduction des résistances périphériques et artériolaires (Kobori *et al.*, 2007 ; Silva *et al.*, 2011). On peut citer le captopril, l'énalapril et le périndopril.

- **les inhibiteurs de l'angiotensine II**

Ils bloquent les effets vasoconstricteurs de l'angiotensine II et la sécrétion de l'aldostérone (Sakurabayashi-Kitade *et al.*, 2009). Il s'agit du losartan, valsartan et de l'irbésartan.

- **les inhibiteurs calciques**

Ils inhibent l'entrée du calcium par les canaux calciques voltage-dépendants de type L et réduisent les résistances artérielles périphériques (Kassi *et al.*, 2008). Il s'agit de la nifédipine, la nicardipine et la féلودipine.

- **les Alpha bloquants**

Ils inhibent les récepteurs adrénrgiques de types alpha-1 et diminuent les résistances artérielles périphériques en inhibant les effets vasoconstricteurs adrénrgiques (Girerd *et al.*, 2005). On peut citer la prazosine, l'urapidil et l'hydralazine.

- **les Beta bloquants**

Ils inhibent les récepteurs adrénrgiques de type bêta et réduisent le débit cardiaque. Ils inhibent aussi la production de la rénine (Bruce *et al.*, 2008). On peut citer le propranolol, l'atenolol et le betaxolol.

- **les NO mimétiques**

Il s'agit des précurseurs de l'oxyde nitrique tel que le nitroprussiate de sodium.

- **les antihypertenseurs centraux**

Ils sont peu prescrits actuellement. Ils ont la capacité d'inhiber le système nerveux central (Girerd *et al.*, 2005). Il s'agit de la clonidine et l'alpha-méthyl-dopa.

- **les inhibiteurs de rénine**

Il s'agit des inhibiteurs de rénine tels que l'aliskiren qui agissent en bloquant directement l'action de la rénine (Menard et Azizi, 2007).

I.9. Phytothérapie

Plusieurs plantes utilisées de façon empirique par les populations pour le traitement de l'hypertension artérielle, se sont révélées efficaces après des études scientifiques munitieuses. C'est ainsi que les propriétés antihypertensives de *Mammea africana* chez les rats rendus hypertendus par le L-NAME ont été mises en évidence par Nguelefack-Mbuyo *et al.* (2008), Bilanda *et al.* (2010) ont montré les effets antihypertenseurs de *Allanblackia floribunda* sur l'hypertension artérielle induite par le sucrose et l'alcool. Tom *et al.* (2010) ont montré les propriétés antihypertensives de *Terminalia superba* chez les rats rendus hypertendus par le glucose, l'alcool et chez les rats spontanément hypertendus. L'activité antihypertensive de *Kalanchoe pinnata* a été mise en évidence chez les rats recevant une surcharge en sel par Bopda *et al.* (2014).

Bien que ces plantes présentent des effets remarquables, il n'est pas exclu qu'elles puissent entraîner des dommages graves chez les patients. C'est pourquoi, des études

approfondies de toxicité devraient être effectuées avant la mise sur pied d'un phytomédicament à la disposition des populations.

I.10. Etude de la toxicité

Bien que la médecine traditionnelle utilise les plantes, elle est généralement la somme des connaissances, des compétences et de pratiques qui reposent sur des théories, des croyances et des expériences propres à une culture. La phytothérapie est un traitement à base de plante. Elle est considérée comme une médecine traditionnelle, et est encore massivement employée dans les pays en développement, seule ou en association avec les médicaments manufacturés (OMS, 2000). L'utilisation des plantes médicinales par les populations n'est pas toujours soumise à une réglementation, ce qui pourrait entraîner l'apparition des effets secondaires graves. C'est pourquoi, il s'avère nécessaire de nos jours de connaître, sur le plan scientifique, la toxicité et les effets secondaires découlant de cette phytothérapie.

I.10.1. Définition et intérêt

La toxicité est la mesure de la capacité d'une substance de provoquer des effets néfastes sur toute forme de vie. Les réactions toxiques résultent de l'absorption des doses excessives de médicaments ou de substances pharmacodynamiquement actives. Toute substance est toxique et seule la dose peut la rendre non toxique (Ruckebuch, 1977). Toutefois, la distinction entre médicament et poison est loin d'être absolue, car suivant la dose, les conditions d'emploi, l'espèce animale, un médicament peut très rapidement devenir un poison (OMS, 2000 ; Rang *et al.*, 2003).

Les effets toxiques d'un médicament peuvent entraîner des troubles de comportement et de croissance, des lésions morphologiques, histologiques et fonctionnelles au niveau des certains organes tels que le foie, les reins, les poumons, le cœur (Molle, 1986 ; Cheftel *et al.*, 1989).

L'étude de la toxicité de nouvelles drogues s'avère d'une importance capitale parce qu'elle permet de déterminer le degré de toxicité du médicament, et ainsi d'assurer une meilleure prescription clinique, afin de préserver la santé des populations.

Selon la durée de traitement, on distingue 3 types de toxicité : la toxicité aiguë, la toxicité à court terme (toxicité subchronique) et la toxicité à long terme (toxicité chronique) (OMS, 1992).

I.10.2. Toxicité aiguë

Il s'agit des effets nocifs qui surviennent très peu de temps après l'administration d'une dose unique, ou des doses multiples d'une substance, réparties sur une période de 24 heures (OMS, 1992 ; OCDE, 2001).

Les méthodes traditionnelles se référaient principalement au critère « mort des animaux » pour évaluer la toxicité aiguë, et utilisaient par conséquent une grande quantité d'animaux pour l'évaluer. Aujourd'hui, une importante quantité d'informations sur la substance à tester peut être obtenue en utilisant un nombre minimal d'animaux selon la méthode de l'ajustement des doses (Ligne Directrice de l'OCDE 425) (OCDE, 2008 a).

La toxicité aiguë permet de déterminer la dose létale moyenne (DL_{50}). La DL_{50} par voie orale représente la dose unique d'une substance d'essai, obtenue par calcul statistique, susceptible d'entraîner la mort de 50 % des animaux. La dose limite réfère à une dose qui est la limite supérieure pour l'essai (2000 ou 5000 mg/kg). L'étude de la toxicité aiguë permet donc de mettre hors d'utilisation, les substances hautement toxiques en précisant les principaux signes d'intoxication (Cheftel *et al.*, 1989). Elle permet aussi de savoir si les toxicités subchronique et chronique sont nécessaires.

I.10.3. Toxicité subchronique

La toxicité subchronique d'une substance est l'ensemble des effets nocifs observés après l'administration de doses répétées de cette substance à un animal pendant une période représentant à peu près le dixième de sa durée de vie normale (Cheftel *et al.*, 1989).

L'étude de la toxicité subchronique permet d'identifier et d'évaluer, les modifications résultantes d'une exposition continue des doses thérapeutiques pendant un temps relativement court sur les différents systèmes biologiques (Ligne Directrice de l'OCDE 407) (OCDE, 2008 b).

1.10.4. Toxicité chronique

Il s'agit de l'administration de doses répétées d'une substance à un animal pendant une période s'étendant sur la plus grande partie de sa vie, voire sur plusieurs générations (Cheftel *et al.*, 1989, OCDE, 2009). Durant cette étude, on note le comportement des animaux, l'évolution pondérale, le développement, le nombre et la constitution des portées, la longévité, les manifestations éventuelles d'effets tératogène ou cancérigène.

Théoriquement, tous les organes peuvent être atteints de façon spécifique. Les organes les plus fréquemment touchés, sont ceux participant au métabolisme et à l'élimination du produit, car il existe à leur niveau une forte concentration du toxique. C'est le cas du foie et du rein. D'autres tissus peuvent également être affectés. Il s'agit du sang, de la moelle et les organes de reproduction, plus particulièrement en cas d'exposition chronique.

I.11. *Vitex cienkoswkii* Kotschy & Peyritsch

I.11.1. Classification

Règne : Plantae

Sous embranchement : Euphyllophytina

Sous classe : Lamiidae

Super ordre : Lamiales

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae ou Verbenaceae

Genre : *Vitex*

Espèce : *Vitex cienkowskii*

Synonymes : *Vitex doniana* Sweet, *Vitex umbrosa* H. T. ex Sweet, *Vitex umbrosa* G. Don ex Sabine, *Vitex odoniana* Legris, *Vitex cuneata* Schumacher et Thonn, *Vitex paludosa* Vatke, *Vitex chariensis* A. Chev., *Vitex deweyrei* De Wild. et T. Durand, *Vitex homblei* De Wild., *Vitex Hornei* Hemsl, *Vitex puberula* Baker, nom. Illeg.

Noms locaux : prunier noir, Wum (Bamoun), Galbiki (Foufouldé), dinyar (Haoussa), oum dougoulgoum (arabe), bi (baya).

I.11.2. Origine et distribution géographique

Le prunier noir originaire d'Afrique tropicale existe partout en Afrique semi-aride. C'est une plante soudano-guinéenne très répandue dans toute l'Afrique intertropicale, de la Sierra Léone au Gabon. On la trouve aussi au Comores. Au Cameroun, on la trouve dans presque toutes les zones forestières, mais surtout dans les terrains cultivés et les brousses secondaires. L'espèce nécessite un fort régime de pluie (Loupe *et al*, 2008).

I.11.3. Description

C'est un arbre atteignant 20 m de hauteur et 80 cm de diamètre. Il a une cime ronde et vert foncé. L'écorce est brun pâle à gris blanc, avec de longues fentes verticales, étroites et des bourrelets poisseux et des écailles gris claires qui tombent facilement. La tranche jaunâtre est aqueuse, cassante, granuleuse blanc jaune et se colore instantanément en jaune sale à l'air. Les feuilles sont opposées avec des limbes elliptiques et obovées (Figure 10). Les fleurs sont blanches avec un diamètre d'environ 1 cm. Les fruits sont des drupes subglobuleuses de 1,5 à 3 cm de diamètre, avec une cupule à la base. Ils sont verts, puis jaunes, enfin noirs à maturité. La pulpe est violette foncée renfermant un noyau dur. La floraison a lieu de novembre à mars (Neuwinger, 2000).

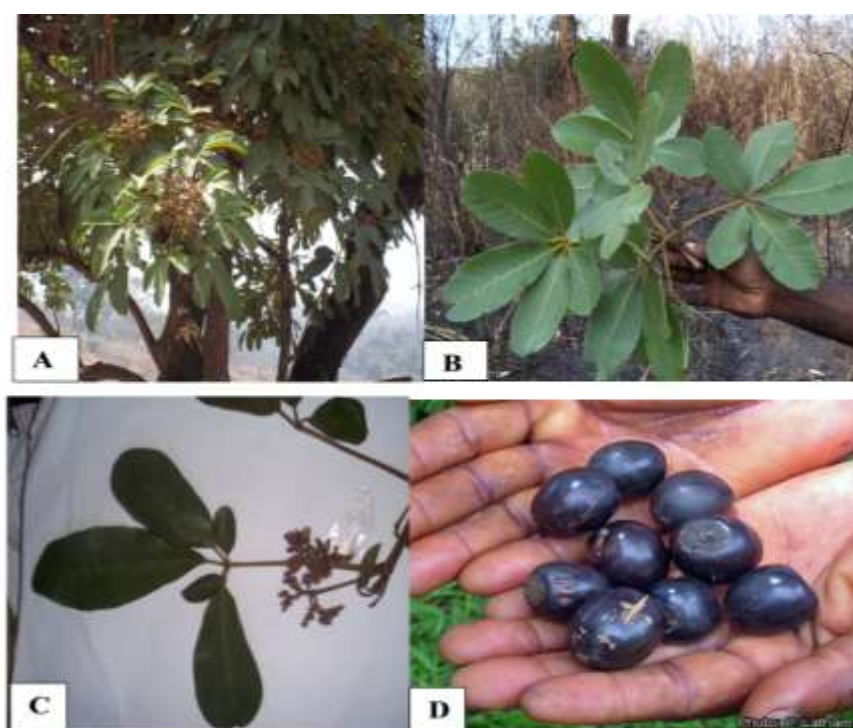


Figure 10 : Photo de *Vitex cienkowskii* prise à Foumban en 2013 par A. B. Dongmo.

Arbre (A) ; feuilles (B) ; fleur(C) ; fruits (D)

I.11.4. Utilisations empiriques et travaux antérieurs

Vitex cienkowskii est généralement planté comme arbre fruitier à côté des maisons. Les fruits, les feuilles, l'écorce, le bois et les racines sont les parties les plus utilisées. Les jeunes feuilles sont utilisées comme légumes en alimentation. La pulpe du fruit est consommée fraîche, cuite ou grillée. Le bois résistant aux termites est utilisé comme matériau de construction et sert aussi à la fabrication des objets d'art. Au Cameroun, *Vitex cienkowskii* est prescrit par les

tradithérapeutes pour le traitement de nombreuses affections cardiovasculaires telles que l'hypertension artérielle (Arbonnier, 2000 ; Ruffo *et al.*, 2002).

Vitex cienkowskii encore appelé *Vitex doniana* a fait l'objet de plusieurs études scientifiques durant ces dernières décennies. Ladeji *et al.* en 2005 ont mis en évidence les propriétés contracturantes de l'extrait aqueux des écorces de *Vitex doniana* sur le muscle utérin. Abdulrahman *et al.* en 2007 ont montré que l'extrait aqueux des écorces des racines de *Vitex doniana* exerçait une action dépressive sur le système nerveux central et périphérique des animaux de laboratoire. Les effets contraceptifs de *Vitex doniana* résultants d'une consommation directe des différentes parties de la plante ont été mis en évidence chez les babouins (Higham *et al.*, 2007). L'activité antioxydante de *Vitex doniana* a été montrée chez les rats diabétiques et les rats présentant des dommages hépatiques (Agbafor *et al.*, 2011 ; Ezekwesili *et al.*, 2012 ; Adetoro *et al.*, 2013). Oche *et al.* (2014) ont mis en évidence les effets bénéfiques des extraits aqueux et éthanolique des feuilles de *Vitex doniana* sur les îlots pancréatiques et les hépatocytes. De même, les effets bénéfiques des fruits et des feuilles de *Vitex doniana* sur la fonction hépatique ont été montrés chez le rat (Ajiboye *et al.*, 2015 ; Nweke *et al.*, 2015). Les effets anti inflammatoires des extraits de *Vitex doniana* ont été mis en évidence par Amegbor *et al.* en 2012 et Ochieng *et al.* en 2013. Adelodum *et al.* en 2016 ont montré les effets bénéfiques de *Vitex doniana* sur la morphométrie testiculaire du rat. Plusieurs études ont également montré les effets antimicrobiens de *Vitex doniana* (Abiodun *et al.*, 2015 ; Akaniro-Ejim *et al.*, 2016). Toutefois, le système cardiovasculaire a été moins exploré malgré la multitude de travaux réalisés sur cette plante. Sontia en 2005 a montré les effets vasorelaxants des extraits au méthanol et à l'acétate d'éthyle de *Vitex cienkowskii* chez le cobaye. Par la suite, les effets vasorelaxants endothélium dépendants de l'extrait au mélange chlorure de méthylène/méthanol de *Vitex cienkowskii* ont été montrés chez le rat albinos (Dongmo *et al.*, 2011). Les effets vasorelaxants du Tetra-acetyljugastéron C, un composé isolé de *Vitex cienkowskii*, ont été mis en évidence chez le rat et la souris par Dongmo *et al.* en 2014.

I.11.5. Phytochimie

Les études phytochimiques de *Vitex doniana*, synonyme de *Vitex cienkowskii* ont révélé la présence des saponines, des flavonoïdes, des tannins, des alcaloïdes, des anthraquinones, des terpénoïdes, des glycosides cardiotoniques et des acides gras essentiels (Agbafor *et al.*, 2011 ; Ezekwesili *et al.*, 2012; Nweke *et al.*, 2015 ; Akaniro-Eji *et al.*, 2016). Les méthodes chromatographique et spectroscopique ont permis de mettre en évidence, dans l'extrait au

mélange chlorure de méthylène/méthanol de *Vitex cienkowskii*, 6 triterpénoïdes connus (acide oléanoïque, Salvin A, acide maslinique, β -sitostérol, β -sitostérol-glycoside) et une céramide (tanacétamide) (Dongmo *et al.*, 2011), le 20 hydroxyecdysone et le tetra acétylajugastérone C (Dongmo *et al.*, 2014). Ochieng *et al.* en 2013 ont isolé de l'extrait au méthanol des écorces du tronc de *Vitex doniana*, trois nouveaux phytoecdystéroïdes: le 11 β -hydroxy-20-deoxyshidastérone, le 21-hydroxyshidastérone et le 2,3-acetonide-24-hydroxyecdysone, et des composés connus : l'ecdystéroïds shidastérone, l'ajugastérone C, le 24-hydroxyecdysone et le 11 β -24-hydroxyecdysone.

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel animal

Les études ont été menées chez les rats mâles adultes âgés de 3 à 4 mois. Les modèles expérimentaux suivants ont été utilisés pour l'étude des activités cardiovasculaires des extraits :

- des rats albinos normotendus de souches wistar (R.N.T) pesant 180 à 220 g ;
- des rats albinos de souche Wistar rendus hypertendus par le N^w-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) pesant 180 à 220 g;
- des rats albinos de souche Wistar rendus hypertendus par la désoxycorticostérone acétate et le sel (DOCA-sel) pesant 180 à 220 g;
- des rats spontanément hypertendus (SHR) pesant 300 à 400 g.

Exceptés les rats SHR et une partie des rats de souches Wistar, élevés à l'animalerie de l'unité Physiopathologie Animale et Pharmacologie Fonctionnelle de l'Ecole Nationale Vétérinaire et Agroalimentaire de l'Alimentation Nantes Atlantique de Nantes en France, tous les autres animaux utilisés au cours de ce travail ont été élevés à l'animalerie du Laboratoire de Physiologie Animale de l'Université de Yaoundé I, dans les conditions de température ambiante, avec un éclairage suffisant. Les animaux recevaient de l'eau et un aliment standard *ad libitum*. La composition de l'aliment était la suivante : céréales, tourteaux protéagineux, sous-produits céréaliers, farine de poisson, calcaire, phosphate et bicarbonate. La teneur de cet aliment est la suivante : énergie métabolisable est de 3000 Kcal/Kg, protéines brutes 22%, matières grasses minérales 6.5%, cellulose brute maximale 4.5%, matières minérales maximales 6% et humidité maximale 11%.

II.1.2. Matériel végétal

Les écorces du tronc de *Vitex cienkowskii* ont été récoltées dans la région de Foumban au mois de Mai 2008. Le matériel végétal (écorces, feuilles, tiges, fruits) a été identifié à l'Herbier Nationale du Cameroun (HNC) en comparaison à un spécimen existant sous le N° 32721/HNC. Les écorces ont été découpées, séchées au soleil, puis broyées à la moulinette en une poudre fine. L'extrait aqueux et l'extrait au mélange chlorure de méthylène/méthanol ont été préparés suivant un protocole bien déterminé.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation des extraits de *Vitex cienkowskii*

II.2.1.1. Préparation de l'extrait aqueux

Quatre cent grammes (400 g) de poudre ont été portés à ébullition dans 1 L d'eau distillée pendant 10 min, puis laissés en macération durant tout le temps du refroidissement. Après filtration au papier Wattman n°3, le filtrat a été évaporé à l'étuve à la température de 40°C. Cette opération a permis d'obtenir 17,43 g d'extrait aqueux de *Vitex cienkowskii*, soit un rendement de 4,34 % (Figure 11).

II.2.1.2. Préparation de l'extrait au mélange Chlorure de méthylène /méthanol (1 :1)

Mille trois cent grammes (1300 g) de poudre ont été macérés dans 4 L du mélange chlorure de méthylène /méthanol (1 :1) à température ambiante pendant 48 heures. Le mélange a été agité plusieurs fois par jour. Après filtration à l'aide du papier Wattman n°3, le filtrat a été évaporé à 40°C grâce à un évaporateur rotatif sous pression réduite, ce qui a permis d'obtenir 38 g d'extrait au mélange chlorure de méthylène/méthanol de *Vitex cienkowskii*, soit un rendement de 2,92 % (Figure 11).

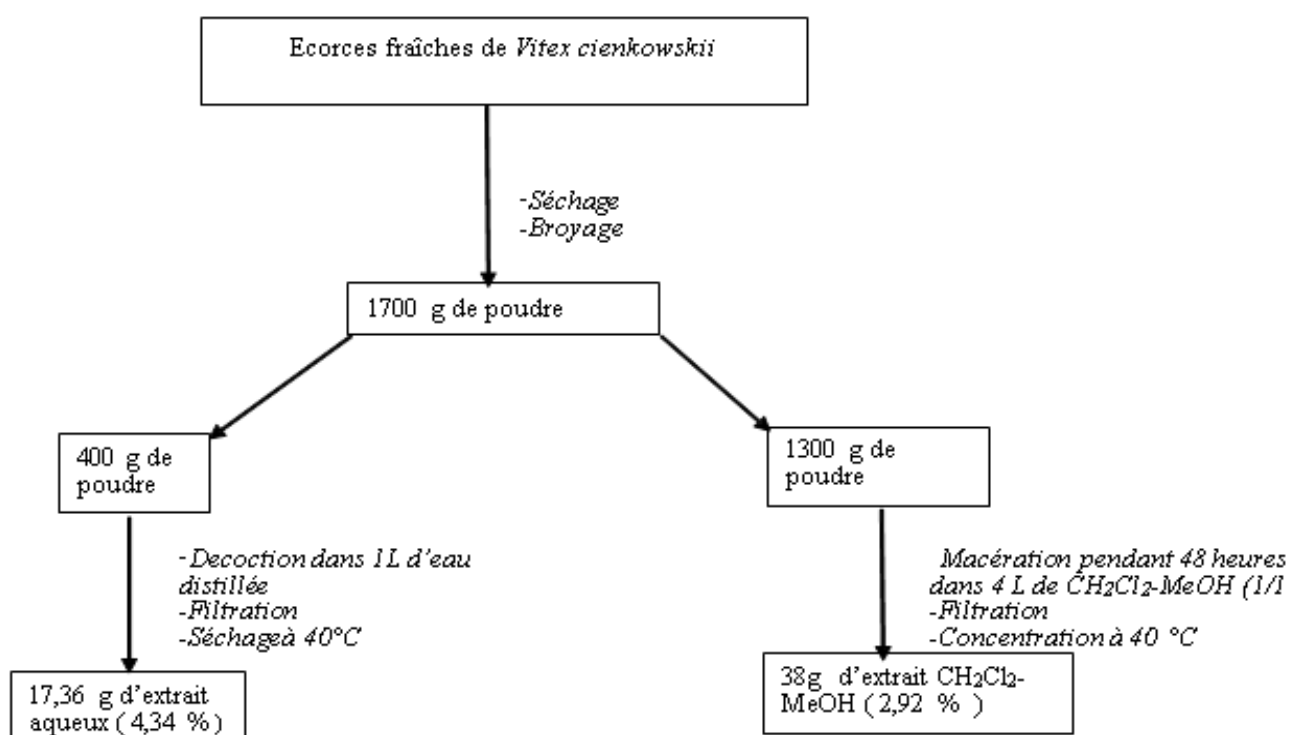


Figure 11: Protocole de préparation des extraits aqueux et au mélange chlorure de méthylène/méthanol (CH₂Cl₂-MeOH (1:1)).

II.2.2. Effets aigus des extraits de *Vitex cienkowskii* sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque des rats normotendus

II.2.2.1. Dispositif d'enregistrement de la pression artérielle par la méthode directe ou invasive

La technique consiste à enregistrer la pression artérielle grâce à un cathéter introduit dans la carotide du rat anesthésié (Van Vliet *et al.*, 2000). Le cathéter est relié au transducteur connecté à l'enregistreur hémodynamique "Biopac Student Lab" de type MP 35. Le transducteur est un capteur possédant une membrane ultrasensible capable de convertir en signaux électriques, les moindres variations mécaniques de la pression artérielle de l'animal. Le dôme du transducteur est rempli de la solution physiologique de Mac Even héparinée, de même que la canule qui sera fixée à la carotide de l'animal. Pour un maximum de sensibilité, ce système est débarrassé de toute bulle d'air. Un enregistreur hémodynamique "Biopac Student Lab" de type MP 35 connecté au transducteur envoie les signaux vers un ordinateur contenant le logiciel "Biopac Student Lab" 3,7 qui visualise les différents tracés enregistrés (Figure 12).



Figure 12: Dispositif d'enregistrement de la Pression artérielle.

1 : transducteur ; 2 : enregistreur Biopac MP 35 ; 3 : ordinateur ; 4 : potence réglable ; 5 : électrodes pour électrocardiogramme.

II.2.2.2. Préparation de l'animal

II.2.2.2.1. Anesthésie de l'animal

L'anesthésie générale des animaux était réalisée par injection intra péritonéale de l'uréthane (éthyle carbamate) à 15 %, à raison d'un millilitre de solution par 100 g de poids corporel (Dimo *et al.*, 2003).

II.2.2.2. Mise à nu et cathétérisme de la veine fémorale

L'animal anesthésié était fixé en décubitus dorsal sur une planchette de liège. La peau de la face interne de la cuisse d'une des pattes postérieures du rat était incisée et écartée. La veine était délicatement séparée de l'artère et dégagée sur environ 2 cm à l'aide d'un passe fil, en respectant les collatérales vasculaires, et deux ligatures d'attente étaient placées sous la veine. Après une ligature serrée vers le bout périphérique, une incision en bec de flûte était réalisée sur la veine. Un cathéter en polyéthylène fixé à une seringue à insuline contenant de la solution de Mac Even hépariné (0,1 mL/100 g de PC) était alors introduit dans le vaisseau et maintenu en place par la deuxième ligature au niveau du bout central. Une aiguille à mandarin connectée à l'extrémité libre du cathéter permettait l'administration des substances par voie intraveineuse.

II.2.2.3. Mise à nu et cathétérisme de l'artère carotide

L'animal restant étendu sur la planchette, une incision longitudinale était pratiquée sur la ligne medio ventrale du cou depuis la jonction des clavicules jusqu'à la base du maxillaire inférieur. Les muscles du cou étaient écartés jusqu'à la découverte d'un paquet vasculo nerveux. La carotide était délicatement séparée des fibres nerveuses et dégagée sur environ 2 cm. Une ligature céphalique serrée était posée aussi haute que possible et, une seconde ligature d'attente était placée sur le vaisseau en direction du cœur. La solution de Mac Even héparinée (10 %, 0,1 mL/100 g de poids corporel) était alors immédiatement injectée au rat par la veine fémorale pour empêcher la coagulation du sang dans l'organisme et dans les cathéters. Un clamp vasculaire était ensuite placé le plus bas possible vers le cœur en arrière de la ligature d'attente. Après une incision réalisée en bec de flûte sur le vaisseau entre les deux ligatures, l'embout libre du cathéter relié au transducteur était introduit dans la carotide en direction du cœur et maintenu en place par la seconde ligature (Figure 13).

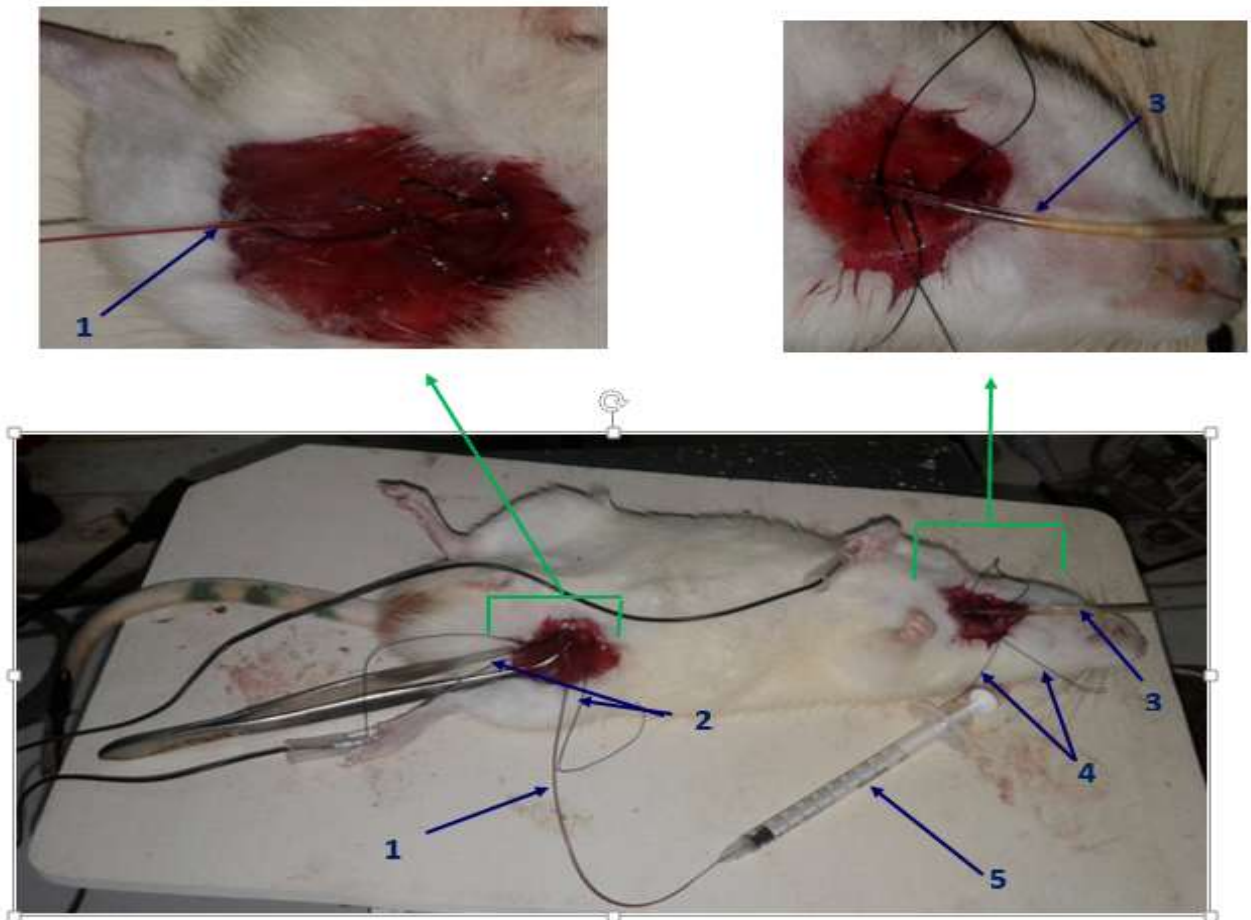


Figure 13: Intubation de la veine fémorale et de la carotide du rat anesthésié.

1 : Cathéter introduit dans la veine fémorale; 2 : ligatures de maintien du cathéter permettant l'administration de substances ; 3: cathéter introduit dans la carotide et relié au transducteur; 4 : ligatures de maintien du cathéter introduit dans la carotide ; 5 : Seringue placée à l'extrémité d'un cathéter introduit dans la veine fémorale.

II.2.2.3. Enregistrement de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque

La pression artérielle est enregistrée après ouverture du robinet qui relie la carotide au transducteur. Lorsque le clamp vasculaire est enlevé, le sang s'engouffre dans le cathéter, et le transducteur transmet les variations de la pression artérielle à l'enregistreur MP 35 qui converti les ondes en tracés pouvant être visualisés sur l'écran de l'ordinateur.

La fréquence cardiaque est également déterminée grâce au dispositif Biopac Student Lab MP 35 en la sélectionnant comme paramètre à enregistrer lors de mise en marche du dispositif.

II.2.2.4. Administration des extraits et évaluation des différents paramètres

Après une période d'équilibration de 30 minutes, les différentes substances étaient administrées à travers le cathéter laissé à demeure dans la veine fémorale du rat normotendu sous un volume de 0,1 mL par 100 g de poids corporel. Les effets des différentes doses (10, 20,

30, 40 mg/kg) d'extrait aqueux ou au mélange chlorure de méthylène/méthanol ont été évalués sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque des animaux. L'activité des différentes substances était évaluée après une période d'équilibration de la pression artérielle d'environ 15 minutes. L'activité de chaque dose d'extrait était évaluée pendant une heure sur un groupe de 5 rats. La solution de Mac Even qui était utilisée pour la dissolution des extraits, a été également administrée à un groupe de 5 animaux afin de s'assurer que les effets observés n'étaient pas dus à l'action du solvant.

II.2.3. Evaluation des mécanismes d'action hypotenseurs de l'extrait au mélange chlorure de méthylène /méthanol de *Vitex cenkowskii*

Dans cette étude, plusieurs substances pharmacodynamiques de références ont été utilisées. Ainsi, l'étude des effets de *V. cenkowskii* respectivement au niveau des récepteurs cholinergiques, adrénérgiques et histaminiques a été réalisée en utilisant les couples agonistes/antagonistes suivants : carbachol (10 µg/kg)/atropine (0,1 mg/kg), noradrénaline (100 µg/kg)/propranolol (2 mg/kg) et histamine (2 µg/kg)/cimétidine (15 mg/kg). L'extrait de plante (40 mg/kg) était administré 5 min après injection de l'antagoniste (atropine, propranolol ou cimétidine). Pour s'assurer de l'intégrité des récepteurs, les effets des différents agonistes ont été évalués en présence de leurs antagonistes respectifs. Toutes ces substances étaient administrées par voie intraveineuse et les effets observés pendant une heure.

Les effets de l'extrait de plante ont aussi été testés au niveau des récepteurs centraux chez les animaux préalablement traités à la réserpine *per os* à la dose de 5 mg/kg pendant 3 jours. Le quatrième jour, la pression artérielle des animaux réserpinisés a été enregistrée après administration intraveineuse de l'extrait de plante (40 mg/kg).

II.2.4. Evaluation des effets préventifs de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cenkowskii* chez les rats rendus hypertendus par le N^w-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)

Trente (30) rats mâles wistar adultes ayant un poids compris entre 180 et 220 g ont été répartis aléatoirement en 5 groupes :

- un groupe témoin constitué de 5 rats qui ont reçu de l'eau distillée (1 mL/100 g de poids corporel, p.o.) ;
- un groupe constitué de 7 rats qui ont reçu le L- NAME (40 mg/kg) et l'eau distillée (1 mL/100 g de poids corporel, p.o.);

- un groupe constitué de 6 rats qui ont reçu simultanément le L-NAME (40 mg/kg) et le captopril (25 mg/kg, p.o.) ;
- un groupe constitué de 6 rats qui ont reçu simultanément le L-NAME (40 mg/kg) et l'extrait de plante (200 mg/kg, p.o.);
- un groupe constitué de 6 rats qui ont reçu simultanément le L-NAME (40 mg/kg) et l'extrait de plante (400 mg/kg, p.o.).

Les animaux ont reçu les différents traitements par voie orale pendant 28 jours. Durant le traitement, le poids corporel, les consommations alimentaire et hydrique des animaux ont été évaluées une fois par semaine. Au terme de la période expérimentale, la pression artérielle et la fréquence cardiaque des animaux ont été enregistrées par la méthode directe. La pression artérielle et la fréquence cardiaque des rats ont été enregistrées suivant la méthodologie décrite plus haut, à la différence que le seul vaisseau intubé ici était la carotide et qu'il n'y a pas eu d'injection de l'héparine 10 % qui aurait empêché la coagulation du sang, et donc l'obtention du sérum pour les études biochimiques ultérieures. Après l'enregistrement des paramètres hémodynamiques pendant 30 minutes, les rats ont été immédiatement sacrifiés par section des carotides. Le sang a été collecté dans des tubes secs, laissé au repos pendant 30 minutes, puis centrifugé à 3000 tours pendant 30 minutes. Le sérum recueilli a été conservé à une température de -20°C pour l'évaluation des marqueurs du profil lipidique (cholestérol total, triglycérides, cholestérol HDL et cholestérol LDL), des fonctions hépatique (ASAT, ALAT, bilirubine) et rénale (créatinine). Le cœur, l'aorte, le foie et les reins ont été rapidement prélevés, débarrassés de graisse puis pesés. Le ventricule gauche plus le septum et le ventricule droit ont été séparés de la masse cardiaque, puis pesés. Le cœur et l'aorte ont été broyés dans la solution de Mac Even tandis que le foie et les reins ont été broyés dans le tampon tris (50 mM ; pH: 7,4) en vue de l'obtention des homogénats à 20 % qui ont été centrifugés à 3000 tours pendant 30 minutes. Le surnageant recueilli, a été conservé à -20°C pour l'évaluation des marqueurs du stress oxydatif (oxyde nitrique, glutathion, catalase, superoxyde dismutase, malondialdéhyde), des fonctions hépatique (ASAT, ALAT, bilirubine) et rénale (créatinine).

II.2.5. Evaluation des effets curatifs de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cincinnensis* chez les rats rendus hypertendus par le L-NAME

Vingt-cinq (25) rats mâles adultes ont été répartis en 2 lots. Le 1^{er} lot (témoin) constitué de 5 rats recevant chacun de l'eau distillée (1 mL/100 g de poids corporel). Le second lot était constitué de 20 rats qui ont reçu chacun le L-NAME (40 mg/kg). Les deux lots ont reçu leur

traitement pendant 28 Jours. Le 29^{ème} jour, les rats hypertendus ont été répartis au hasard en 4 groupes de 5 rats traités comme suit :

- un groupe qui a continué de recevoir le L-NAME (40 mg/kg) et de l'eau distillée (1 mL/100 g de poids corporel, p.o.);
- un groupe qui a reçu simultanément le L-NAME (40 mg/kg) et le captopril (25 mg/kg, p.o.) ;
- un groupe qui a reçu simultanément le L-NAME (40 mg/kg) et l'extrait de plante (200 mg/kg, p.o.);
- un groupe qui a reçu simultanément le L-NAME (40 mg/kg) et l'extrait de plante (400 mg/kg, p.o.).

Le groupe témoin et les quatre groupes hypertendus ont reçu leur traitement par voie orale pendant 28 jours supplémentaires. Durant les 56 jours de traitement, le poids corporel, les consommations alimentaire et hydrique étaient évalués une fois par semaine. A la fin de la période expérimentale, la pression artérielle et la fréquence cardiaque des animaux ont été enregistrées par la méthode directe. Les échantillons (sérum, cœur, aorte, foie, reins) ont été collectés, et conservés tel que décrit dans le test préventif pour les analyses biochimiques ultérieures.

II.2.6. Evaluation des effets préventifs de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cincinnensis* chez les rats rendus hypertendus par le désoxycorticostérone acétate et le sel (DOCA-sel)

Vingt-cinq (25) jeunes rats mâles pesant environ 100 g ont été répartis aléatoirement en 5 groupes : un groupe témoin et quatre groupes essais. Chez les animaux essais, l'eau de boisson a été remplacée par la solution de chlorure de sodium à 2 % qu'ils recevaient *ad libitum*. Les animaux avaient libre accès à l'eau de boisson. Lorsque tous les animaux ont atteint un poids d'environ 250 g, aux rats du groupe témoin a été administrée de l'huile d'olive (0,1mL/100g) par voie sous cutanée. Les rats du lot test toujours sous régime hydrique salé, ont été répartis de façon hasardeuse en 4 groupes de 5 rats chacun et traités comme suit :

- un groupe témoin négatif qui a reçu la DOCA (10 mg/kg) et de l'eau distillée (1 mL/100 g de poids corporel, p.o.);
- un groupe témoin positif qui a reçu simultanément la DOCA (10 mg/kg) et l'aldactone (25 mg/kg, p.o.) ;

- un groupe essai qui a reçu simultanément la DOCA (10 mg/kg) et l'extrait de plante (200 mg/kg, p.o.) ;
- un groupe essai qui a reçu simultanément la DOCA (10 mg/kg) et l'extrait de plante (400 mg/kg, p.o.).

La DOCA dissoute dans de l'huile d'olive, était administrée par voie sous cutanée deux fois par semaine dans la proportion de 0,1 mL par 100 g de poids corporel (Badyal *et al.*, 2003). L'extrait de plante ou l'aldactone était administré quotidiennement *per os* dans la proportion de 1 mL/100 g. La DOCA, l'aldactone et l'extrait de plante ont été administrés aux animaux pendant une période expérimentale 6 semaines. Durant la période expérimentale, le poids corporel, les consommations alimentaire et hydrique étaient évalués une fois par semaine. A la fin de la période expérimentale, la pression artérielle et la fréquence cardiaque des animaux ont été enregistrées par la méthode directe. Les échantillons (sérum, cœur, aorte, foie, reins) ont été collectés et conservés tel que décrit plus haut pour des analyses biochimiques ultérieures. Dans cette étude, les taux sériques de sodium, de potassium et de chlore ont été évalués.

II.2.7. Evaluation des effets curatifs de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cincinnensis* chez les rats rendus hypertendus par la DOCA

Vingt-cinq (25) jeunes rats mâles pesant environ 100 g ont été séparés en 2 lots : Le 1^{er} lot (témoin) constitué de 5 rats. Le second lot (essai) était constitué de 20 rats qui ont reçu *ad libitum* comme eau de boisson, la solution de chlorure de sodium à 2 %. Après l'obtention d'un poids d'environ 250 g, les rats des groupes essais ont reçu par voie sous cutanée la DOCA dissoute dans de l'huile d'olive (10 mg/kg ; 0,1 mL/100 g), tandis que ceux du groupe témoin ont reçu de l'huile d'olive (0,1 mL/100 g) uniquement deux fois par semaine pendant 6 semaines. Au bout de 42 jours sous ces différents traitements, les animaux ont été répartis et traités pendant quatre semaines supplémentaires comme suit :

- les rats du groupe témoin ont continué à recevoir une injection sous cutanée d'huile d'olive (0,1 mL/100 g de poids corporel) et de l'eau distillée (1 mL/100 g de poids corporel, p.o.);
- le groupe témoin négatif resté sous DOCA (10 mg/kg) avec une administration orale d'eau distillée (1 mL/100 g de poids corporel, p.o.);
- le groupe témoin positif recevait simultanément la DOCA (10 mg/kg) et l'aldactone (25 mg/kg, p.o.) ;

- un groupe essai qui a reçu simultanément la DOCA (10 mg/kg) et l'extrait de plante (200 mg/kg, p.o.) ;
- un groupe essai qui a reçu simultanément la DOCA (10 mg/kg) et l'extrait de plante (400 mg/kg, p.o.).

L'extrait de plante ou l'aldactone étaient administrés tous les jours par voie orale. Durant le traitement, le poids corporel, les consommations alimentaire et hydrique étaient évalués une fois par semaine. A la fin du traitement, la pression artérielle et la fréquence cardiaque des animaux ont été enregistrées par la méthode directe. Les échantillons (sérums, cœur, aorte, foie, reins) ont été collectés et conservés tel que décrit dans les tests précédents pour les analyses biochimiques ultérieures. Les taux sériques de sodium, de potassium et de chlore ont été évalués.

II.2.8. Evaluation des effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cenkowskii* chez les rats spontanément hypertendus (SHR)

II.2.8.1. Dispositif d'enregistrement de la PA et de la FC par la méthode indirecte

La mesure de la PA et de la fréquence cardiaque des SHR a été réalisée par la méthode non invasive à l'aide d'un pléthysmographe (Pressure Meter 2001, BIOSEB, France). La technique consistait à placer le rat dans une cage de contention et à le chauffer pendant environ 10 minutes à l'aide d'un système de chauffage thermostaté. La queue du rat était ensuite introduite à l'intérieur d'un manchon gonflable contenant un capteur de pouls. Une fois le signal de pression détecté, les valeurs de pression systolique et diastolique, de même que la fréquence cardiaque étaient visualisées sur l'écran de l'ordinateur.

II.2.8.2. Traitement et collecte des paramètres

Sept (7) SHR mâles âgés de 10 semaines et ayant un poids d'environ 400 g ont reçu l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg *per os* pendant 5 semaines. La pression artérielle (systolique et diastolique) et la fréquence cardiaque des animaux étaient enregistrées une fois par semaine par la méthode pléthysmographique pendant la période expérimentale. Pour chaque animal, l'enregistrement a été effectué 3 fois de suite et la valeur moyenne a été considérée. Le poids corporel a été également noté une fois par semaine durant le traitement. A la fin du traitement, les animaux ont été anesthésiés avec du pentobarbital (70 mg/kg). L'aorte thoracique a été rapidement prélevée, puis plongée dans la solution physiologique de NaCl 0,9 % oxygénée et thermostatée à 37°C en vue de l'étude de sa réactivité vasculaire. Le cœur des rats traités et

non traités a été prélevé, nettoyé, puis pesé. Le ventricule gauche plus le septum et le ventricule droit ont été également séparés de la masse cardiaque, puis pesés.

II.2.8.3. Evaluation de la réactivité vasculaire de l'aorte des SHR

L'aorte thoracique prélevée a été rapidement plongée dans la solution physiologique de NaCl 0,9 % oxygénée et thermostatée à 37°C. L'aorte a été délicatement nettoyée et coupée en anneaux d'environ 3 à 4 mm de long. L'anneau a été monté dans une cuve à organe isolé de 5 mL (EMKA) grâce à deux crochets délicatement enfilés dans sa lumière. La cuve renfermait la solution physiologique de Krebs thermostatée à 37°C et aérée (95% O₂ et 5% CO₂), avec un pH de 7,3 pour maintenir l'aorte en vie. Les variations de tension dues aux variations du diamètre de l'anneau étaient captées et converties en signaux électriques grâce à un transducteur isométrique connecté à un enregistreur "Biopac Student Lab" de type MP 150 qui envoie les signaux vers un ordinateur contenant le logiciel "Biopac Student Lab" qui visualise les différents tracés enregistrés. L'organe a été équilibré pendant 60 minutes au cours desquelles il était progressivement étiré jusqu'à l'obtention d'une tension de 2 g. La solution était renouvelée toutes les 15 minutes. Une fois l'organe équilibré, un test d'évaluation de l'intégrité de son endothélium (relaxation > 80 %) qui consistait à relâcher l'organe précontracté à la phényléphrine (10⁻⁶ M) par l'acétylcholine (10⁻⁶ M), a été effectué. Après une nouvelle équilibration, les anneaux d'aorte ont été contractés avec de la phényléphrine (10⁻⁶ M), puis les effets des doses cumulatives de l'ACh (10⁻⁹ à 10⁻⁵ M), de l'ionophore calcium (10⁻⁹ à 10⁻⁶ M) ou du nitroprussiate de sodium (10⁻⁹ à 10⁻⁵ M) ont été évalués.

II.2.9. Evaluation des effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur les cardiomyocytes isolés des rats adultes

II.2.9.1. Principe général de l'isolement des cardiomyocytes

Les cardiomyocytes ont été isolés selon la technique décrite par Baudet *et al.* (2001) et adaptée chez le rat (Audigane *et al.* 2009). Le système d'isolement utilisé était un montage de Langendorff « custom-made » où le cœur est perfusé par voie rétrograde *via* l'aorte et les artères coronaires qui alimentent les ventricules. Le cœur était perfusé par un liquide physiologique dépourvu de calcium afin de fragiliser les connections intercellulaires et de permettre à la digestion enzymatique ultérieure de se réaliser (l'activité de ces enzymes étant annulée par la présence de calcium), et d'une collagénase permettant la digestion de la matrice extracellulaire. Après récupération des ventricules digérés, une agitation mécanique permettait de séparer les cellules et de les classer par paliers.

II.2.9.2. Description du matériel

Plusieurs solutions ont été utilisées au cours de cette manipulation :

- une solution de Tyrode ;
- une solution de rinçage du cœur et de son redémarrage une fois canulé ;
- trois solutions de prélèvement des ventricules digérés (solutions 1, 2 et 3) ;
- quatre solutions de concentrations calciques croissantes (solutions 4, 5, 6, 7) ;
- une solution enzymatique ;
- une solution « stop ».

Le système de Langendorff proprement dit était constitué de :

- deux seringues de 50 mL placées en hauteur afin de créer une pression suffisante à la perfusion cardiaque. Ces seringues contenaient les différentes solutions de perfusion en permanence oxygénées (100 % O₂) : la solution de Tyrode avec et sans calcium et la solution d'enzymes de digestion ;
- une mollette placée sur le circuit de perfusion pour contrôler le débit,
- un serpentin placé dans un bain à 41°C, afin de préchauffer les solutions (l'éluât du cœur était ainsi à 37-38°C) ;
- un piège à bulles « custom-made » évitant le passage de bulles gazeuses dans la circulation coronaire ;
- une canule aortique « custom-made »;
- une chambre en verre thermostatée dans laquelle était placé le cœur isolé et canulé.

II.2.9.3. Isolement des cardiomyocytes proprement dit

II.2.9.3.1. Prélèvement du cœur

Le rat mis à jeun pendant 24 h a été anesthésié par injection intrapéritonéale du pentobarbital sodique (70 mg/kg). L'héparine (0,3 mL) lui a été administrée par voie intrapéritonéale. Après incision ventrale du tégument, une boutonnière a été réalisée sur la paroi abdominale. Les muscles abdominaux ont été ensuite réclinés latéralement et le diaphragme a été dissocié par incision des muscles diaphragmatiques au niveau du cercle de l'hypochondre. La cage thoracique a été coupée de part et d'autre et le volet thoracique ainsi réalisé, a été

récliné frontalement. Une incision à l'apex du péricarde a été effectuée afin d'extérioriser le myocarde. L'aorte et tous les autres vaisseaux ont été sectionnés loin du cœur. Le cœur a été rapidement introduit dans la solution Tyrode de rinçage à 0-4°C, dans laquelle il a été délicatement vidé de son sang par massage, puis canulé.

II.2.9.3.2. Digestion enzymatique du cœur

Le cœur a été perfusé avec la solution Tyrode de redémarrage (37°C), afin de le rincer complètement de son sang grâce à la reprise des battements cardiaques. Lorsque l'éluât était limpide (2-3 min), le cœur a été perfusé par la solution Tyrode sans calcium pendant une durée minimale de 3 minutes. Le cœur a ensuite été perfusé avec la solution enzymatique pendant 20 minutes. La solution enzymatique était périodiquement récupérée à la sortie de la chambre thermostatée et remise en circulation. A la fin de la digestion enzymatique, le cœur a été perfusé par 50 mL de la solution « stop ». Les ventricules ont été séparés des oreillettes par section au niveau de l'anneau atrio-ventriculaire. Les ventricules ont alors été découpés et mis dans la solution de rinçage contenant le 2,3-butanedione monoxime (BDM) 20 mM. Le BDM est une substance cardioprotectrice qui inhibe rapidement et réversiblement la formation des ponts entre l'actine et la myosine, permettant aux muscles cardiaques de rester en permanence relâchés. En effet, les inévitables traumatismes liés à la digestion enzymatique aboutissent à des lésions cellulaires qui provoquent des contractures se propageant de proche en proche. Le BDM empêche une telle propagation et d'éventuelles déchirures tissulaires.

II.2.9.3.3. Dissociation mécanique des cellules

Les ventricules placés dans la solution de rinçage contenant le BDM 20 mM oxygénée, ont été découpés en petits morceaux, puis triturés à l'aide d'une pipette de transfert Pasteur, afin de séparer le maximum de cellules. 25 mL du contenu du bécher ont été filtrés dans un premier tube de 50 mL à l'aide d'un filtre nylon (diamètre 200 µm, Scrynel NYHC), et le volume du bécher était complété à 40 mL avec la solution 2. Les morceaux de ventricules ont été de nouveau découpés et triturés. Une partie du contenu du bécher a été filtrée pour remplir ce premier tube, et le volume du bécher a été complété avec la solution 2. Après avoir coupé de nouveau les morceaux de tissu cardiaque, 25 mL du contenu du bécher ont été filtrés dans un second tube. Le volume du bécher a été complété avec la solution 3. Les morceaux de tissu ont été triturés de nouveau et tout le contenu du bécher a été filtré. Après avoir laissé sédimenter pendant 20 minutes, les surnageants ont été aspirés à l'aide d'une pompe à vide. Les culots des deux tubes ont été remis en suspension par la solution 3 et l'ensemble a été conservé dans un

seul tube, pour en ré suspendre le culot total pendant 20 minutes. Pendant, l'utilisation d'une solution donnée, la solution suivante était oxygénée. Toutes les solutions utilisées étaient à une température de 37°C.

II.2.9.3.4. Réplétion calcique

Le surnageant obtenu a été aspiré et le culot a été remis en suspension avec la solution 4 (CaCl₂ 0,125 mM). Après 10 min de sédimentation, le surnageant a été aspiré jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un volume de 15 mL, et le culot a été remis en suspension dans la solution 5 (CaCl₂ 0,25 mM). Le même protocole était ensuite appliqué pour les solutions 6 (CaCl₂ 0,5 mM) et 7 (CaCl₂ 1mM). Au bout de 10 min de sédimentation dans la solution 7, le surnageant a été éliminé et le culot a été remis en suspension avec une quantité adéquate de solution de Tyrode (CaCl₂ 2 mM), nécessaire (3 mL/boîte) pour préparer le nombre de boîtes de Pétri choisi pour l'étude fonctionnelle.

II.2.9.3.5. Traitement des boîtes de culture

Les boîtes de Pétri (diamètre 35 mm, NUNC) utilisées pour le dépôt des cardiomyocytes ont été préalablement traitées avec 1 mL de poly-L-lysine (0,1 mg/mL) pendant 15 minutes, puis séchées à l'étuve à 60°C pendant 1h, afin d'assurer un attachement de type électrostatique des cardiomyocytes sur le fond des boîtes. Après 3 heures à température ambiante, les cellules vivantes ont adhéré au fond des boîtes et l'étude fonctionnelle pouvait commencer.

II.2.9.3.5. Etude fonctionnelle : mesure de la contraction des cardiomyocytes

Une boîte de Pétri contenant les cardiomyocytes, était placée dans une enceinte métallique « custom-made », thermostatée ($37 \pm 0,2$ °C, TC-344B, Phymep, Paris, France) par un système de type Peltier, et placée sur le support d'un microscope Nikon. Ces cardiomyocytes étaient ensuite, perfusés à un débit de 2,5-3 mL/min, avec une solution oxygénée de Tyrode (CaCl₂ 1,8 mM), contenant 3 mM de pyruvate. Les cardiomyocytes étaient soumis à une stimulation de champ électrique (1 Hz, 0,1 ms, 6 -10 V) par les électrodes en platine. Les images des cardiomyocytes étaient filmées par vidéo-imaging (Coyote Bay Instruments, Manchester, NH, USA) avec une caméra CCD JAI-M30 (120 images par seconde). Les mouvements des bords libres des cardiomyocytes étaient détectés et traités par le logiciel Matrox Inspector 2.2 (Coyote Bay Instruments). Les cardiomyocytes choisis possédaient une striation claire, une forme allongée en bâtonnet caractéristique (« rod-shaped »), une longueur diastolique stable et ne présentaient pas de vacuoles de dégradation en cours. Les effets de l'extrait au mélange

chlorure de méthylène/méthanol de *Vitex cienkowskii* (0,1; 0,5 et 1 mg/mL) seul, et en présence de la nicardipine (4 µM) ou du bisoprolol (5 µM) ont été évalués sur le pourcentage de raccourcissement cellulaire, les cinétiques de raccourcissement et de réallongement. L'évaluation de la relaxation du myocarde a été déterminée grâce à l'index de Nwasokwa (Nwasokwa, 1993).

II.2.10. Etude de la toxicité aiguë et subaiguë des extraits aqueux et CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii*

II.2.10.1. Etude de la toxicité aiguë

Selon la ligne directrice 420 de L'OCDE (2001), l'étude de toxicité aiguë doit se faire par administration séquentielles des doses prédéterminées suivantes : 5, 50, 300 et 2000 mg/kg. Mais au cours de nos différentes études, la dose maximale utilisée qui était de 400 mg/kg n'a pas semblé induire des signes de toxicité évidente chez les animaux pendant 4 semaines de traitement. C'est pourquoi nous avons décidé de débiter avec la dose de 2000 mg/kg.

II.2.10.1.1. Traitement des animaux

a- Etude d'orientation

Deux rates adultes nullipares et non gravide pesant environ 180 g ont été soumises à un jeûne non hydrique toute la nuit de la veille du test. Elles ont ensuite été pesées et ont reçu chacune, respectivement l'extrait aqueux ou au mélange CH₂Cl₂-MeOH à la dose de 2000 mg/kg par voie orale. Après administration de l'extrait de plante, ces rates ont encore été privées de nourriture pendant trois heures. Les rates ont été minutieusement observées durant cette période. Ces animaux ont ensuite été nourris et laissés en observation pendant 14 jours.

b- Etude principale

Après l'étude d'orientation, 13 autres rates adultes pesant environ 180 g ont été réparties en 2 groupes de 4 femelles chacun et un groupe de 5 femelles, une semaine avant le début du test, afin de les acclimater aux conditions du laboratoire. Après un jeûne non hydrique de 12 heures, les animaux ont été pesés. Les lots de 4 rats femelles ont reçu respectivement l'extrait aqueux ou au mélange chlorure de méthylène/méthanol (*per os*) à la dose de 2000 mg/kg. Le lot de 5 femelles a reçu de l'eau distillée (1 mL/100 g de poids corporel). Après administration des différentes substances, les animaux ont encore été privés de nourriture pendant 3 heures. Les observations portaient pendant ces 3 heures sur les manifestations telles que les tremblements, les convulsions, l'aspect des fèces, l'agressivité, le léchage, la locomotion, la sensibilité au bruit et au toucher. Les animaux ont été ensuite laissés en observation pendant 14

jours. L'évolution pondérale et les consommations alimentaire et hydrique ont été évaluées 2 fois par semaine. Le 15^{ème} jour, les animaux ont été sacrifiés par décapitation et un examen macroscopique des organes a été effectué.

II.2.10.2. Evaluation de la toxicité subaiguë de l'extrait CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cincinnata*

Cinquante (50) rats (25 mâles et de 25 femelles), pesant environ 180 g ont été répartis en 5 groupes de 5 mâles et 5 femelles chacun. Le groupe témoin a reçu de l'eau distillée (1 mL/100g de PC) et les groupes essais ont reçu l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cincinnata* respectivement aux doses de 200, 400 et 600 mg/kg pendant 28 jours. Le groupe satellite a reçu l'extrait de plante à la dose de 600 mg/kg pendant 28 jours, puis a été laissé sans traitement pour évaluation d'une éventuelle réversibilité des effets de l'extrait de plante pendant 14 jours. Les différents traitements étaient administrés par voie orale à l'aide d'une sonde œsophagienne. Pendant la période expérimentale, les animaux étaient pesés, les consommations alimentaire et hydrique évaluées une fois par semaine. A la fin du traitement, soit le 43^{ème} jour pour le groupe satellite et le 29^{ème} jour pour les autres groupes, les animaux mis à jeûne pendant 12 heures, ont été sacrifiés par décapitation. Le sang artérioveineux de chaque rat a été recueilli dans un tube avec héparine et sans héparine. Le sang recueilli dans les tubes sans anticoagulant, a été centrifugé à 3000 tours par minute pendant 10 minutes. Le surnageant a été réparti dans des tubes étiquetés et conservés à -20°C en vue de l'évaluation des marqueurs du profil lipidique (cholestérol total, triglycérides, cholestérol HDL et cholestérol LDL) et des fonctions hépatique (ASAT, ALAT, bilirubine) et rénale (créatinine). Le sang contenu dans les tubes avec anticoagulant a été utilisé pour l'analyse des paramètres hématologiques. Après une dissection de l'animal, l'aspect macroscopique des organes a été observé. Le foie, les reins et le cœur ont été prélevés, débarrassés du tissu adipeux et conjonctif, puis pesés. Une partie du foie, l'un des deux reins et le cœur entier ont été conservés dans du formol à 10 % pour des études histologiques. Le foie et le rein restants ont été broyés dans du tampon tris (50 mM ; pH: 7,4) de façon à obtenir des homogénats à 20 % qui ont été centrifugés à 3000 tours pendant 10 minutes, puis conservés à -20 °C pour l'évaluation des marqueurs des fonctions hépatique et rénale (ASAT, ALAT, bilirubine, créatinine).

II.2.11. Détermination des effets de *Vitex cienkowskii* sur le taux des protéines par la méthode du Biuret

II.2.11.1. Principe

Les protéines en milieu alcalin forment avec les ions cuivriques (Cu^{2+}) un complexe hexacoordonné dont la couleur varie du rose violet au bleu violet en fonction de la quantité de protéines présentes dans le milieu. Le complexe dont la longueur d'onde d'absorption maximale est de 540 nm est proportionnel à la quantité de protéines (Gornall *et al.*, 1949).

II.2.11.2. Mode opératoire

Les différents réactifs ont été additionnés comme l'indique le tableau II. Après agitation du mélange, une coloration se développe à 20-25°C pendant 20 minutes. Les densités optiques ont été lues au spectrophotomètre (Genesys) à 540 nm contre le blanc. La concentration de protéines (mg/mL) dans les différents tubes échantillons a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 14).

Tableau II : Dosage des protéines sériques par la méthode du Biuret (Gornal *et al.*, 1949)

N° des tubes	Tubes étalons						Tubes échantillons
	0	1	2	3	4	5	$X_1 - X_n$
SAB (3 mg/mL) (mL)	0	0,1	0,2	0,4	0,6	1	0
Échantillons (L)	0	0	0	0	0	0	20
NaCl 0,9 % (mL)	4	3,9	3,8	3,6	3,4	3	3,98
Réactif du Biuret (mL)	3	3	3	3	3	3	3
Quantité de protéines (mg)	0	0,3	0,6	1,2	1,8	3	
DO	0	0,012	0,027	0,046	0,075	0,112	

SAB: sérum albumine bovin ; Tube 0: blanc ; Tubes 0 à 5: tubes étalons ; Tubes X_1 à X_n : tubes tests.

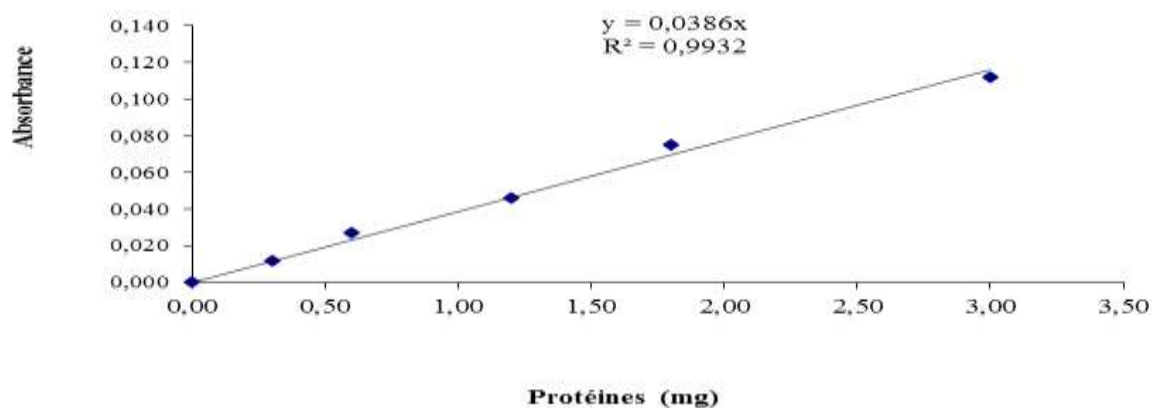


Figure 14 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines

La quantité de protéines (mg) a été exprimée à partir de l'équation de la droite $Y = 0,0386X$. Y représente la densité optique et X, la quantité de protéines dans un échantillon.

II.2.12. Détermination des paramètres du stress oxydatif

II.2.12.1. Dosage du glutathion réduit tissulaire

II.2.12.1.1. Principe

L'acide 2,2-dithio-5,5'-dibenzoïque (DTNB) réagit avec les groupements SH du glutathion pour former un complexe coloré jaune qui absorbe à 412 nm (Ellman, 1959).

II.2.12.1.2. Mode opératoire

Le tampon tris-HCl 50 mM, pH 7,4 ou le Mac Even (20 μ L) et les homogénats (20 μ L) ont été introduits dans les tubes à essais blanc et tests respectivement. Par la suite, 3 mL de réactif d'Ellman ont été ajoutés dans chaque tube. Les tubes ont été incubés pendant 1 h à température ambiante et la densité optique a été lue à 412 nm contre le blanc.

La quantité de glutathion a été exprimée à partir de la loi de Beer-Lambert.

$$DO = \epsilon \cdot L \cdot C$$

DO = densité optique ; ϵ : coefficient d'extinction molaire : 13600/M/cm ; C : concentration du glutathion dans le tissu (mmol/mg de tissu) ; L : trajet optique (1cm)

II.2.12.2. Dosage de la catalase

II.2.12.2.1. Principe

Le peroxyde d'hydrogène est rompu en présence de la catalase. Ce peroxyde détruit se lie au dichromate de potassium pour former un précipité bleu vert d'acide perchromique instable, qui va être ensuite décomposé par la chaleur et former un complexe vert qui absorbe à 570 nm. L'activité de la catalase qui est proportionnelle à la densité optique, est déterminée grâce à une courbe d'étalonnage (Sinha, 1972).

II.2.12.2.2. Mode opératoire

Les différents réactifs ont été mélangés comme l'indique le tableau III.

Tableau III : Technique de réalisation de la courbe d'étalonnage pour le dosage de la catalase

N° tubes	1	2	3	4	5
H ₂ O ₂ 50 mM (μL)	0	20	40	80	160
Eau distillée (μL)	1000	980	960	920	840
Solution de Dichromate/acide acétique (mL)	2	2	2	2	2
Activité de la catalase (H ₂ O ₂ décomposé en μM /min)	0,00	0,33	0,67	1,33	2,67
Densités optiques	0,00	0,02	0,05	0,08	0,15

Après formation d'un précipité bleu, les tubes ont été chauffés jusqu'à ébullition pendant 10 minutes (apparition de la couleur verte de l'acétate chromique) et refroidis à température ambiante. La DO de chaque tube a été lue à 570 nm contre le blanc.

Dans les tubes tests ont été introduits 50 μL de l'homogénat et 750 μL de tampon phosphate (0,1M; pH 7,5). A ce mélange, ont été ajoutés 200 μL de substrat peroxyde d'hydrogène (50 mM) et le chronomètre a été enclenché. Après une minute, la réaction a été arrêtée par ajout de 2 mL de solution de dichromate/acide acétique. Dans le tube témoin ont été introduits 50 μL d'homogénat et 750 μL de tampon phosphate. Tous les tubes ont été portés à ébullition pendant 10 minutes. Après refroidissement, la densité optique a été lue au spectrophotomètre (Genesys) à 570 nm. La quantité de peroxyde d'hydrogène (μM) a été exprimée à partir de l'équation de la droite $Y = 0,0593X$. Y représente la densité optique et X, la quantité de H₂O₂ dans un échantillon (Figure 15). L'activité spécifique de la catalase dans un échantillon (μM de H₂O₂/min/mg de protéines) est proportionnelle à la quantité de H₂O₂ détruite en une minute dans l'échantillon.

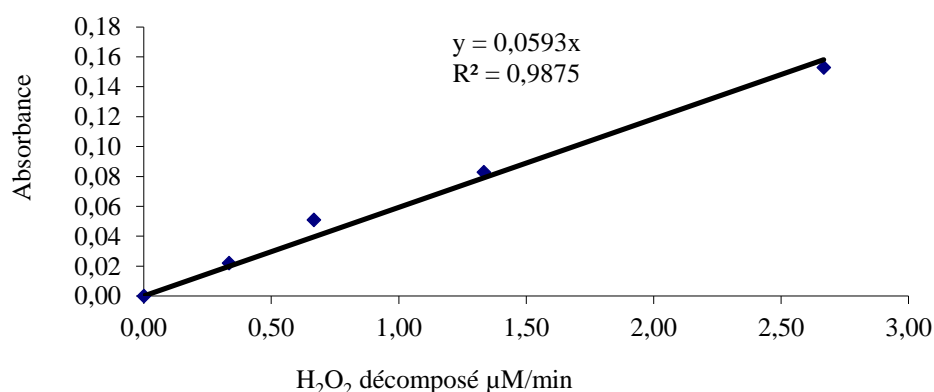


Figure 15 : Courbe d'étalonnage pour dosage de la catalase

II.2.12.3. Dosage de la superoxyde dismutase

II.2.12.3.1. Principe

La présence du superoxyde dismutase (SOD) dans l'échantillon inhibe l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome. L'augmentation de l'absorbance qui est proportionnelle à l'activité du superoxyde dismutase est notée entre 20 et 80 secondes à 480 nm (Misra et Fridovich, 1972).

II.2.12.3.2. Mode opératoire

Dans les tubes à essai blanc et tests ont été introduits respectivement 134 μ L de tampon tris-HCl 50 mM, pH 7,4 ou de solution de Mac Even et d'homogénat. Par la suite, 1666 μ L de tampon carbonate (50 mM, pH 10,2) ont été ajoutés dans chaque tube, puis la réaction a été déclenchée par addition de 200 μ L d'adrénaline. Après une homogénéisation rapide, la densité optique a été lue à 480 nm après 20 et 80 secondes.

Le calcul de l'activité de la SOD dans chaque échantillon se fait de la manière suivante :

$$\Delta DO (\text{min}) = DO_{20s} - DO_{80s}$$

$$\% \text{ inhibition} = 100 - (\Delta DO_{\text{essai}} \times 100 / \Delta DO_{\text{blanc}})$$

ΔDO : Variation de la densité optique entre 20 et 60 secondes

50 % d'inhibition = 1 unité

X % d'inhibition = n unité

Activité SOD (unité/mg de protéines) = SOD (unité/ml) / protéines (mg/ml) \times facteur de dilution

II.2.12.4. Dosage du malondialdéhyde

II.2.12.4.1. Principe

Les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde (MDA) issus de la décomposition des hydroperoxydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose dont la concentration est évaluée par la lecture de l'absorbance à 530 nm (Wilbur *et al.*, 1949).

II.2.12.4.2. Mode opératoire

Dans une série de tube à essai ont été introduits respectivement 2 mL de l'homogénat (tubes tests) ou de tampon tris-HCl (blanc). L'acide trichloracétique 20 % (1 mL) et l'acide thiobarbiturique 0,67 % (2 mL) ont été ajoutés dans chaque tube.

Les tubes ont été bouchés au moyen de billes en verre et chauffés à 90 °C pendant 10 min au bain marie. Ils ont ensuite été refroidis à l'eau de robinet et centrifugés à 3000 trs/min

pendant 15 min à température ambiante. Le surnageant a été décanté et la densité optique a été lue à 530 nm contre le blanc.

$$DO = \epsilon.L.C$$

DO : densité optique ; ϵ : coefficient d'extinction molaire : $1,56 \times 10^5 \text{ cm}^2/\text{mmole}$; C : concentration du malondialdéhyde ; L : trajet optique (1 cm).

II.2.12.5. Dosage du monoxyde d'azote

II.2.12.5.1. Principe

Le dosage des nitrites par la méthode de Griess est basé sur deux réactions de diazotation. Le nitrite acidifié produit un agent nitrosant qui réagit avec l'acide sulphanilique pour produire l'ion diazonium. Ce dernier va se coupler au naphthyléthylènediamide pour former un dérivé azoté chromophorique qui absorbe à 540 nm (Grand *et al.*, 2001).

II.2.12.5.2. Mode opératoire

Une dilution sériée de la solution de NaNO_2 a été faite dans 13 tubes à essais. La plus grande concentration étant 1 mM. Les dilutions ont été réalisées au demi. Dans le premier tube ont été introduits 400 μL de NaNO_2 et dans chacun des 12 tubes restants, 400 μL d'eau distillée. Par la suite, 400 μL de NaNO_2 ont été ajoutés dans le tube 2, puis l'ensemble a été homogénéisé au vortex et 400 μL ont été prélevés, ajoutés dans le tube N° 3 et ainsi de suite jusqu'au tube N° 13. Pour le dernier tube (N° 13), les 400 μL du mélange ont été prélevés et jetés. Au contenu des tubes 1 à 13 ont été ajoutés 400 μL de réactif de Griess et l'absorbance de chaque tube a été lue après 10 minutes à 570 nm. Cette première série de tubes a permis d'établir une courbe d'étalonnage. Pour évaluer la quantité de NO dans différents échantillons, 400 μL d'homogénat d'organes et 400 μL de réactif de Griess ont été introduits dans chaque tube test dans l'ordre. Après homogénéisation du mélange, la densité optique de chaque tube a été lue au spectrophotomètre (Genesys) après 10 minutes à 570 nm. Dans les tubes 1 à 7, les densités optiques étaient respectivement de 0,000 ; 0,047 ; 0,072 ; 0,084 ; 0,201 ; 0,402 et 0,801. Elles correspondaient à une quantité de nitrites respective qui était de 0,000 ; 0,004 ; 0,008 ; 0,016 ; 0,031 ; 0,063 et 0,125 mM. La quantité de nitrites (mM) dans les tubes tests a été exprimée à partir de l'équation de la droite $Y = 6,5579X$ obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 16).

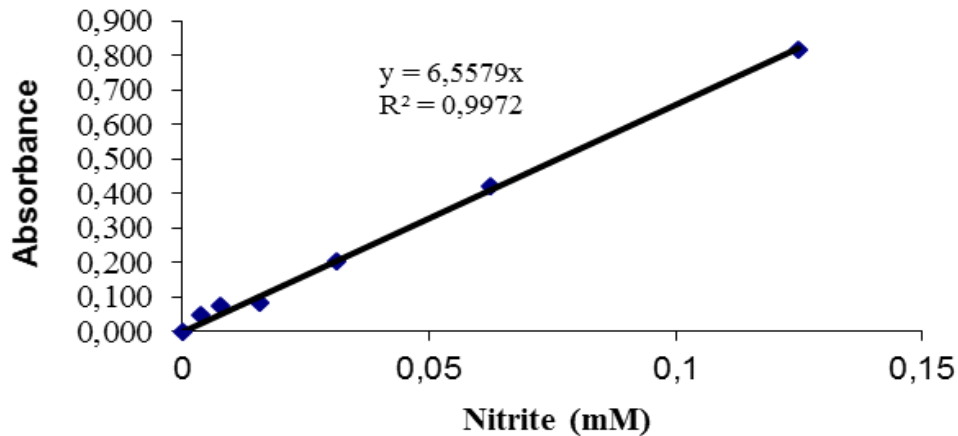


Figure 16 : Courbe d'étalonnage pour dosage de l'oxyde nitrique

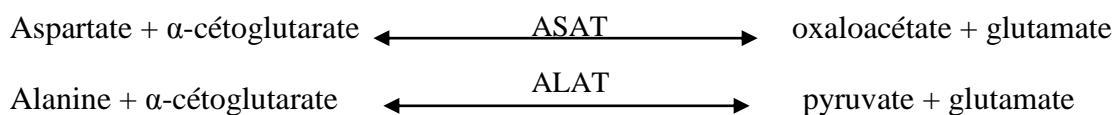
II.2.13. Evaluation des marqueurs des fonctions hépatique et rénale

II.2.13.1. Dosage de l'Alanine-aminotransférase et de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

Le Kit (Fortress, United Kingdom) a été utilisé pour la détermination de l'activité des transaminases dans les échantillons selon la méthode de Reitman et Frankel, 1957.

II.2.13.1.1. Principe

Les transaminases aspartate aminotransférase (ASAT) et alanine aminotransférase (ALAT) catalysent respectivement les réactions suivantes :



L'ALAT et l'ASAT catalysent le transfert du groupement aminé respectivement de l'alanine sur l' α -cétooglutarate pour former le pyruvate et le glutamate, et de l'aspartate vers l' α -cétooglutarate pour former l'oxaloacétate et le glutamate. Le pyruvate ou l'oxaloacétate formé réagit avec le 2,4-dinitrophenylhydrazyl (DNPH) pour donner le complexe pyruvate hydrazone ou oxaloacétate hydrazone marron qui absorbe en présence du NaOH à 546 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de pyruvate ou de l'oxaloacétate dans le milieu.

II.2.13.1.2. Mode opératoire

La courbe d'étalonnage pour déterminer l'activité de l'ASAT et de l'ALAT a été établie en complétant les différents tubes comme indiqué dans le tableau du tableau IV:

Tableau IV: Technique de réalisation des courbes d'étalonnage pour le dosage de l'ASAT/ALAT

Tubes	Pyruvate (mL)	Eau distillée (mL)	Tampon ALAT/ ASAT	ALAT		ASAT	
				Activité (U/L)	DO	Activité (U/L)	DO
1	0,0	0,2	1,0	0	0	0	0
2	0,05	0,2	0,95	4	0,030	10	0,032
3	0,1	0,2	0,90	8	0,042	16	0,046
4	0,15	0,2	0,85	12	0,060	19	0,063
5	0,2	0,2	0,80	17	0,091	31	0,091
6	0,25	0,2	0,75	21	0,115	41	0,116
7	0,3	0,2	0,70	25	0,145	47	0,127

Les courbes d'étalonnages ont été tracées en faisant correspondre l'absorbance des tubes standard avec l'activité de l'ALAT (Figure 17 A) ou l'ASAT (Figure 17 B).

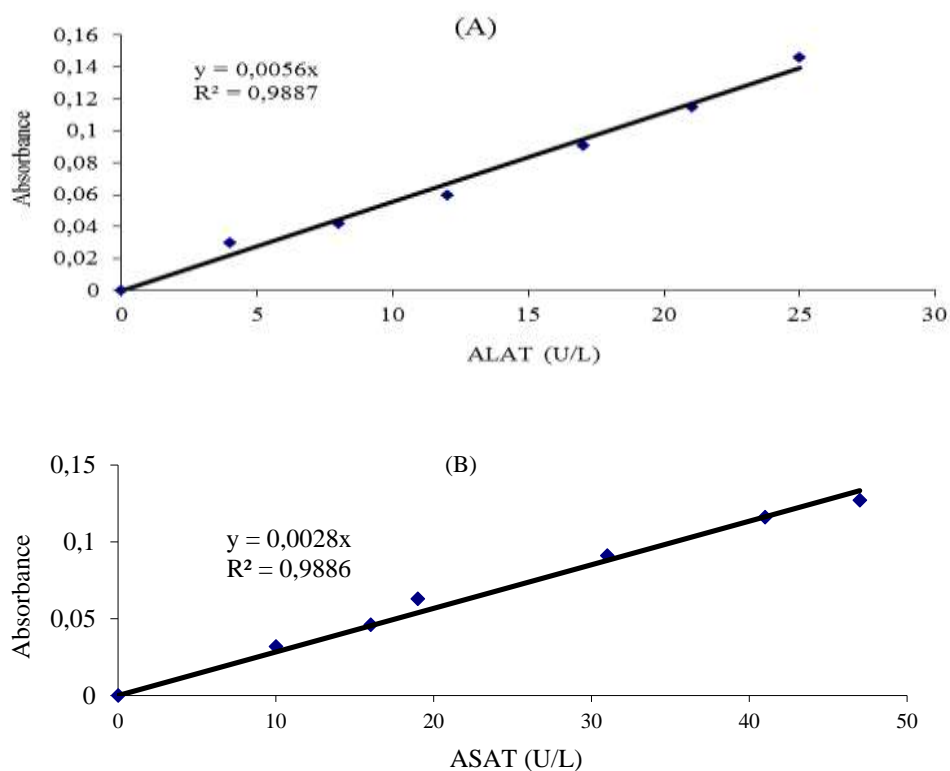


Figure 17 : Courbes d'étalonnage pour le dosage de l'ALAT (A) et de l'ASAT (B).

La détermination du taux des transaminases dans les échantillons a été effectuée selon les indications du tableau V.

Tableau V : Technique de dosage des transaminases dans les échantillons

	Blanc	Test
Échantillon (µL)	0	100
Solution R1 µL)	500	500
Eau distillée (µL)	100	0
<i>Homogénéisation et incubation pendant 30 min au Bain Marie à 37°C</i>		
Solution R2 (µL)	500	500
<i>Homogénéisation et incubation pendant 20 min à température ambiante</i>		
NaOH diluée (mL)	5	5
<i>Homogénéisation et lecture de l'absorbance contre le blanc après 5 minutes à 546 nm</i>		

II.2.13.2. Dosage de la bilirubine totale

Le kit (Fortress, United Kingdom) a été utilisé pour la détermination de la concentration de bilirubine totale dans les échantillons selon la méthode de Friedman et Young (1989).

II.2.13.2.1 Principe

La bilirubine totale est déterminée par la présence du diméthylsulphoxide suite à la réaction avec l'acide sulfanilique diazotée. La densité optique du composé produit par réaction avec la bilirubine est lue à 578 nm.

II.2.13.2.2. Mode opératoire

Les tubes tests, étalon et blanc ont été préparés comme l'indique le tableau VI.

Tableau VI : Technique de dosage de la bilirubine totale

	Blanc	Echantillons
Réactif final (µL)	1000	1000
Etalon/Echantillon (µL)	0	40
<i>Homogénéisation et incubation pendant 5 minutes à température ambiante, puis lecture l'absorbance contre le blanc à 578 nm</i>		

La concentration de bilirubine totale (Conc BT) dans l'échantillon a été calculée à partir de la formule suivante :

$$\text{Conc}_{\text{BT}} = \text{Conc}_{\text{ET}} \times \text{DO}_{\text{Ech}}$$

Conc_{BT} : concentration de bilirubine totale dans l'échantillon ; Conc_{ET} : concentration de l'étalon ; DO_{Ech} : densité optique de l'échantillon ; DO : densité optique.

II.2.13.3. Dosage de la créatinine

II.2.13.3.1. Principe

En milieu alcalin, la créatinine forme avec l'acide picrique un complexe jaune orangé. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans le milieu réactionnel (Bartels et Bohmer, 1972).

II.2.13.3.2. Mode opératoire

La solution de travail est obtenue en mélangeant un volume d'acide picrique (8,8 mM) avec un volume de soude (0,4 M). Dans des tubes à essai contenant 0,1 mL d'échantillon ou de standard a été ajouté 1 mL de la solution de travail. Le contenu du tube a ensuite été mélangé. La densité optique a été lue contre le blanc (le tampon tris-HCl 50 mM, pH 7,4 ou eau distillée) au spectrophotomètre (Genesys) à 492 nm après 20 et 80 secondes. La concentration en créatinine (Conc créat) de chaque échantillon a été calculée grâce à la formule suivante :

$$[\text{creat}] = (\text{DO}_{80} - \text{DO}_{20}) \text{ échantillon} \times 15 / (\text{DO}_{80} - \text{DO}_{20}) \text{ étalon}$$

[creat] : concentration de créatinine (mg/dL) ; DO_{80} : Densité optique lue après 80 secondes ; DO_{20} : densité optique lue après 20 secondes.

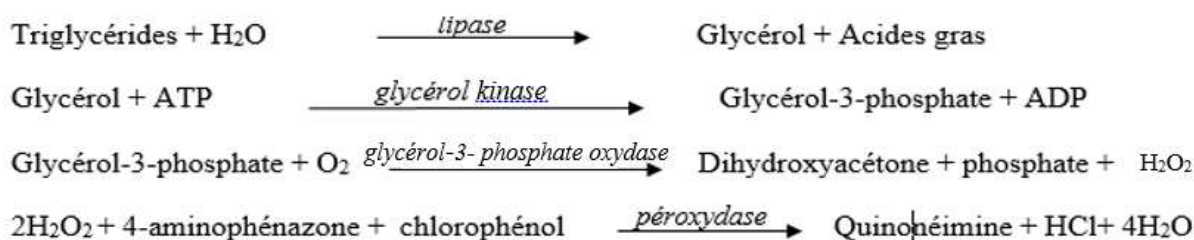
II.2.14. Evaluation des paramètres du profil lipidique

Le dosage des paramètres du profil lipidique a été réalisé à partir des kits commerciaux (Fortress, United Kingdom).

II.2.14.1. Dosage des triglycérides

II.2.14.1.1. Principe

Sous l'action de lipases, les triglycérides sont hydrolysés en glycérol. Le glycérol est ensuite transformé en peroxyde d'hydrogène sous l'action successive de la glycérol-kinase et de la glycérol-3-phosphate oxydase. La quinonéimine sert d'indicateur qui se forme de peroxyde d'hydrogène, 4-aminoantipyrine et 4-chlorophénol sous l'action catalytique de la peroxydase (Buccolo et David, 1973).



II.2.14.1.2. Mode opératoire

Les différents tubes ont été préparés comme l'indique le tableau VII.

Tableau VII : Technique de dosage des triglycérides

	Blanc	Standard / Echantillon
Eau distillée (µL)	10	0
Echantillon/Etalon (µL)	0	10
Réactif (µL)	1000	1000

Les différents tubes ont été homogénéisés et incubés pendant 5 minutes à 37° C et l'absorbance est lu à 500 nm contre le blanc.

La concentration de triglycérides a été déterminée dans les tubes échantillons suivant la formule suivante :

$$[\text{Triglycérides}] = [\text{Etalon}] \times \text{DO}_{\text{Echantillon}} / \text{DO}_{\text{Etalon}}$$

[Triglycérides] : concentration des triglycérides dans l'échantillon (mg/dL) ; [Etalon] : concentration de l'étalon (mg/dL) ; DO : densité optique.

II.2.14.2. Dosage du cholestérol total

II.2.14.2.1. Principe

La cholestérol estérase catalyse l'hydrolyse du cholestérol estérifié en cholestérol libre et en acide gras. Le cholestérol libre est alors oxydé en cholestén 4-one 3 et en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de la cholestérol oxydase. Le 4-amino antipyrine et le phénol se combinent au peroxyde d'hydrogène, en présence des peroxydases, pour produire la quinonéine qui a une couleur rose. L'intensité de la coloration produite est proportionnelle à la concentration du cholestérol total présent dans l'échantillon (Richmond, 1973).

II.2.14.2.2. Mode opératoire

A 10 L d'échantillon (sérum), a été ajouté 1 mL de réactif (kit Fortress, United Kingdom). L'ensemble a été agité. Après incubation de la préparation à 37°C pendant 5 minutes, l'absorbance a été lue au spectrophotomètre à 500 nm contre le blanc (Tableau VIII). La concentration du cholestérol dans les différents tubes essais a été déterminée par la formule suivante :

$$[\text{Cholestérol total}] = [\text{Etalon}] \times \text{DO}_{\text{Echantillon}} / \text{DO}_{\text{Etalon}}$$

[Cholestérol total] : concentration du cholestérol total dans l'échantillon (mg/dL) ; [Etalon] : concentration de l'étalon ; DO : densité optique.

Tableau VIII : Technique de dosage du cholestérol total

	Blanc	Standard / Echantillon
Eau distillée (µL)	10	0
Echantillon/Etalon (µL)	0	10
Réactif (µL)	1000	1000
<i>Les différents tubes ont été homogénéisés et incubés pendant 5 minutes à 37° C et l'absorbance est lu à 500 nm contre le blanc.</i>		

II.2.14.3. Dosage du cholestérol HDL

II.2.14.3.1. Principe

Les lipoprotéines : chylomicrons, cholestérol VLDL et cholestérol LDL sont précipités par l'ajout de l'acide phosphotungstique et le chlorure de magnésium. Après centrifugation, le surnageant clair contenant la fraction de cholestérol HDL est dosé avec le réactif du cholestérol total (Friedewald *et al.*, 1972).

II.2.14.3.2. Mode opératoire

Dans les tubes ont été introduits 200 µL d'échantillon et 500 µL du réactif de précipitation. Le mélange a été centrifugé à 4000 tours pendant 10 minutes et le surnageant collecté a été utilisé pour le dosage du cholestérol HDL suivant le protocole de dosage du cholestérol total. La concentration du cholestérol HDL a été calculée à partir de la formule suivante :

$$[\text{Cholestérol HDL}] \text{ (mg/mL)} = [\text{Etalon}] \times \text{DO}_{\text{Echantillon}} / \text{DO}_{\text{Etalon}}$$

[Cholestérol HDL]: concentration du Cholestérol HDL dans l'échantillon (mg/dL) ; [Etalon] : concentration de l'étalon ; DO : densité optique.

II.2.14.4. Détermination du Cholestérol LDL

La concentration en cholestérol LDL sérique a été déterminée par la méthode de différence selon l'équation de Friedewald *et al.* (1972).

$$[\text{Cholestérol LDL}] = [\text{Cholestérol total}] - [\text{Cholestérol HDL}] - [\text{Triglycérides}]/n$$

[Cholestérol LDL] (g/L) et n=5 si [Triglycérides] < 4g/L ; [Cholestérol LDL] (mmol/L) et n=2 si [Triglycérides] < 5 mmol/L ; [x] : concentration de X.

II.2.15. Etudes histologiques

II.2.15.1. Recoupe ou « trimming »

Après prélèvement et fixation dans du formol 10 %, les organes (cœur, reins, foie) ont été coupés en petites tranches suivant un plan transversal et introduits dans des cassettes numérotées au crayon.

II.2.15.2. Déshydratation et inclusion

La déshydratation a été faite manuellement en introduisant les cassettes dans des bacs contenant de l'alcool éthylique à des degrés croissants et à une durée déterminée : bac à 50° (1 h), bac à 70° (1 h), 2 bacs à 95° (1 h pour le 1^{er} et 1 h 30 mn pour le 2^{ème}) et 3 bacs à 100° (pendant respectivement 1 h, 1 h 30 mn et 2 h). Après la sortie du 3^{ème} bac d'alcool à 100°, les cassettes ont séjourné dans 2 bacs de xylène pendant respectivement 1 h et 1 h 30 mn.

II.2.15.3. Inclusion

Les cassettes ont été introduites dans 3 séries de bac paraffine sous vide à 60 °C à l'étuve pendant respectivement 1 h, 1 h 30 mn, 2 h. Les cassettes ont ensuite été introduites dans un distributeur de paraffine contenant de la paraffine fondue à 60 °C environ.

II.2.15.4. Enrobage

Après inclusion, les organes ont été ensuite introduits dans des moules à l'intérieur desquels a été coulée de la paraffine fondue. Une fois la paraffine refroidie, les blocs ont été placés dans le congélateur pour le durcissement.

II.2.15.5. Confection des coupes

Les blocs refroidis ont été fixés sur un microtome et coupés en épaisseur de 5 µm, ce qui a permis d'obtenir pour chaque cassette un ruban de paraffine sur lequel différents niveaux de coupes étaient choisis. Une fois coupées, les sections ont été mises sur un bain d'eau à 40°C pour déplissage, puis récupérées sur une lame. Les lames ont ensuite été posées dans une étuve à 45° C pendant 24 h.

II.2.17.6. Coloration à l'hématoxyline-éosine

Les lames blanches après séchage à l'étuve, ont été déparaffinées dans 3 bacs de xylène pendant 5 mn chacun, puis réhydratées par passages successifs de 5 minutes dans des bacs d'alcool éthylique à des degrés décroissants : 100° (3 bacs) ; 95° (1 bac) ; 70° (bac) et dans de l'eau distillée pendant 1 minute. Les lames ont ensuite été depicriquées dans du carbonate de

lithium à 1 % pendant 1 minute. Après cette étape, les lames ont été introduites dans l'hématoxyline pendant 10 minutes pour colorer les noyaux cellulaires en bleu foncé. Après rinçage à l'eau de robinet, les lames ont été plongées dans l'éosine pendant 5 à 10 minutes pour colorer le cytoplasme en rose, puis elles ont été rincées à l'eau distillée. Après une déshydratation rapide dans un bac d'alcool absolu, les lames ont été trempées dans du toluène et montées à l'eukitt.

II.2.15.7. Observation et photographie

Les coupes colorées ont été recouvertes par une fine lamelle de verre qui emprisonne le milieu de montage (résine), et observées au microscope photonique de type Olympus CH2. Le microscope est muni d'une caméra de marque Olympus 101 qui a permis la réalisation de photographies.

II.2.16. Analyse des paramètres hématologiques

Les numérations globulaires, le nombre de plaquettes, le taux d'hémoglobine, l'hématocrite ont été effectués sur le sang total recueilli dans les tubes avec anticoagulant, à l'aide d'un automate à impédance (Coulter Counter model S-PLUS IV).

II.2.17. Analyse statistique des résultats

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm ESM. Les différences statistiques entre les groupes ont été établies grâce au test d'analyse de la variance (ANOVA), suivi du post test de Dunnett. Pour les tests sur la réactivité vasculaire des rats SHR, le test d'ANOVA était suivi du post test de Bonferroni. Quel que soit le test effectué, la différence significative était considérée pour $P < 0,05$.

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Résultats

III.1.1. Effets aigus des extraits de *Vitex cienkowskii* sur quelques paramètres hémodynamiques

III.1.1.1. Effets de l'extrait aqueux sur pression artérielle moyenne (PAM) et la fréquence cardiaque (FC)

L'administration intraveineuse d'une dose unique (10 ou 20 mg/kg) de l'extrait aqueux de *V. cienkowskii* (VCE) a entraîné une chute immédiate dose dépendante et non significative de la PAM, comparée à la valeur initiale (Figure 18 A). Les pourcentages de baisse respectifs étaient de 9,67 % et de 12,26 %. Environ 2 minutes après la chute immédiate observée, la pression est remontée progressivement pour atteindre les valeurs de départ au bout de 15 minutes, avant de redescendre lentement pour atteindre à la 40^{ème} minute, un pourcentage de baisse d'environ 3 % autour de laquelle la pression s'est stabilisée jusqu'à la 60^{ème} minute. Les doses de 30 et 40 mg/kg ont provoqué dès l'injection, une chute rapide dose dépendante et significative ($P < 0,01$) de la pression par rapport à la valeur initiale. Les pourcentages de baisse enregistrés étaient de 21,60 % et de 33,54 % respectivement pour les doses de 30 et 40 mg/kg. Après cette chute rapide, la pression est remontée progressivement vers la normale et s'est stabilisée au bout de la 5^{ème} minute à des valeurs inférieures de 1,66 % et de 8,24 % à la pression initiale pendant une heure (Figure 18A).

Les effets de l'administration intraveineuse des différentes doses de VCE sur la fréquence cardiaque sont résumés dans la figure 18 B. Il y ressort que l'extrait aqueux dès l'injection, a entraîné une baisse transitoire dose dépendante, mais non significative de la fréquence cardiaque des rats normotendus. La fréquence cardiaque s'est stabilisée à partir de la 20^{ème} minute.

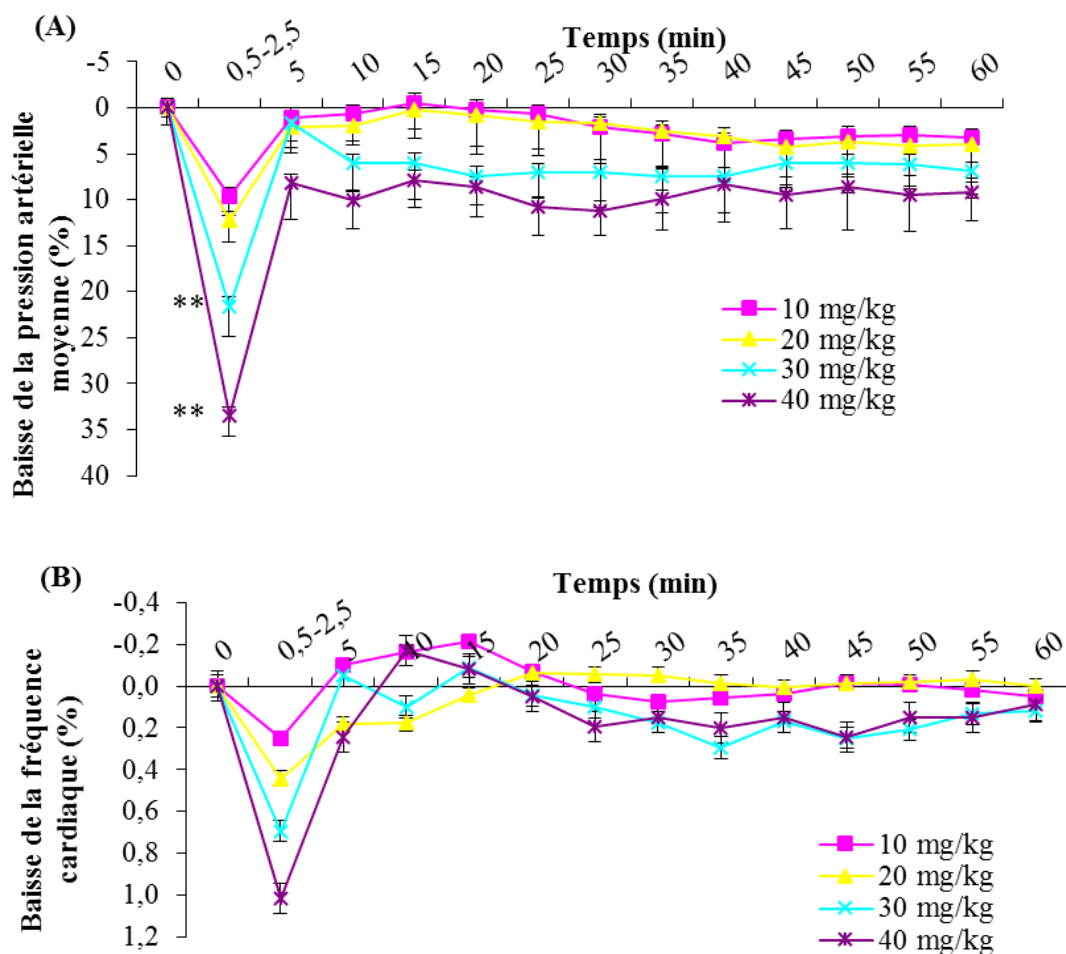


Figure 18 : Effets aigus de l'extrait aqueux de *Vitex cenkowskii* sur la pression artérielle moyenne (A) et la fréquence cardiaque (B) des rats normotendus.

Chaque point représente la moyenne \pm ESM ; n = 5 ; ** p < 0,01 différence significative par rapport à la valeur initiale. L'extrait de plante a été administré aux doses de 10, 20, 30 et 40 mg/kg et l'effet de chaque dose a été enregistré pendant 60 min.

III.1.1.2. Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *V. cenkowskii* sur la pression artérielle moyenne (PAM) et la fréquence cardiaque (FC)

L'injection intraveineuse d'une dose unique de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *V. cenkowskii* (VCOMM) aux doses de 10, 20, 30 et 40 mg/kg a induit une hypotension fugace dose dépendante qui dure environ 5 minutes. Les pourcentages de baisse respectifs étaient de 9,79 % (P > 0,05), 11,40 % (P > 0,05), 23,82 % (P < 0,01) et 36,04 % (P < 0,01). Après l'hypotension brève observée, la pression remonte et atteint la valeur initiale après 5 minutes aux doses de 10 et 20 mg/kg. Aux doses de 20 et 30 mg/kg, la PAM ne retourne pas à la valeur initiale et reste inférieure à la valeur de départ pendant le temps d'enregistrement (5 à 60 min). La dose de 40 mg/kg a induit après l'hypotension fugace, une seconde phase lente avec un effet significatif (P

< 0,01) de la 25^{ème} minute à la 60^{ème} minute. La chute tardive de la PAM était d'environ 26,48 % (Figure 19 A).

L'administration intraveineuse de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *V. cienkowskii* aux doses de 20, 30 et 40 mg/kg, a entraîné chez les rats normotendus, une baisse fugace dose dépendante et non significative de la FC pendant les 5 premières minutes. Après cette baisse transitoire, la FC s'est stabilisée autour des valeurs légèrement inférieures et non significatives de la valeur initiale (Figure 19 B).

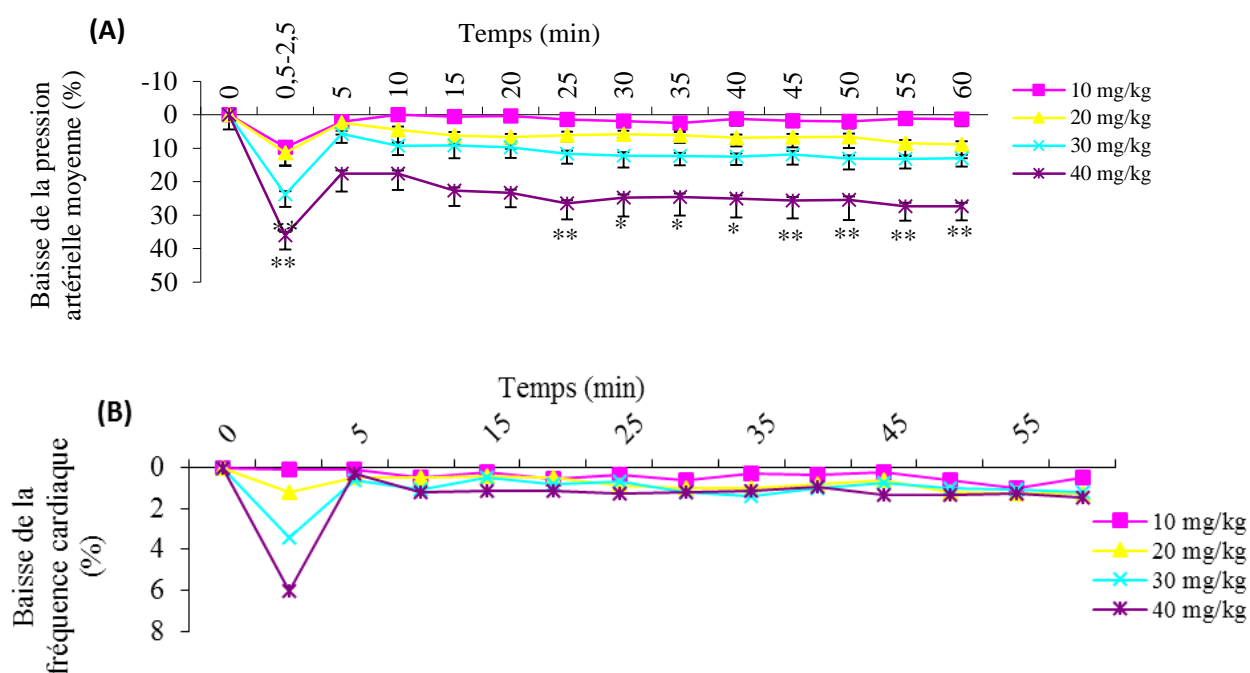


Figure 19 : Effets aigus de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) les rats normotendus.

Chaque point représente la moyenne \pm ESM ; n = 5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport à la valeur initiale. L'extrait de plante a été administré aux doses de 10, 20, 30 et 40 mg/kg et l'effet de chaque dose a été enregistré pendant 60 min.

Au terme de cette étude préliminaire, il apparaît que l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* en plus d'un effet hypotensif immédiat comme l'extrait aqueux, induit une activité hypotensive tardive et significative qui perdure au-delà de l'heure. Au vue de ces résultats, l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* a été choisi pour la suite de nos études.

III.1.2. Effets comparés de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *V. cienkowskii* et de quelques substances pharmacologiques sur la pression artérielle moyenne et la fréquence cardiaque des rats normotendus

L'injection intraveineuse du carbachol (10 μ g/kg) ou du propranolol (2 mg/kg) a entraîné une chute immédiate et significative (P < 0,001) de la PAM respectivement, de 39,74 et de

33,43 % (Figure 20 A). La PAM est remontée progressivement pour atteindre la valeur initiale après 5 minutes et elle s'est stabilisée jusqu'à la 60^{ème} minute. La cimétidine (15 mg/kg) a provoqué une baisse rapide et significative ($P < 0,001$) de 32,59 % de la PAM, qui est remontée progressivement pour atteindre la valeur de pression de départ vers la 5^{ème} minute, suivie d'une diminution progressive jusqu'à la 45^{ème} minute à laquelle il a été enregistré une baisse non significative de 11,48 %. Contrairement à ces trois substances, l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *V. cienkowskii* (40 mg/kg) a induit une seconde phase d'activité hypotensive à partir de la 5^{ème} minute et qui a perduré jusqu'à la 60^{ème} minute (Figure 20 A).

La figure 20 B présente les effets d'une dose unique de quelques substances pharmacologiques administrées par voie intraveineuse sur la fréquence cardiaque des rats normotendus. Il en ressort que le carbachol (10 µg/kg) a induit dès son injection, une chute immédiate et significative (51,60 % ; $P < 0,001$) de la FC qui est remontée pour se stabiliser autour de la valeur initiale après 5 minutes. Le propranolol (2 mg/kg), la cimétidine (15 mg/kg) et l'extrait de plante (40 mg/kg) n'ont pas modifié de façon significative les variations de la FC.

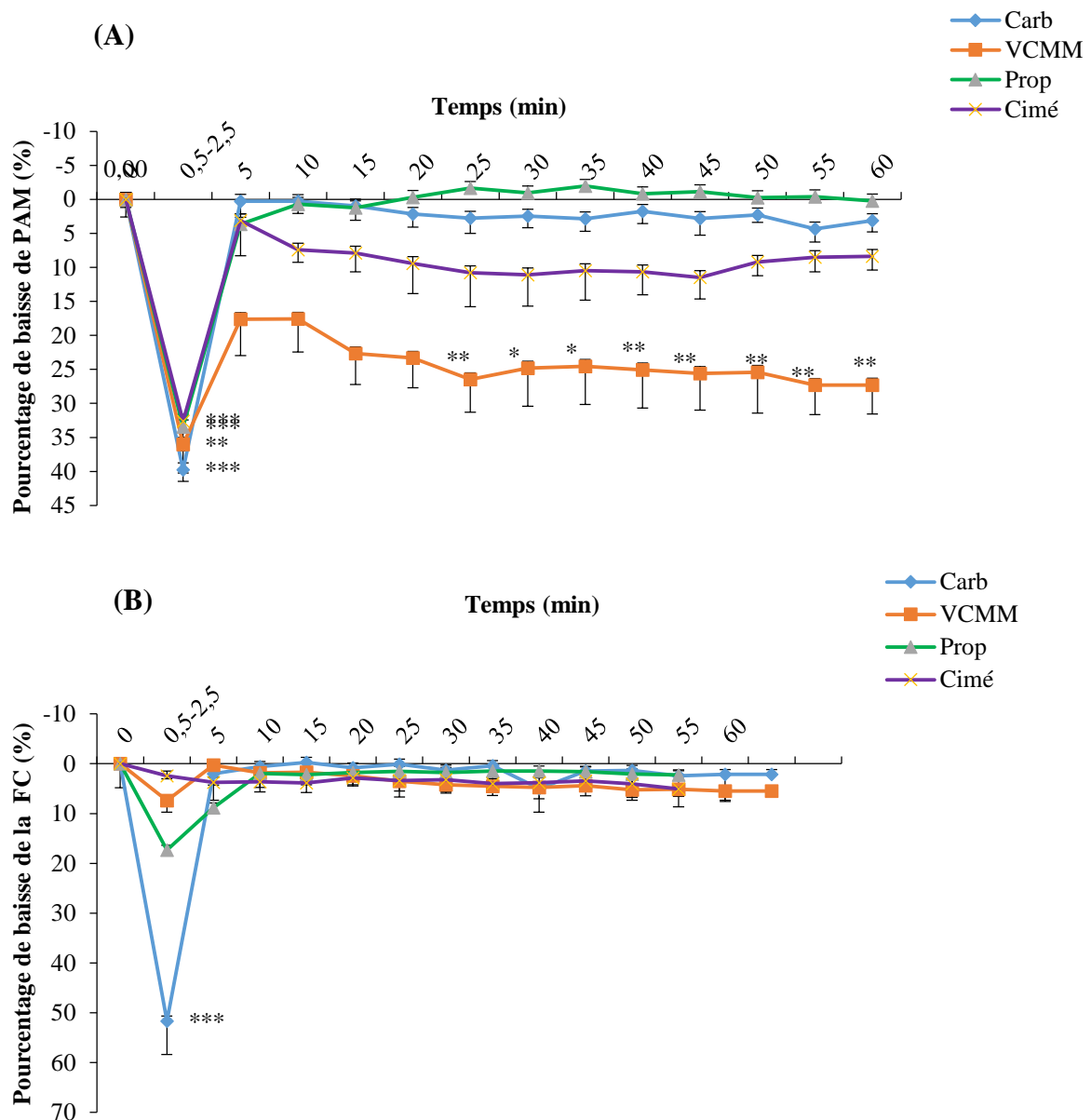


Figure 20 : Effets comparés d'une dose unique d'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii*, du carbachol, du propranolol et de la cimétidine sur la pression artérielle moyenne (A) et la fréquence cardiaque (B) chez les rats normotendus.

Chaque point représente la moyenne \pm ESM ; n = 5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 différences significatives par rapport à la valeur initiale ; VCMM : extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* (40 mg/kg) ; Carb : carbachol (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) ; Cimé : cimétidine (15 mg/kg) ; Prop : propranolol (2 mg/kg).

III.1.3. Effets du carbachol et de la noradrénaline en présence des antagonistes pharmacologiques

Le prétraitement des rats avec l'atropine à la dose de 0,1 mg/kg a complètement inhibé la réponse hypotensive du carbachol (Figure 21 A). L'injection intraveineuse de la noradrénaline (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) a entraîné une augmentation fugace et significative (P < 0,01) de la PAM (40,79 %) qui dure environ 2 minutes avant de redescendre pour se stabiliser autour de la valeur initiale

(Figure 22 A). Le propranolol (2 mg/kg) a réduit significativement ($P < 0,01$) l'hypertension provoquée par la noradrénaline (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (Figure 22 A).

La fréquence cardiaque a baissé brusquement de manière significative ($P < 0,01$) suite à l'administration de la noradrénaline, puis elle est remontée pour atteindre la valeur de départ autour de laquelle elle s'est stabilisée jusqu'à la fin de l'enregistrement. L'atropine a complètement inhibé la baisse de la FC induite par le carbachol (Figure 21 B). Le propranolol a réduit significativement la bradycardie réflexe provoquée par la noradrénaline. Le pourcentage de chute induite par la noradrénaline seule est passé de 40,79 % à 18,38 % en présence du propranolol (Figure 22 B).

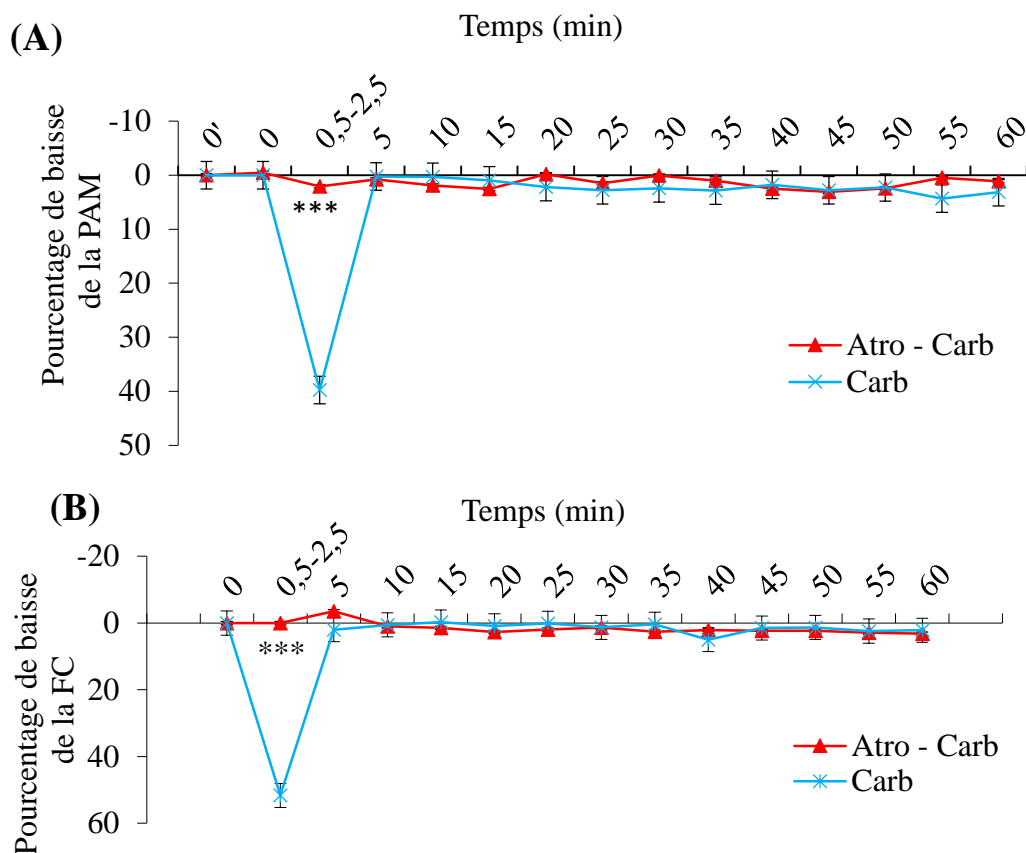


Figure 21 : Effets du carbachol sur la pression artérielle moyenne (A) et la fréquence cardiaque (B) en présence de l'atropine chez les rats normotendus.

Chaque point représente la moyenne \pm ESM ; n = 5; *** p < 0,001 différence significative par rapport au carbachol seul; Carb : carbachol (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) ; Atro : atropine (0,1 mg/kg). L'atropine était administrée 5 min avant le carbachol.

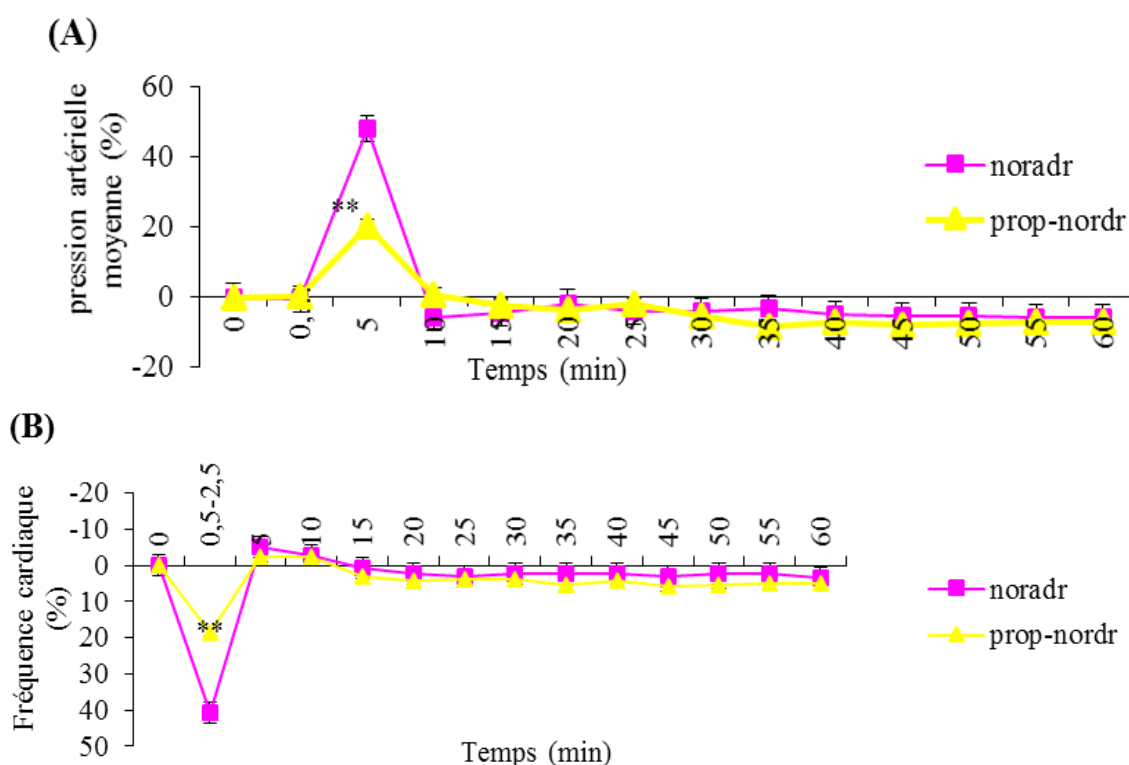


Figure 22 : Effets de la noradrénaline sur la pression artérielle moyenne (A) et la fréquence cardiaque (B) en présence du propranolol chez les rats normotendus.

Chaque point représente la moyenne \pm ESM ; n=5; ** p < 0,01 différence significative par rapport à la noradrénaline seule; noradr : noradrénaline (100 μ g/kg) ; prop : propranolol (2 mg/kg). Le propranolol était administré 5 min avant la noradrénaline.

III.1.4. Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *V. cienkowskii* en présence de quelques substances pharmacologiques

La figure 23 présente les effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *V. cienkowskii* (40 mg/kg) en présence de l'atropine (0,1mg/kg), du propranolol (2 mg/kg), de la cimétidine (15 mg/kg) ou de la réserpine (5 mg/kg). Il ressort de cette figure que le prétraitement des rats avec l'atropine a significativement (P < 0,01) réduit les réponses hypotensives immédiate et tardive de l'extrait de plante (Figure 23 A). La baisse fugace de la PAM induite par *V. cienkowskii* seul qui était de 36,04 %, a été réduite à 18,02 % en présence de l'atropine. La réserpine, le propranolol ou la cimétidine n'ont pas significativement modifié l'effet hypotensif immédiat de l'extrait sur la pression artérielle. En présence de ces antagonistes pharmacologiques, l'hypotension tardive induite par l'extrait de plante est moins importante et non significative (P > 0,05) par rapport à l'effet provoqué par l'extrait de plante seul (40 mg/kg). La FC des rats quant à elle, n'a pas subi de variation significative suite à l'administration de ces différents antagonistes (Figure 23 B).

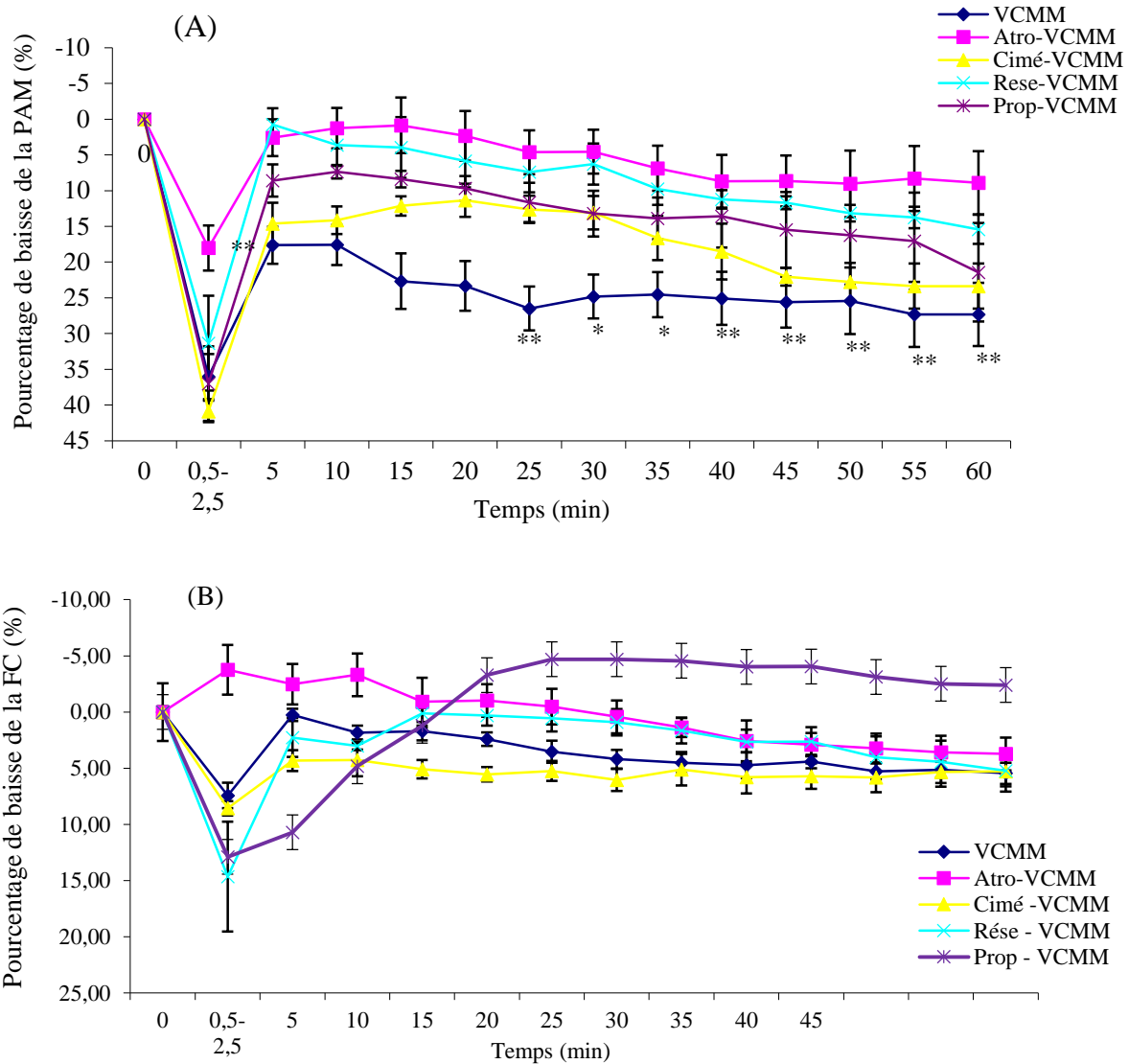


Figure 23 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur la pression artérielle moyenne (A) et la fréquence cardiaque (B) en présence de quelques antagonistes pharmacologiques chez les rats anesthésiés.

Chaque point représente la moyenne \pm ESM ; n = 5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport à la valeur initiale; VCMM : extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* (40 mg/kg) ; Atro : atropine (0,1 mg/kg) ; Cimé : cimétidine (15 mg/kg) ; Prop : propranolol (2 mg/kg) ; Rése : réserpine (5 mg/kg). La réserpine a été administrée quotidiennement pendant 3 jours avant l'administration de l'extrait de plante. L'atropine, le propranolol et la cimétidine étaient administrés 5 min avant l'extrait de plante.

III.1.5. Effets préventifs de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur l'hypertension induite par le L-NAME

III.1.5.1. Effets sur l'évolution du poids corporel

La figure 24 résume les effets des différents traitements sur le poids corporel des animaux. Il en ressort que le poids corporel des animaux a augmenté pendant toute la durée du traitement dans tous les groupes. La croissance pondérale était significativement réduite (P < 0,01) chez

tous les groupes tests comparés au groupe témoin, avec un effet plus marqué chez les rats soumis à l'action du L-NAME. Chez les rats traités concomitamment avec le L-NAME et le captopril ou l'extrait de plante (400 mg/kg), la croissance pondérale a été significativement améliorée de la 1^{ère} à la 3^{ème} semaine, en comparaison avec le témoin hypertendu. Au terme de la période expérimentale (28 jours), les résultats de cette étude ne montre pas de modifications significatives entre les animaux qui ont reçus uniquement le L-NAME et ceux traités concomitamment avec le L-NAME et l'extrait de plante ou le captopril.

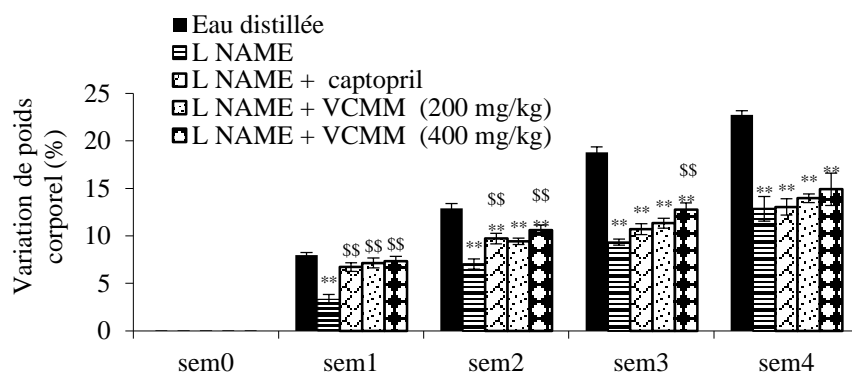


Figure 24: Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur la variation du poids corporel en traitement préventif chez les rats traités avec du L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n = 5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin (rats normotendus) ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME) ; L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg ; sem 0 : semaine qui précède la 1^{ère} semaine de traitement ; sem1-sem4 : 1^{ère} à 4^{ème} semaine de traitement ; L-NAME : N^w-nitro-L-arginine methyl ester.

III.1.5.2. Effets sur le poids relatif des organes

La figure 25 présente les effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* administré simultanément avec le L-NAME, pendant 4 semaines, sur le poids des organes des rats normaux. L'administration de L-NAME pendant 4 semaines n'a pas entraîné de variation significative (P > 0,05) du poids du cœur, du foie et des reins, comparativement au témoin. Par rapport aux rats du groupe témoin, le poids relatif du ventricule gauche a significativement augmenté (P < 0,01) de 22,66 % chez les rats traités uniquement avec le L-NAME. Cette augmentation était seulement de 17,12 ; 16,63 et 12,80 % chez les rats traités au captopril et à l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg respectivement. Comparativement au témoin hypertendu, l'hypertrophie ventriculaire gauche a significativement été réduite de 11,04 (P < 0,01) ; 11,44 (P < 0,05) et 11,75 % (P < 0,01) respectivement, chez les rats traités au captopril et à l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg.

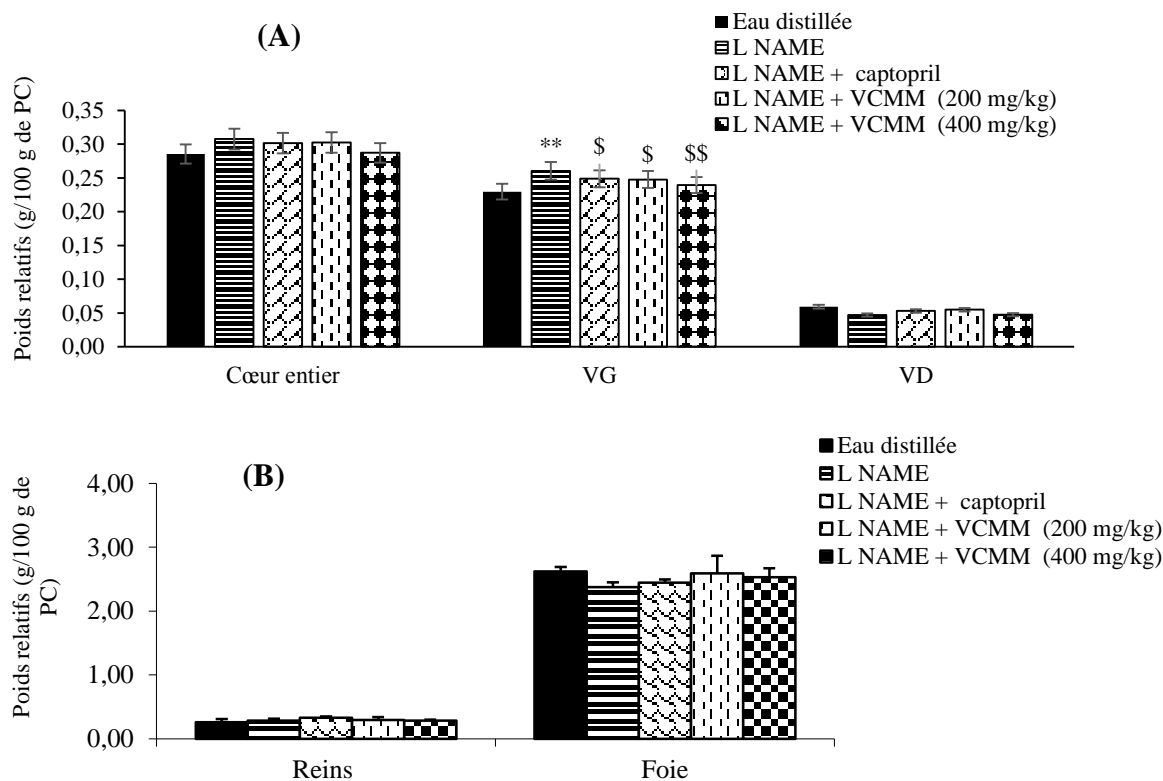


Figure 25: Effets de l'extrait au $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ de *Vitex cienkowskii* sur le poids relatifs du cœur entier, des ventricules droits et gauches (A), des reins et du foie (B) en traitement préventif chez les rats traités avec du L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; (n=5-7) : nombre d'animaux par groupe ; ** p < 0,01 différence significative par rapport au groupe témoin (rats normotendus) ; \$ p < 0,05 ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME) ; L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME. VD : ventricule droit ; VG : ventricule gauche.

III.1.5.3. Effets sur les prises alimentaire et hydrique

La consommation alimentaire a baissé dans tous les groupes tests comparés au témoin durant les quatre semaines de traitement. La baisse significative ($P < 0,01$) maximale a été observée chez les rats soumis à l'action du L-NAME seul à partir de la fin de la 1^{ère} semaine. Les pourcentages de baisse de la consommation alimentaire enregistrés à la fin de la 1^{ère} semaine étaient de 27,43; 12,15; 23,19 et 11,65 % respectivement chez les rats traités uniquement avec du L-NAME, les rats traités au captopril et à l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg. Le traitement avec l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg a ralenti durant tout le temps de traitement et de manière significative ($P < 0,01$), la baisse de la prise alimentaire observée chez les rats traités uniquement avec du L-NAME (Figure 26 A).

La prise hydrique a augmenté de façon non significative chez les rats traités uniquement avec du L-NAME comparés au témoin durant le traitement. L'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg a réduit significativement la consommation d'eau dès la fin de la 2^{ème} semaine, en comparaison au témoin hypertendu (Figure 26 B).

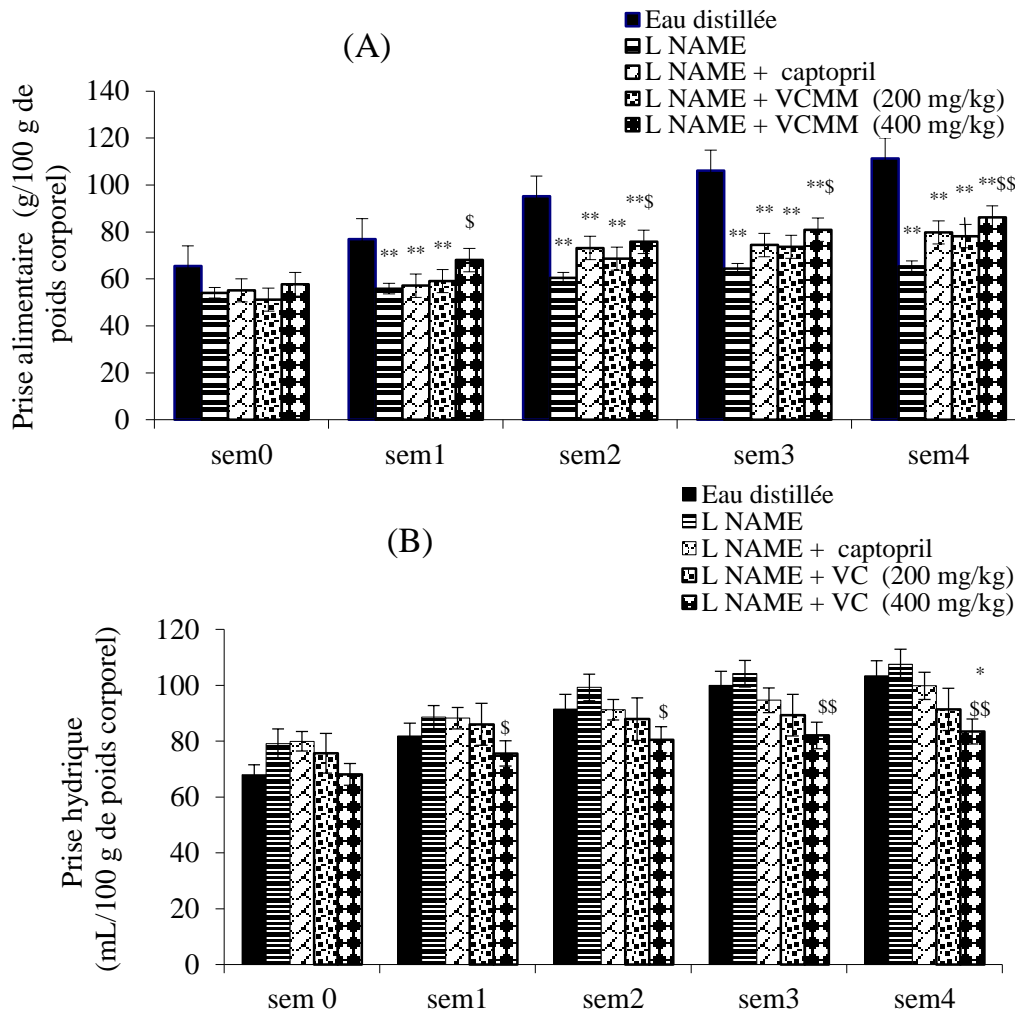


Figure 26 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur les prise alimentaire (A) et hydrique (B) en traitement préventif chez les rats traités avec du L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; différence significative par rapport au témoin (rats normotendus) ; \$ p < 0,05 ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME) ; L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg ; g ou mL / 100 g de poids corporel : quantité consommée en g ou mL par semaine par 100 g de poids corporel ; sem 0 : semaine qui précède la 1^{ère} semaine de traitement ; sem1-sem4 : 1^{ère} à 4^{ème} semaine de traitement ; L-NAME : N^w-nitro-L-arginine methyl ester ; cœur ent : cœur entier ; vent gau : ventricule gauche ; vent drt : ventricule droit.

III.1.5.4. Effets sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque

Le traitement *per os* des rats mâles adultes pendant 28 jours avec le L-NAME (40 mg/kg) a induit une élévation significative ($P < 0,01$) de la pression artérielle moyenne comparée au témoin. La PAM est passée de 104,10 mm Hg chez les rats témoins à 169,97 mm Hg chez les rats qui ont reçu pendant cette période expérimentale le L-NAME, soit une augmentation de 57,07 %. L'administration simultanée du L-NAME avec le captopril (25 mg/kg) ou l'extrait de plante (200 ou 400 mg/kg) a empêché l'élévation de la PAM (Figure 27 A). L'administration du L-NAME seul a entraîné une augmentation non significative de la fréquence cardiaque de 6,41 %. L'extrait de plante tout comme le captopril n'a pas provoqué de variation significative de la FC des animaux traités avec le L-NAME (Figure 27 B).

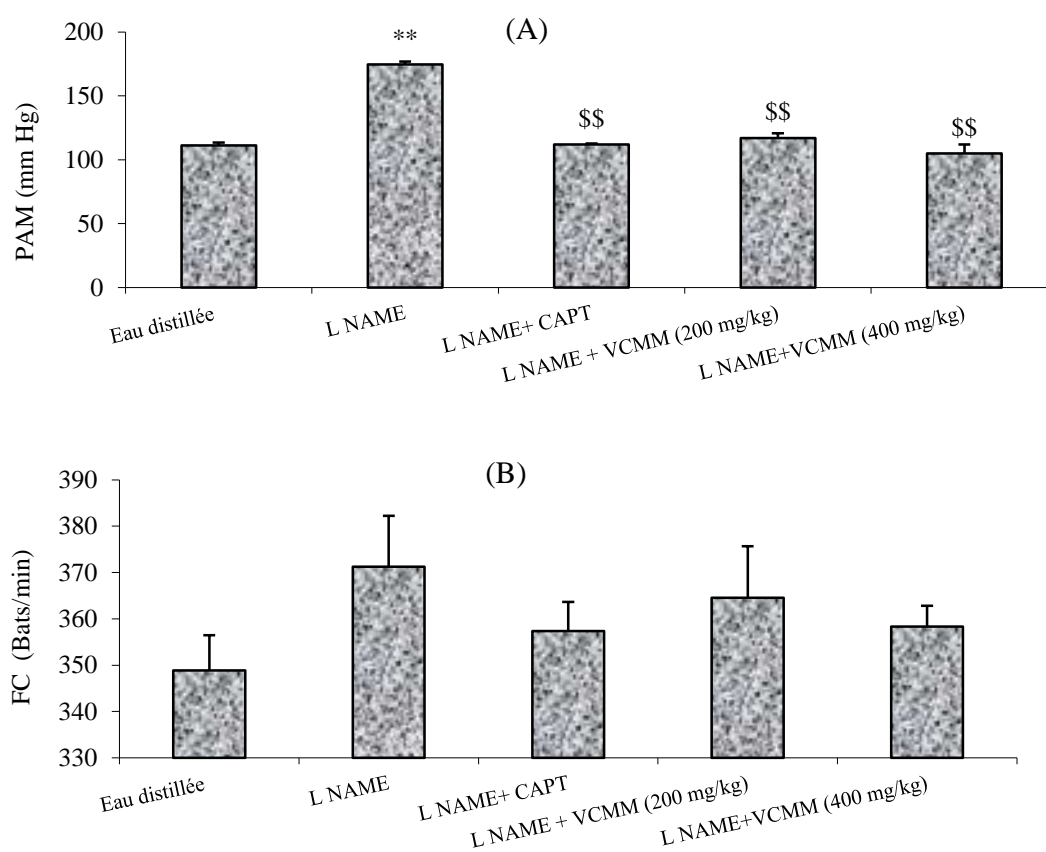


Figure 27 : Effets de l'extrait $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ de *Vitex cienkowskii* sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) en traitement préventif chez les rats soumis à l'action du L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n = 5$; ** $p < 0,01$ différence significative par rapport au groupe témoin (rats normotendus) ; \$\$ $p < 0,01$ différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME) ; L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg. PAM : Pression artérielle moyenne ; FC : Fréquence cardiaque ; bats/min : battements par minutes.

III.1.5.5. Effets sur quelques paramètres du stress oxydant tissulaires

III.1.5.5.1 Effets sur le taux d'oxyde nitrique

L'administration du L-NAME pendant 4 semaines a diminué significativement ($P < 0,01$) la concentration du NO dans l'aorte (44,01 %), le cœur (23,33 %), le foie (53,56 %) et les reins (29,07 %), comparativement au témoin. La concentration en NO chez les rats traités simultanément avec le L-NAME et le captopril ou l'extrait de plante, a augmenté de manière significative par rapport aux rats traités uniquement avec le L-NAME, dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins. Chez les rats traités au captopril, le taux de nitrite a augmenté de 73,28 ; 22,99 ; 130,55 ; 35,46 % dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins respectivement. L'augmentation du taux de nitrites induite par l'extrait de plante était dose-dépendante dans tous les organes étudiés. Les pourcentages d'augmentation dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins étaient respectivement de 45,82 ; 20,62 ; 66,15 et 27,22 % à la dose de 200 mg/kg, et de 60,76 ; 82,92 et 30,05 % à la dose de 400 mg/kg (Figure 28).

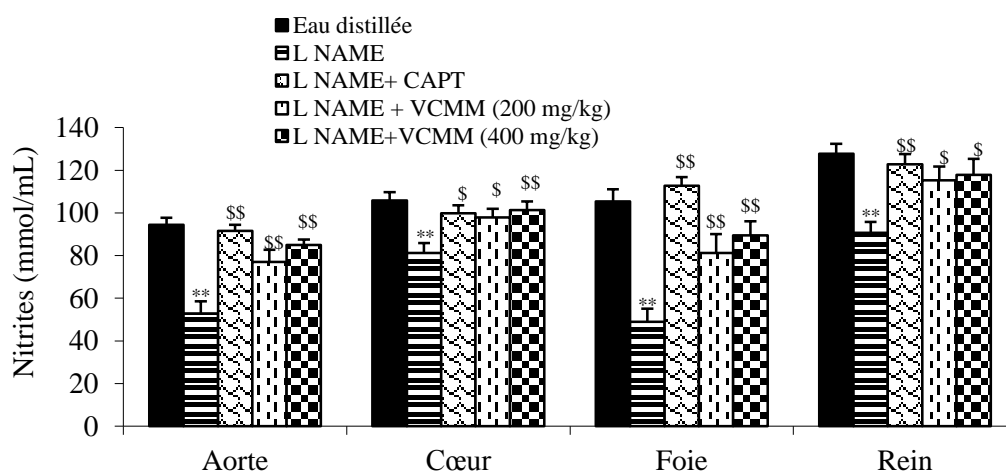


Figure 28: Effets de l'extrait au $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ de *Vitex cienkowskii* sur les taux de nitrites en traitement préventif chez les rats traités avec L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n=5$; ** $p < 0,01$ différence significative par rapport au témoin (rat normotendu) ; $^s p < 0,05$; \$\$ $p < 0,01$ différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME) ; L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.5.5.2. Effets sur le taux de malondialdéhyde

Le traitement des rats normotendus pendant 28 jours avec le L-NAME a induit une augmentation significative ($P < 0,01$) du taux de MDA dans l'aorte (232,33 %), le cœur (97,49 %), le foie (149,02 %) et les reins (36,45 %) par rapport au témoin neutre. Le traitement des animaux avec le captopril ou l'extrait de plante (200 et 400 mg/kg) a diminué

significativement le taux de MDA comparativement aux rats traités uniquement avec le L-NAME. Le captopril a réduit significativement le taux de MDA dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins respectivement, de 64,22 %; 30,20 %; 58,95 % et 32,68 %. Les taux de MDA ont été réduits significativement dans l'aorte (60,72 %), le cœur (27,10 %), le foie (26,37 %) et les reins (38,57 %) des rats traités au L-NAME et à l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg. Dans ces organes, l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg a entraîné une réduction du taux de MDA de 69,52 %; 33,80 %; 36,71 % et 37,73 % (Figure 29).

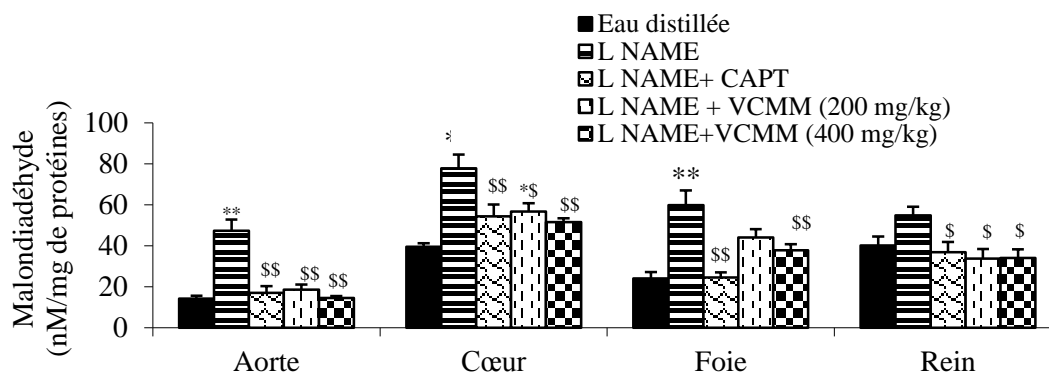


Figure 29 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur le taux de malondialdéhyde en traitement préventif chez les rats traités avec du L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ p < 0,05 ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME) ; L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.5.5.3. Effets sur le taux de glutathion réduit

La figure 30 présente les effets du traitement simultané des rats normotendus au L-NAME et à l'extrait de plante pendant 4 semaines sur le taux de glutathion réduit (GSH). Une baisse significative du taux de GSH a été enregistrée dans l'aorte (63,23 % ; P < 0,01), le cœur (45,37 % ; P < 0,05), le foie (54,93 % ; P < 0,01) et les reins (58,30 % ; P < 0,01) des rats traités uniquement avec le L-NAME par rapport aux rats témoins. L'administration du captopril ou de l'extrait de plante chez les rats qui recevaient concomitamment du L-NAME, a significativement prévenu la baisse de GSH tissulaire, comparativement aux rats traités uniquement avec le L-NAME. Comparativement au témoin hypertendu, les taux de GSH ont été significativement élevés dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins respectivement de 157,60 % ; 99,54 % ; 109,37 % et de 130,28 % après le traitement des rats avec le captopril. Comparés aux rats traités seulement avec le L-NAME, les taux de GSH des rats traités avec l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ont augmenté de manière dose dépendante dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins respectivement, de 145,62 % ; 77,53 % ; 111,77 % et de 117,48 %. Dans ces

organes, l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg a entraîné une réduction du taux de GSH de 279,62 %; 95,50 % ; 162,63 % et de 130,33 % par rapport aux rats traités seulement avec le L-NAME.

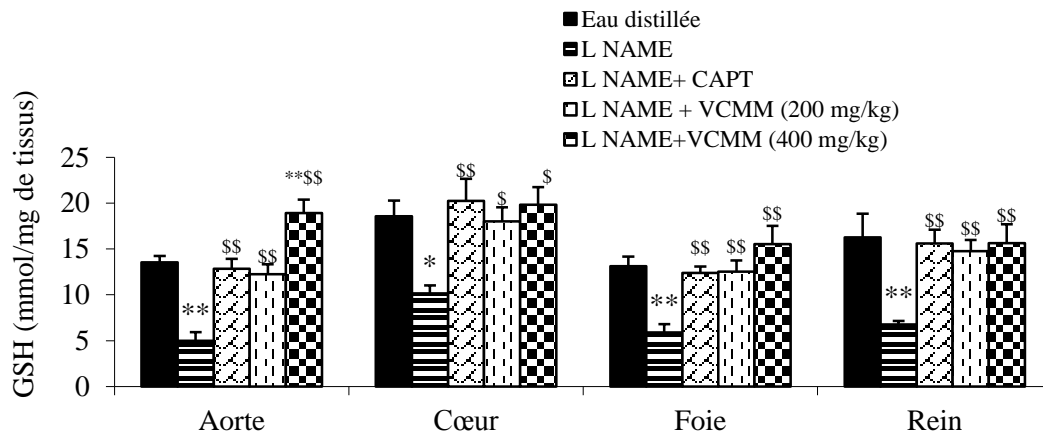


Figure 30 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur le taux de glutathion réduit en traitement préventif chez les rats traités avec du L-NAME .

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ p < 0,05 ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME) ; L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.5.5.4. Effets sur les enzymes antioxydantes

La figure 31 présente les effets du traitement concomitant des rats normotendus avec du L-NAME et l'extrait de plante ou le captopril sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase. L'administration subchronique de L-NAME chez les rats normotendus a entraîné une baisse de l'activité de la SOD dans l'aorte (66,44 % ; P < 0,01), le cœur (43,69 % ; P < 0,05) et les reins (52,47 % ; P < 0,05) comparativement au témoin. Le traitement des rats avec le captopril et l'extrait de plante (400 mg/kg) a entraîné une augmentation significative (P < 0,01) de l'activité de la SOD dans l'aorte de 148,19 % et de 130,43 % respectivement par rapport aux rats traités uniquement avec le L-NAME. Comparativement au témoin hypertendu, l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg a augmenté l'activité de la SOD rénale de 105,58 % (P < 0,05) (Figure 31 A). L'activité de la catalase quant à elle n'a pas été significativement modifiée dans les différents groupes à la fin du traitement (Figure 31 B).

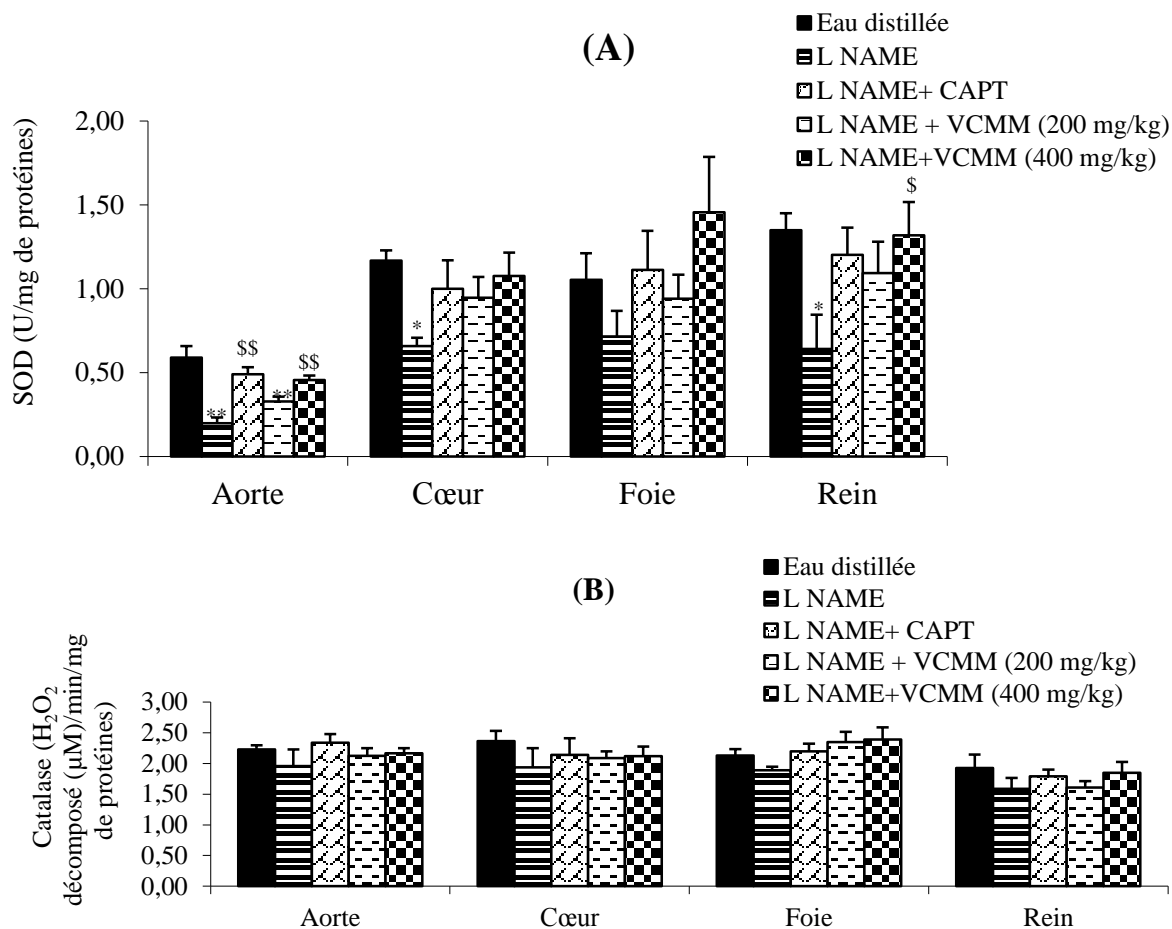


Figure 31 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur les taux de superoxyde dismutase (A) et de catalase (B) en traitement préventif chez les rats hypertendus par le L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 différence significative par rapport au témoin (rat normotendu); ^s p < 0,05 ; ^{ss} p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME); L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.5.6. Effets sur le profil lipidique

Les concentrations sériques de cholestérol total, de triglycérides et de cholestérol LDL ont augmenté significativement (P < 0,01) de 16,50 % ; 24,00 % et de 74,13 % respectivement, alors que la concentration de cholestérol HDL a été significativement (P < 0,01) réduite de 24,79 % chez les rats traités uniquement avec le L-NAME comparés au groupe témoin. Le traitement avec l'extrait de plante (200 et 400 mg/kg) ou le captopril, des rats recevant concomitamment le L-NAME, a significativement prévenu la hausse des taux de cholestérol total, de triglycérides, de cholestérol LDL, et la baisse des concentrations de cholestérol HDL observées chez les rats traités au L-NAME uniquement. Comparativement au témoin

hypertendu, les pourcentages de baisse de cholestérol total étaient de 14,67 %, 13,05 % et de 13,83 % chez les rats traités respectivement avec le captopril et l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg. Le taux de triglycérides a baissé de 17,10 %, 11,13 % et de 15,48 % chez les rats traités respectivement avec le captopril et l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg. La diminution du taux de cholestérol LDL était de 44,15 %, 39,96 % et de 40,62 % chez les rats traités respectivement avec le captopril et l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg. Le taux de cholestérol HDL a augmenté de 31,86 %, 26,04 % et de 27,98 % chez les rats traités respectivement avec le captopril et l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg comparativement au témoin négatif (Figure 32).

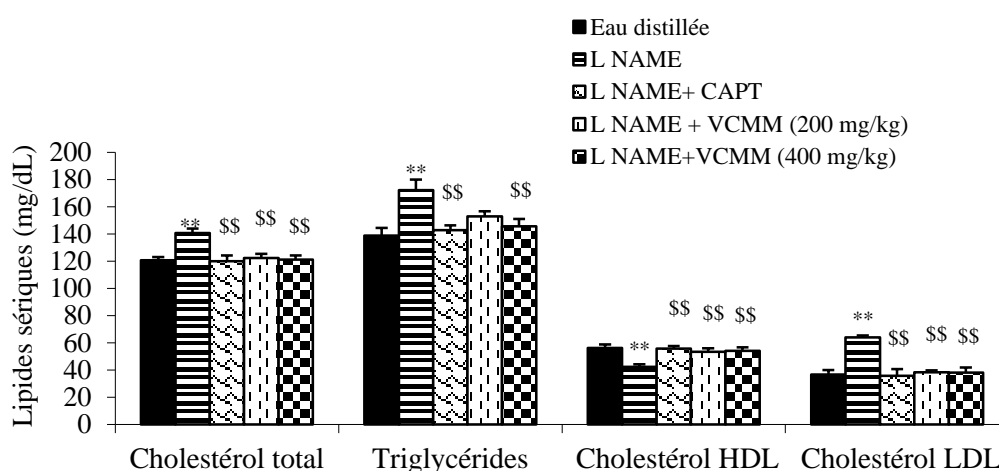


Figure 32 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur le taux de lipides sériques en traitement préventif chez les rats traités avec du L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; ** p < 0,01 différence significative par rapport au témoin (rat normotendu) ; ^{ss} p < 0,01 différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME) ; L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.5.7. Effets sur les marqueurs de la fonction hépatique et rénale

La figure 33 montre les effets de l'administration concomitante de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* et du L-NAME pendant 28 jours sur l'activité de l'ASAT, de l'ALAT, les taux de bilirubine totale et de créatinine chez les rats normaux.

Le taux de bilirubine totale n'a pas varié de manière significative entre les rats du groupe témoin et ceux traités uniquement avec le L-NAME. Il a été observé en comparaison au témoin, une réduction significative du taux de bilirubine sérique et hépatique chez les animaux traités avec l'extrait de plante aussi bien à la dose de 200 mg/kg que de 400 mg/kg. Ainsi, par rapport au témoin neutre, des pourcentages de baisse du taux de bilirubine sérique de 33,78 et 28,44 %,

et hépatique de 32,85 et 33,65 %, ont été enregistrés avec l'extrait de plante, aux doses respectives de 200 et 400 mg/kg (Figure 33 A)

L'administration de L-NAME pendant 28 jours, n'a pas entraîné de modifications significatives ($P > 0,05$) du taux d'ASAT et d'ALAT, au niveau sérique, cardiaque et hépatique, comparativement aux groupes témoins (Figures 33 B et C).

Les différents traitements n'ont pas significativement modifié le taux de créatinine (Figure 33 D).

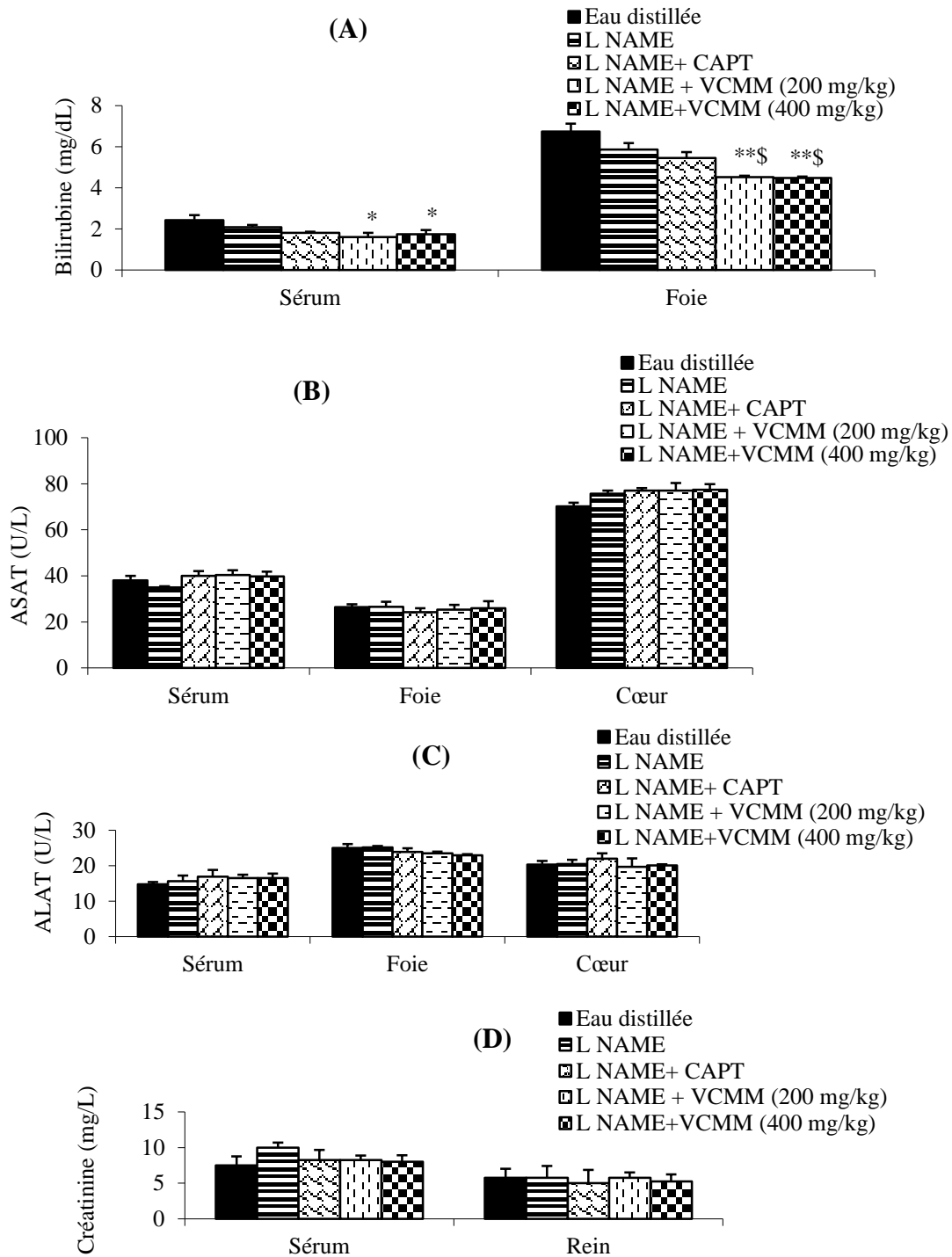


Figure 33 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur les taux de bilirubine (A), d'ASAT (B), d'ALAT (C) et de créatinine (D) en traitement préventif chez les rats traités avec du L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; ** p < 0,01 différence significative par rapport au témoin (rat normotendu) ; ^s p < 0,05 différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME); L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.6. Effets curatifs de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cincinnensis* chez les rats hypertendus par le L-NAME

III.1.6.1. Effets sur le poids corporel

La figure 34 montre l'effet de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cincinnensis* sur l'évolution du poids corporel durant 4 semaines de traitement, chez les rats rendus expérimentalement hypertendus avec du L-NAME (RHLN). Le poids corporel a baissé durant la période expérimentale et de manière significative ($P < 0,01$) chez les rats non traités (L-NAME) comparés au témoin. Chez les groupes qui ont reçu l'extrait de plante ou le captopril, le gain de poids corporel était significativement inférieur comparé au groupe témoin. Comparativement au témoin hypertendu (RHLN), le captopril et l'extrait de plante ont amélioré significativement ($P < 0,01$) le gain de poids corporel. Les pourcentages d'augmentation du poids corporel par rapport au RHLN à la fin de la 4^{ème} semaine de traitement étaient respectivement de 13,12 %, 12,84 % et de 13,84 % pour les groupes traités au captopril et l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg.

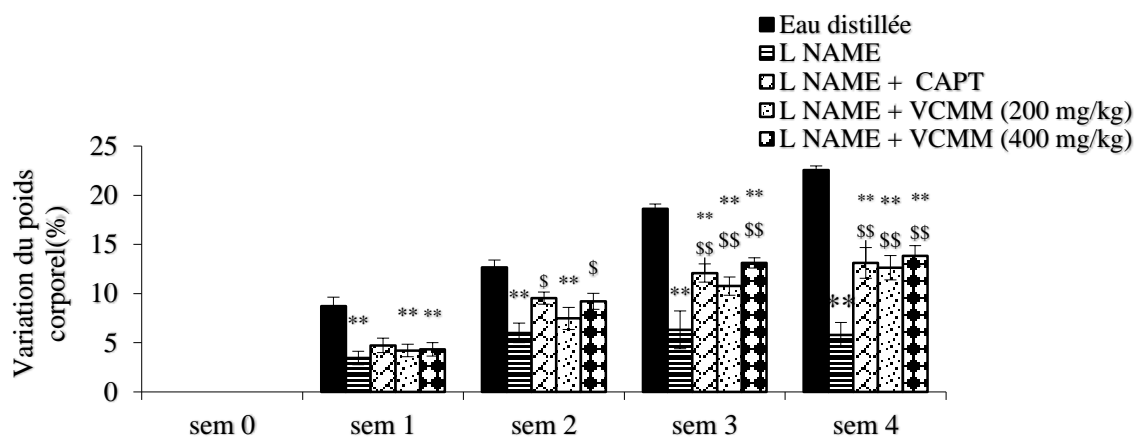


Figure 34 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cincinnensis* sur le poids corporel en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; ** $p < 0,01$ différence significative par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ $p < 0,05$; \$\$ $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME) ; L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg ; sem 0 : semaine qui précède la 1^{ère} semaine de traitement ; sem1-sem4 : 1^{ère} à 4^{ème} semaine de traitement ; L-NAME : N^w-nitro-L-arginine methyl ester.

III.1.6.2. Effets sur le poids relatifs des organes

La figure 35 montre les effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur le poids relatif de quelques organes des rats rendus expérimentalement hypertendus par le L-NAME. Il ressort de cette figure que les poids relatifs du cœur entier, du ventricule gauche et du foie ont significativement ($P < 0,05$) augmenté respectivement de 15,06 %, 19,87 % et de 30,51 % chez les rats hypertendus non traités comparés au témoin. Le captopril et l'extrait de plante à la dose de 200 et 400 mg/kg ont réduit de manière non significative ($P > 0,05$) le poids relatif du foie et du cœur entier comparativement au témoin hypertendu. L'hypertrophie ventriculaire observée chez les rats non traités a été corrigée par le traitement avec le captopril ou l'extrait de plante après 4 semaines de traitement. Les pourcentages de baisse du poids relatif du ventricule gauche des rats traités avec le captopril et l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg étaient respectivement de 14,15 %, 11,97 % et de 11,96 % comparativement aux rats hypertendus non traités.

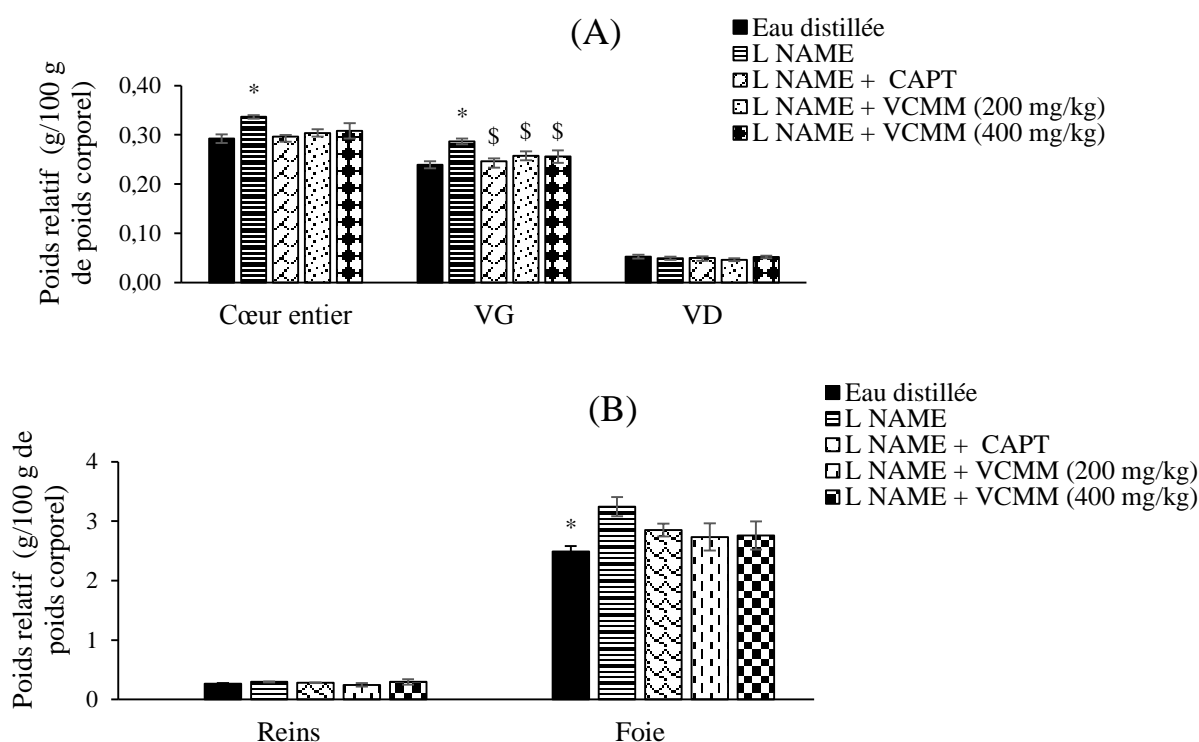


Figure 35 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur le poids relatifs du cœur entier, des ventricules droits et gauches (A), des reins et du foie (B) en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * $p < 0,05$ différence significative par rapport au témoin (rat normotendu); ^s $p < 0,05$ différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME); L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg. Cœur ent : cœur entier ; VG : ventricule gauche ; VD : ventricule droit.

III.1.6.3. Effets sur les consommations alimentaire et hydrique

L'évolution des consommations alimentaire et hydrique au cours de l'administration de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii*, chez les rats rendus hypertendus par le L-NAME pendant 4 semaines est résumée sur la figure 36. Il ressort de cette figure que la consommation alimentaire a baissé significativement dans tous les groupes tests pendant l'expérimentation, comparés au témoin. Cette baisse à la fin de la 4^{ème} semaine était de 69,81 %, 50,97 %, 53,97 % et de 45,44 % respectivement, chez les rats hypertendus non traités, les rats traités au captopril et à l'extrait de plante à la dose de 200 et 400 mg/kg. Le captopril et l'extrait de plante ont amélioré de manière non significative ($P > 0,05$) la consommation alimentaire par rapport aux rats hypertendus (Figure 36 A).

La prise hydrique quant à elle a été significativement ($P < 0,01$) élevée durant les 4 semaines de traitement chez les rats hypertendus non traités comparés au témoin. Aucune différence significative avec le témoin n'a été observée entre les groupes traités au captopril et à l'extrait de plante durant le traitement. Le captopril et l'extrait de plante à la dose de 200 et 400 mg/kg ont réduit significativement ($P < 0,01$) la prise hydrique des rats hypertendus à partir de la 1^{ème} semaine de traitement par rapport au RHLN. La consommation hydrique des rats hypertendus qui était de 132,00 mL/100 g de PC à la 2^{ème} semaine est passée à 83,63 %, 95,44 % et de 86,44 mL/100 g de PC, respectivement chez les rats traités avec le captopril ou l'extrait de plante à la dose de 200 et 400 mg/kg (Figure 36 B).

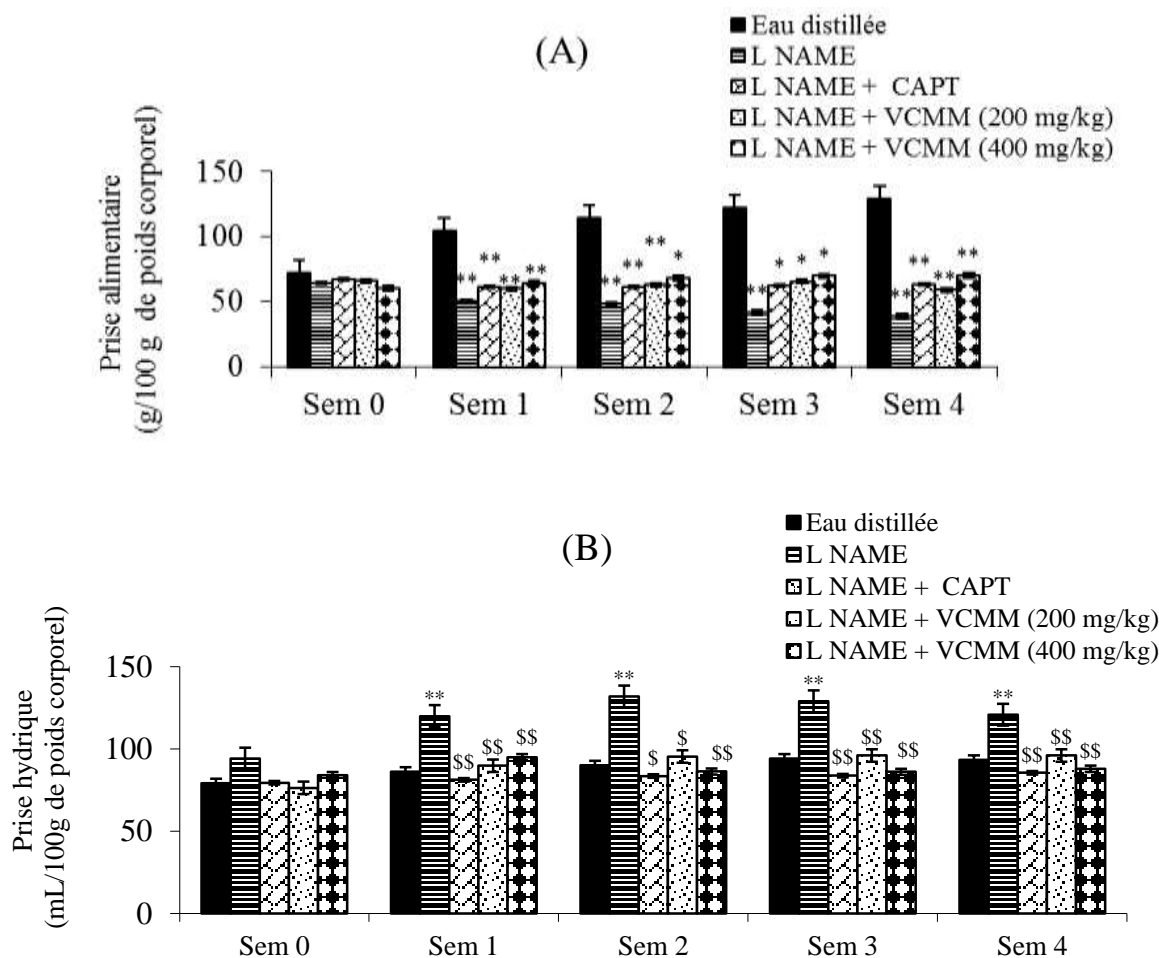


Figure 36 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cincinnensis* sur les prises alimentaires et hydrique en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n=5$; ** $p < 0,01$ différence significative par rapport au témoin (rat normo tendu) ; $^{ss} p < 0,01$ différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME) ; L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg ; g ou mL / 100 g de poids corporel : quantité consommée en g ou mL par semaine par 100 g de poids corporel ; sem 0 : semaine qui précède la 1^{ère} semaine de traitement ; sem1-sem4 : 1^{ère} à 4^{ème} semaine de traitement ; L-NAME : N^w-nitro-L-arginine methyl ester.

III.1.6.4. Effets sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque

La figure 37 montre les effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cincinnensis*, après 4 semaines de traitement, sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque des rats rendus hypertendus par le L-NAME (RHLN). Il a été noté en fin de traitement, soit au 57^{ème} jour, une augmentation significative de la PAM ($P < 0,01$) et non significative de la FC ($P > 0,05$) des RHLN comparés au témoin. La PAM est passée de 105,34 mm Hg chez le témoin à 169,97 mm Hg chez le témoin hypertendu, soit une augmentation de 61,20 %. Le captopril utilisé comme substance de référence a réduit significativement ($P < 0,01$) la PAM des rats hypertendus de

41,23 %. L'extrait de plante à la dose de 200 et 400 mg/kg a respectivement réduit la PAM de 38,04 % ($P < 0,01$) et de 35,92 % ($P < 0,01$), par rapport aux rats hypertendus. Le captopril tout comme l'extrait de plante n'a pas induit une variation significative de la FC.

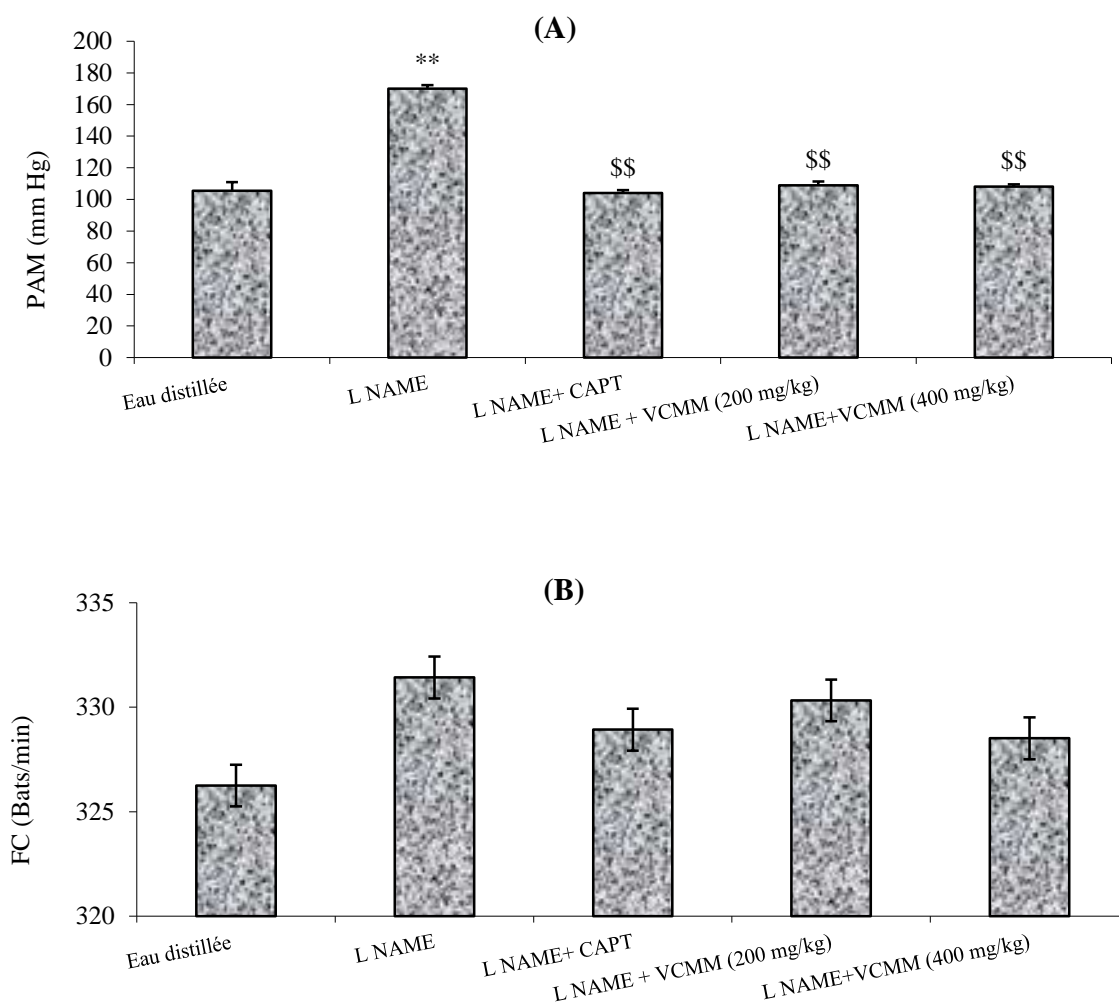


Figure 37: Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n=5$; ** $p < 0,01$ différence significative par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$\$ $p < 0,01$ différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME) ; L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg. PAM : pression artérielle moyenne ; FC : fréquence cardiaque ; Bats/min : battements par minutes.

III.1.6.5. Effets sur quelques paramètres du stress oxydant

III.1.6.5.1 Effets sur le taux d'oxyde nitrique

L'administration du L-NAME chez les rats pendant 8 semaines a diminué significativement ($P < 0,01$) la concentration des nitrites dans l'aorte (50,10 %), le cœur (48,31 %), le foie (38,81 %) et les reins (27,89 %) par rapport au groupe témoin. L'administration du captopril a entraîné une augmentation significative du taux de nitrites de 108,54 %, 89,32 %, 45,65 % et de 35,77 % respectivement dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins comparé au témoin hypertendu. Le traitement des rats avec l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg a significativement augmenté de manière dose dépendante le taux de nitrites par rapport aux rats hypertendus. Les pourcentages d'augmentation au niveau aortique, cardiaque, hépatique et rénal étaient respectivement de 77,95 %, 53,88 %, 39,20 % et de 21,45 % avec l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg et de 95,45 %, 69,53 %, 41,55 % et de 25,79 % avec l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg (Figure 38).

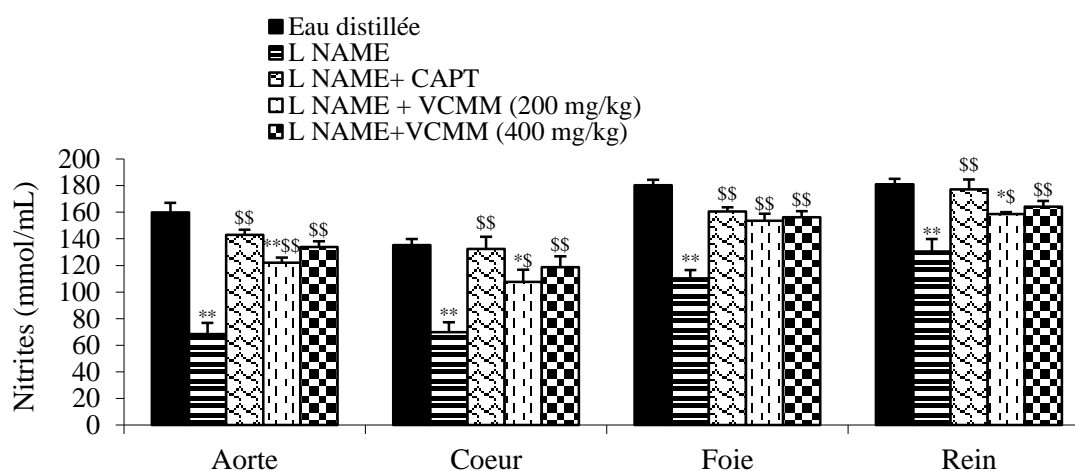


Figure 38 : Effets de l'extrait au $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ de *Vitex cienkowskii* sur les taux de nitrites en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n=5$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ $p < 0,05$; \$\$ $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME) ; L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.6.5.2. Effets sur le taux de malondialdéhyde

Le taux de malondialdéhyde (MDA) a significativement augmenté de 118,88 % dans l'aorte, de 50,80 % dans le cœur, de 45,98 % dans le foie et de 76,27 % dans les reins des rats traités pendant 8 semaines avec du L-NAME par rapport au groupe témoin.

Le traitement des animaux avec le captopril ou l'extrait de plante aux doses de 200 et de 400 mg/kg a réduit de manière significative par rapport au groupe traité uniquement avec le L-

NAME, les concentrations de malondialdéhyde dans l'aorte respectivement de 48,14 %, 62,49 % et de 75,02 %, et dans le cœur de 32,87 %, 23,90 % et de 25,95 %. Dans le foie et les reins, une baisse non significative du taux de malondialdéhyde des rats traités avec le captopril ou l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg comparés au témoin hypertendu a été observée (Figure 39).

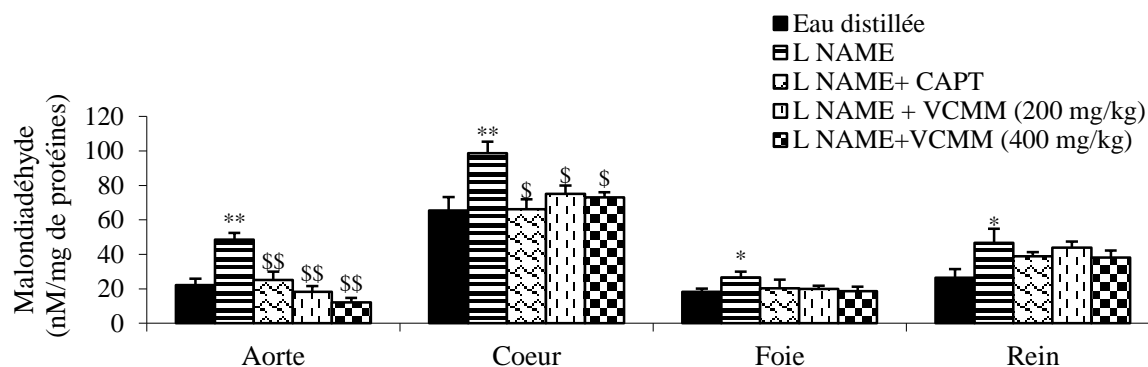


Figure 39 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur les taux de Malondialdéhyde en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ p < 0,05 ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.6.5.3. Effets sur le taux de glutathion réduit

L'administration orale de L-NAME chez les rats pendant 56 jours a diminué significativement ($P < 0,01$) par rapport au témoin, le taux de glutathion réduit dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins respectivement de 21,15 %, 20,09 %, 18,59 % et de 14,91 %. Comparativement au témoin hypertendu, le captopril tout comme l'extrait de plante a augmenté significativement ($P < 0,01$) la concentration de glutathion réduit dans ces organes. Les pourcentages d'augmentation dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins étaient respectivement de 29,36 %, 23,12 %, 13,24 % et de 12,07 % chez les rats traités au captopril, de 29,51 %, 27,84 %, 18,31 % et de 13,63 % chez les rats traités avec l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg et de 28,25 %, 27,02 %, 19,56 % et de 14,28 % chez les rats traités avec l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg (Figure 40).

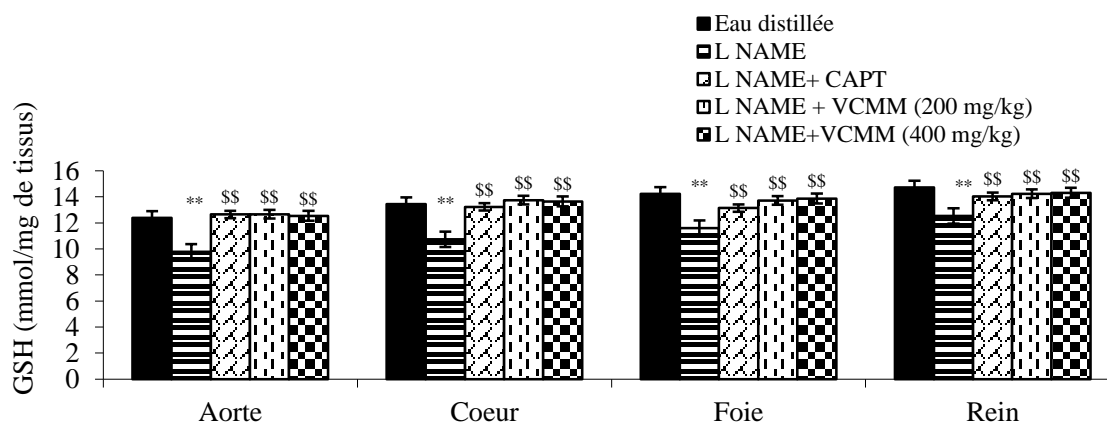


Figure 40 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur les taux de glutathion réduit en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME .

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; ** p < 0,01 différence significative par rapport au témoin (rat normotendu); \$\$ p < 0,01 différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME); L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.6.5.4. Effets sur l'activité des enzymes antioxydantes

La figure 41 montre les effets curatifs de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur de l'activité des enzymes antioxydantes des rats hypertendus par le L-NAME. Il ressort de cette figure que l'activité de la SOD a été réduite de façon significative ($P < 0,05$) dans l'aorte de 64,79 %, le cœur de 46,05 %, le foie de 50,00 % et les reins 53,85 % chez les rats qui ont reçu un traitement chronique de L-NAME par rapport au témoin. Comparativement au témoin hypertendu, l'extrait de plante a significativement ($P < 0,05$) augmenté l'activité de la SOD aortique (168,00 %), cardiaque (60,98 %), hépatique (74,42 %) et rénale (55,56 %) à la dose de 200 mg/kg. A la dose de 400 mg/kg, cette augmentation était respectivement de 88,00 %, 53,66 %, 69,77 % et de 100,00 %. Le captopril a corrigé significativement la baisse de l'activité de la SOD aortique observée chez les rats hypertendus (Figure 41 A).

Une baisse significative de l'activité de la catalase a été enregistrée dans l'aorte (59,18 % ; $P < 0,05$), le cœur (59,40 % ; $P < 0,05$), le foie (71,59 % , $P < 0,05$) et les reins (26,97 % ; $P < 0,05$) des rats traités pendant 8 semaines avec le L-NAME par rapport aux rats témoins. L'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg a augmenté par rapport au témoin hypertendu l'activité de la catalase dans l'aorte et le cœur, respectivement de 86,75 % et de 87,97 % à la dose de 200 mg/kg et de 104,60 % et de 113,44 % à la dose de 400 mg/kg. Comparativement au témoin hypertendu, le traitement des rats avec le captopril a augmenté significativement

l'activité de la catalase cardiaque (92,02 % ; $P < 0,05$) et hépatique (147,09 % ; $P < 0,01$) (Figure 41 B).

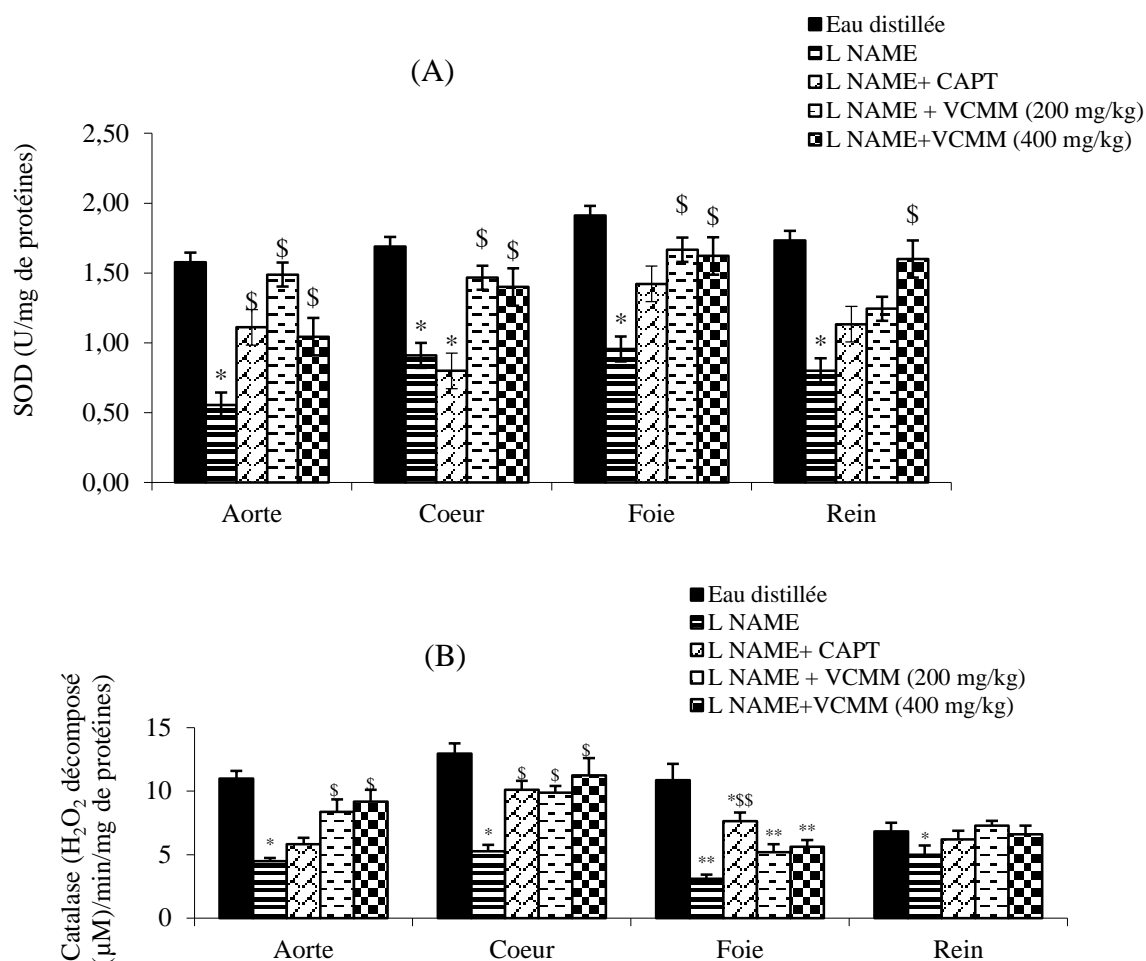


Figure 41 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur l'activité de la superoxyde dismutase (A) et de la catalase (B) en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n=5$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; § $p < 0,05$ différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME) ; L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.6.6. Effets sur le profil lipidique

Une augmentation significative des concentrations sériques de cholestérol total (42,49 % ; $P < 0,01$), cholestérol LDL (23,12 % ; $P < 0,05$) et de triglycérides (49,91 % ; $P < 0,05$) a été enregistrée après l'administration orale du L-NAME pendant 8 semaines par rapport aux rats témoins. Le taux de cholestérol HDL a diminué pendant cette période expérimentale (156,06 % ; $P < 0,01$). *V. cienkowskii* à la dose de 400 mg/kg, a significativement ($P < 0,01$) corrigé l'élévation de cholestérol total (42,83 %), de triglycérides (52,40 %) et de cholestérol LDL

(73,93 %), et a augmenté le taux de cholestérol HDL (86,15 %) comparativement au témoin hypertendu non traité. L'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg a significativement ($P < 0,01$) réduit le taux de triglycérides de 43,23 %, de cholestérol LDL de 48,42 % et a augmenté le cholestérol HDL de 106,15 % par rapport aux rats hypertendus. Le captopril a entraîné une baisse de triglycérides (39,08 % ; $P < 0,01$) et une augmentation de cholestérol HDL (80,00 % ; $P < 0,01$) comparativement au témoin hypertendu (Figure 42).

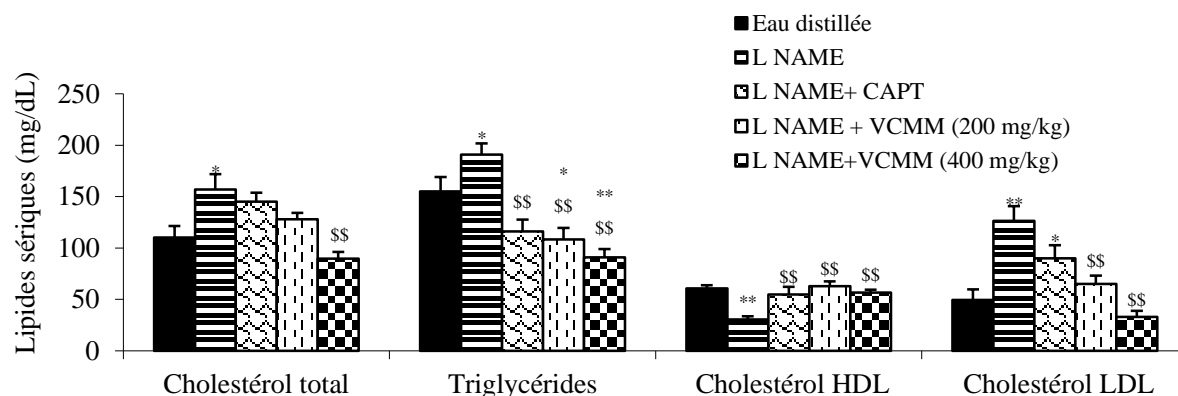


Figure 42 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cincinnensis* sur les lipides sériques en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n=5$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; $^b p < 0,01$ différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME) ; L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.6.7. Effets sur les marqueurs de la fonction hépatique et rénale

La figure 43 illustre les effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cincinnensis* sur le taux de quelques marqueurs hépatiques et rénaux des rats préalablement rendus hypertendus par le L-NAME.

Les taux de bilirubine totale hépatique et sérique ont augmenté de façon non significative ($P > 0,05$) chez les rats rendus expérimentalement hypertendus par rapport au témoin, de 22,11 % et de 10,39 % respectivement. L'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg a réduit significativement ($P < 0,05$) le taux de bilirubine sérique et hépatique de 29,15 % et de 11,85 % respectivement, comparativement au témoin hypertendu (Figure 43 A).

Le traitement subchronique des rats avec le L-NAME a induit une augmentation significative ($P < 0,01$) du taux d'ASAT et d'ALAT sérique et hépatique comparé au témoin. Cette augmentation était respectivement de 86,58 % et de 35,23 % pour l'ASAT sérique et

hépatique, et de 64,94 % et de 40,53 % pour l'ALAT. Le captopril tout comme l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg a réduit respectivement et de manière significative ($P < 0,01$) les taux sériques d'ASAT de 36,77 ; 48,09 et de 39,05 %, et d'ALAT de 32,43 ; 30,79 et de 31,06 % par rapport au témoin hypertendu. Le captopril et l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg ont baissé le taux d'ALAT hépatique des rats hypertendus de 19,18 ; 21,21 et de 21,33 % respectivement. Au niveau hépatique, seul l'extrait de plante à la dose de 400 mg a réduit significativement ($P < 0,05$) le taux d'ASAT de 39,05 % comparativement au témoin hypertendu (Figures 43 B et C).

Le taux de créatinine a augmenté de manière significative de 81,13 % dans le sérum et de 91,46 % dans les reins des rats rendus expérimentalement hypertendus avec le L-NAME par rapport au témoin. Le traitement des rats avec le captopril ou l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg, a réduit significativement ($P < 0,05$) le taux de créatinine de 24,48 % et de 28,13 % dans le sérum, et de 44,59 % et de 51,59 % dans les reins, comparativement au témoin hypertendu. L'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg a entraîné une baisse significative (45,22 % ; $P < 0,05$) de la créatinine sérique et une baisse non significative (17,71 % ; $P > 0,05$) de la créatinine rénale comparée au témoin hypertendu (Figure 43 D).

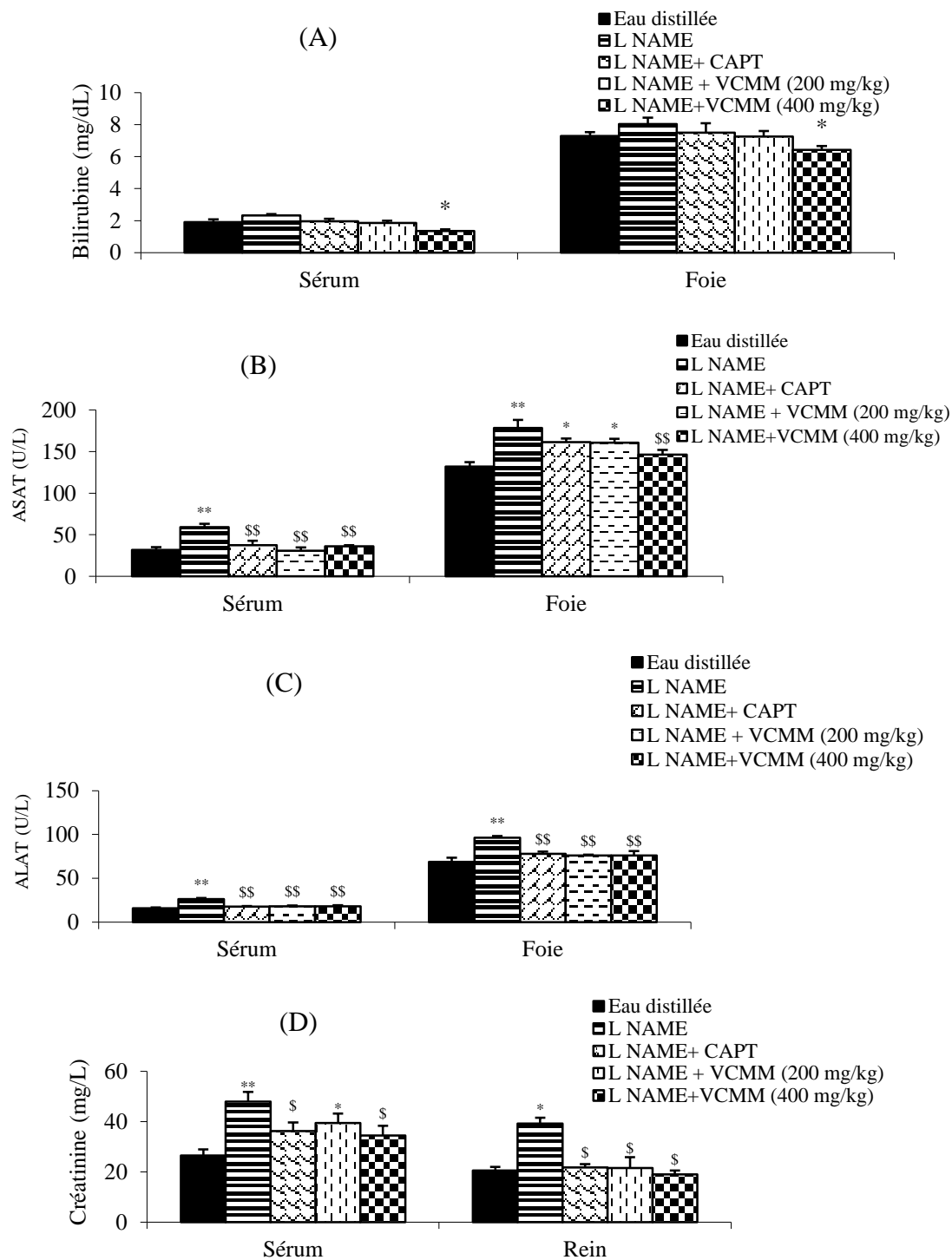


Figure 43 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur les taux de bilirubine (A), d'ASAT (B), d'ALAT (C) et de créatinine (D) en traitement curatif chez les rats hypertendus par le L-NAME.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ p < 0,05 ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec le L-NAME); L-NAME + captopril : rat traité avec le L-NAME et le captopril à la dose de 25 mg/kg ; L-NAME + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; L-NAME + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec le L-NAME et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.7. Effets préventifs de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cenkowskii* contre l'hypertension artérielle induite par la désoxycorticostérone acétate et le sel

III.1.7.1. Effets sur l'évolution du poids corporel

La figure 44 montre les effets de l'administration concomitante de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cenkowskii* avec la désoxycorticostérone acétate et le sel (DOCA-sel) pendant 6 semaines sur la masse corporelle des rats normaux. Il a été observé une augmentation non significative du poids corporel des animaux pendant les 6 semaines de l'expérimentation dans tous les groupes. Les animaux soumis uniquement à la DOCA-sel ont présenté cependant une croissance pondérale plus faible que celle des autres groupes.

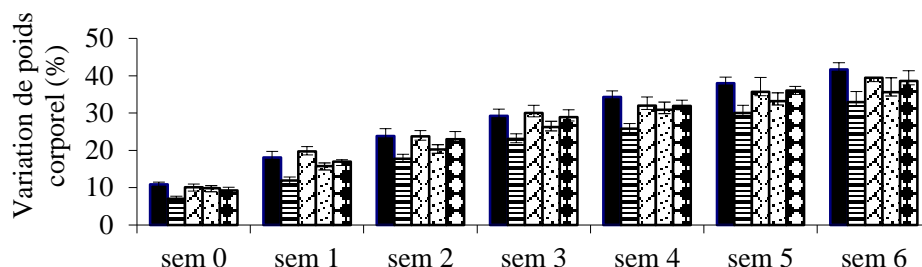


Figure 44 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cenkowskii* sur le poids corporel en traitement préventif contre l'hypertension induite par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg. sem 0 : semaine qui précède la 1^{ère} semaine de traitement ; sem1-sem 6 : 1^{ère} à 6^{ème} semaine de traitement.

III.1.7.2. Effets sur le poids relatifs des organes

La figure 45 montre les effets du traitement simultané à l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cenkowskii* et à la DOCA-sel pendant 6 semaines sur le poids relatifs du cœur entier, des ventricules gauche et droit, du foie et des reins. Il ressort de cette figure que les poids relatifs du cœur entier, du ventricule gauche et des reins ($P < 0,05$) ont augmenté respectivement de 37,36 % ($P < 0,01$); 43,43 % ($P < 0,01$) et de 17,94 % ($P < 0,05$) chez les rats traités uniquement avec la DOCA-sel comparés au témoin. L'aldactone tout comme l'extrait de plante (200 et 400 mg/kg) a empêché l'augmentation significative du poids relatif des reins, du cœur entier et du ventricule gauche. Le poids relatif du cœur entier, du ventricule gauche et des reins a diminué respectivement de 28,94 %, 34,44 % et de 19,99 % chez les rats traités à l'aldactone, de 22,76 %, 25,59 % et de 15,64 % chez les rats traités avec l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg et de 21,14 %, 24,85 % et de 15,47 % chez les rats traités avec l'extrait de plante à la dose de 400

mg/kg par rapport au témoin DOCA-sel non traité. Les différents traitements n'ont pas modifié de manière significative le poids relatif du foie et du ventricule droit par rapport aux témoins.

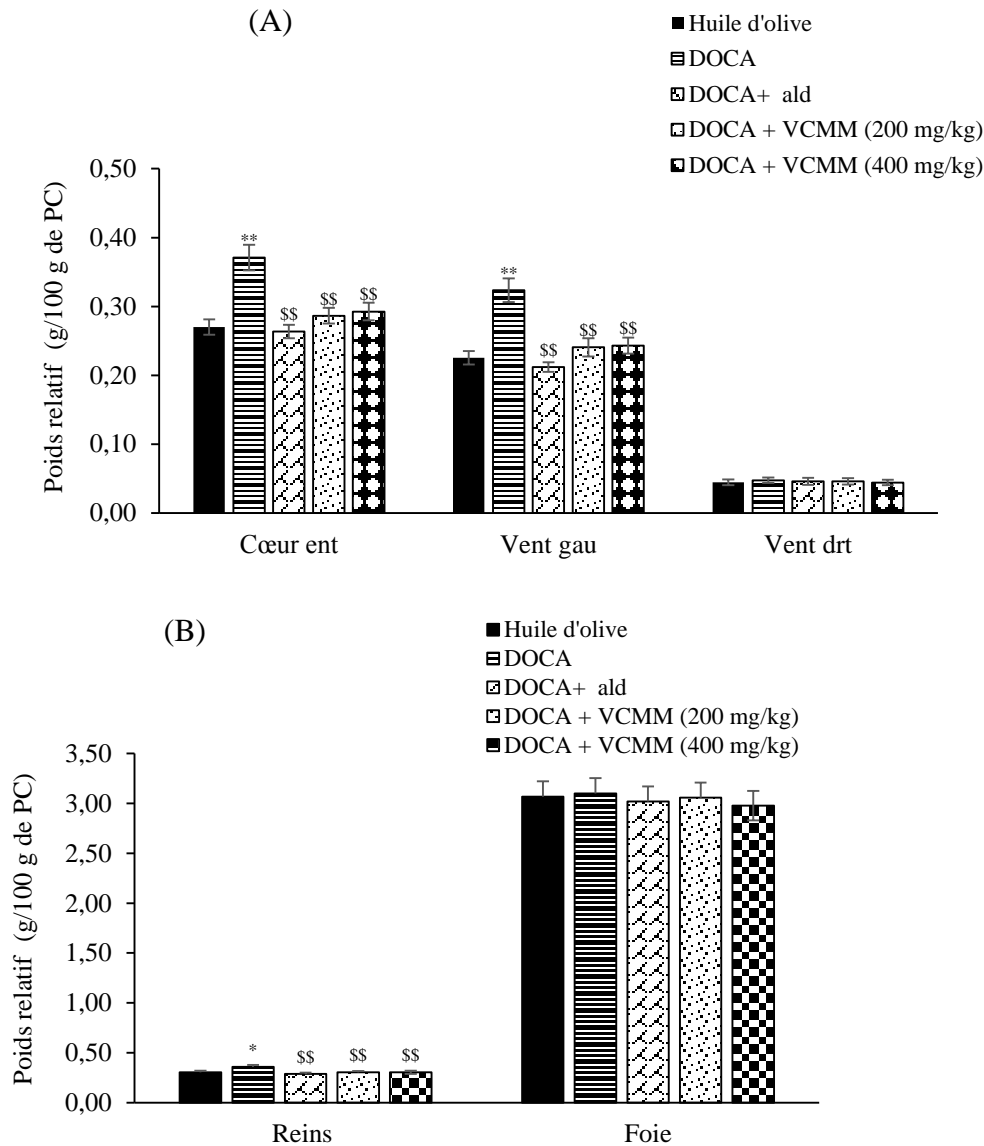


Figure 45 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur le poids relatifs du cœur entier, des ventricules droits et gauches (A), des reins et du foie (B) en traitement préventif contre l'hypertension artérielle induite par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; $^{\$}$ p < 0,05 ; $^{\$\$}$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel); DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.7.3. Effets sur les consommations alimentaire et hydrique

L'administration simultanée de l'extrait CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* avec la DOCA-sel pendant 6 semaines n'a pas modifié la consommation alimentaire des rats Wistar durant les 6 semaines de traitement (Figure 46 A). La consommation hydrique quant à elle, a augmenté significativement ($P < 0,01$) à partir de la fin de la 1^{ère} semaine chez les rats qui ont été traités uniquement au DOCA-sel par rapport au témoin. Les pourcentages d'augmentation de la consommation d'eau de la 1^{ère} semaine et de la 6^{ème} semaine étaient respectivement de 57,95 % et de 75,28 %. Les traitements avec l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg ou l'aldactone ont réduit de manière significative l'élévation de la prise hydrique observée chez le témoin DOCA-sel. Au terme de la période expérimentale, la consommation hydrique des rats qui ont reçu un traitement concomitant DOCA-sel et extrait de plante, a diminué de 38,79 % à la dose de 200 mg/kg et de 44,23 % à la dose de 400 mg/kg par rapport au témoin hypertendu. L'aldactone a induit une baisse de la prise d'eau de 46,61 % (Figure 46 B).

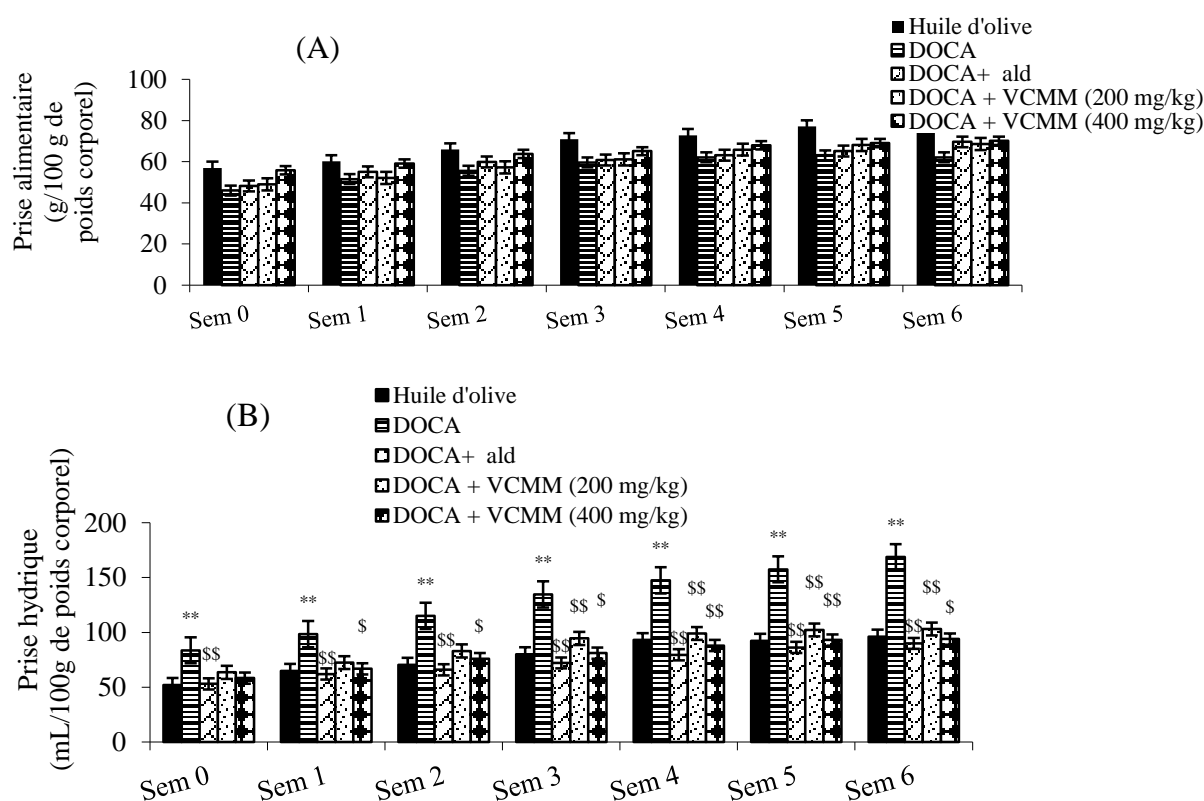


Figure 46 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur les prises alimentaire (A) et hydrique (B) en traitement préventif contre l'hypertension induite la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; ** $p < 0,01$ différence significative par rapport au témoin (rat normotendu) ; $^{\$}$ $p < 0,05$; ss $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel) ; DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg ; g ou mL / 100g de poids corporel : quantité consommée en g ou mL par semaine par 100 g de poids corporel ; sem 0 : semaine qui précède la 1^{ère} semaine de traitement ; sem1-sem 6 : 1^{ère} à 6^{ème} semaine de traitement.

III.1.7.4. Effets sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque

Le traitement des animaux normotendus avec la DOCA-sel pendant 6 semaines, a induit une augmentation significative ($P < 0,01$) de la pression artérielle moyenne et de la fréquence cardiaque de 62,27 % et de 33,40 % respectivement par rapport au témoin. L'administration simultanée de la DOCA-sel avec l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* (200 et 400 mg/kg) ou l'aldactone (25 mg/kg) a prévenu de manière significative ($P < 0,01$) l'élévation de la pression artérielle moyenne observée chez les rats témoins qui ont reçu uniquement la DOCA-sel (Figure 47 A). La pression artérielle moyenne est restée proche de celle des rats témoins, chez les rats recevant simultanément la DOCA-sel avec l'aldactone ou l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg. Les PAM enregistrées à la fin du traitement étaient respectivement de $101,02 \pm 5,38$; $115,64 \pm 7,70$; $102,13 \pm 5,63$ mm de Hg contre $164,96 \pm 1,79$ mm de Hg chez les rats traités seulement avec la DOCA-sel, soit une baisse respectivement de 38,79 %, 29,90 % et de 38,09 % chez les rats traités avec l'aldactone ou l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg. La fréquence cardiaque n'a pas été significativement ($P > 0,05$) modifiée dans les groupes tests comparés aux témoins (Figure 47 B).

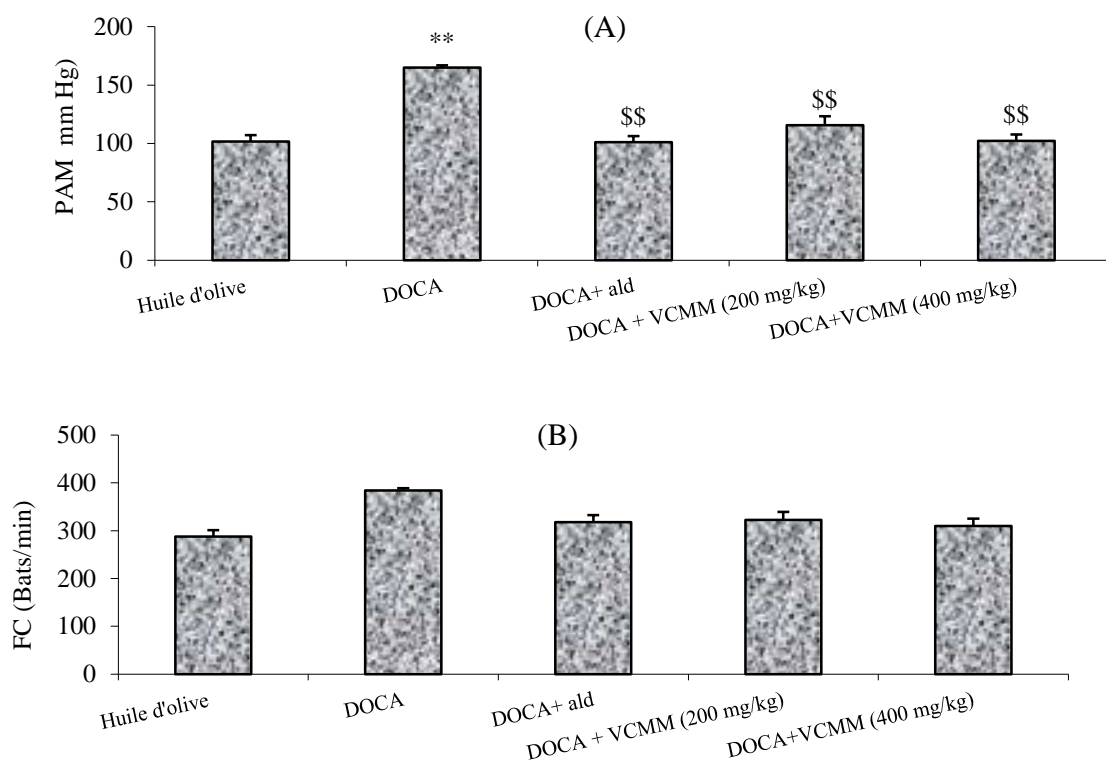


Figure 47 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) en traitement préventif contre l'hypertension induite par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; ** p < 0,01 différence significative par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$\$ p < 0,01 différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel) ; DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg. PAM : pression artérielle moyenne ; FC : fréquence cardiaque ; Bats/min : battements par minutes.

III.1.7.5. Effets sur quelques paramètres du stress oxydant

III.1.7.5.1. Effets sur le taux d'oxyde nitrique

Une baisse significative ($P < 0,01$) du taux d'oxyde nitrique de 35,95 % comparée au témoin, a été enregistrée dans l'aorte des rats traités uniquement avec la DOCA et le sel pendant 6 semaines. Le traitement des rats avec l'aldactone n'a pas modifié de manière significative ($P > 0,05$) la concentration aortique en nitrites par rapport au témoin hypertendu. *V. cienkowskii* aux doses de 200 et 400 mg/kg a entraîné respectivement une augmentation significative du taux de nitrites de 71,58 % et de 86,49 % dans l'aorte, de 34,31 % et de 48,83 % dans le cœur, et de 22,16 % et de 18,68 % dans les reins, par rapport au témoin hypertendu (Figure 48). Les différents traitements n'ont pas modifié la concentration en oxyde nitrique dans le foie par rapport aux témoins.

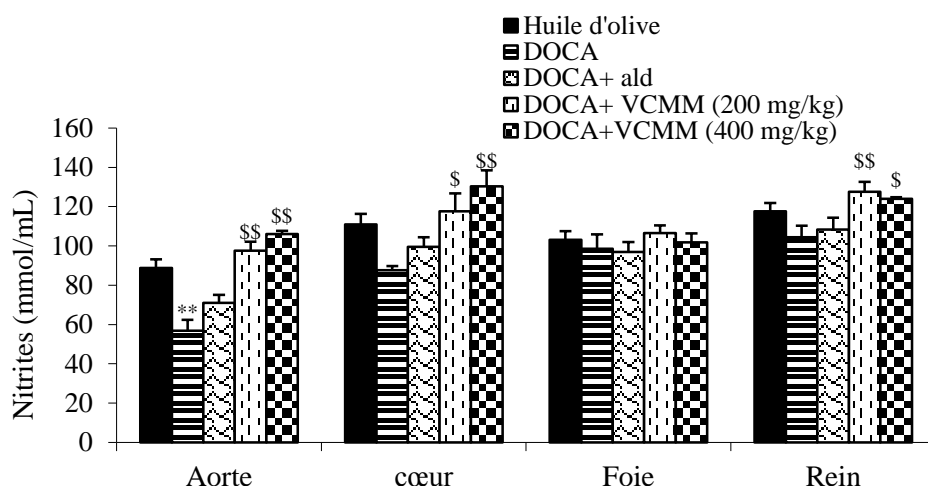


Figure 48: Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur le taux de nitrites en traitement préventif contre l'hypertension artérielle induite par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; ** p < 0,01 différence significative par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ p < 0,05 ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel) ; DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.7.5.2. Effets sur le taux de malondialdéhyde

La figure 49 montre que l'injection sous cutanée de DOCA deux fois par semaine pendant 6 semaines chez des rats normaux recevant *ad libitum*, de l'eau de boisson contenant du NaCl 1 %, a augmentée significativement par rapport au témoin, le taux de malondialdéhyde dans l'aorte de 68,54 %, le cœur de 66,14 %, le foie de 56,74 % et les reins de 56,74 %. Le traitement avec *V. cienkowskii* à la dose de 400 mg/kg, a entraîné une baisse significative, comparée au témoin DOCA-sel non traité, du taux de malondialdéhyde dans l'aorte de 37,87 %, le cœur de 35,19 %, le foie de 31,31 % et les reins de 26,32 %. *V. cienkowskii* à la dose de 200 mg/kg a réduit significativement ($P < 0,05$) la concentration en malondialdéhyde dans le cœur de 29,02 % et dans le foie de 27,31 % par rapport au témoin hypertendu. L'aldactone a réduit dans tous les organes, et de manière non significative ($P > 0,05$), le taux de malondialdéhyde par rapport au témoin hypertendu.

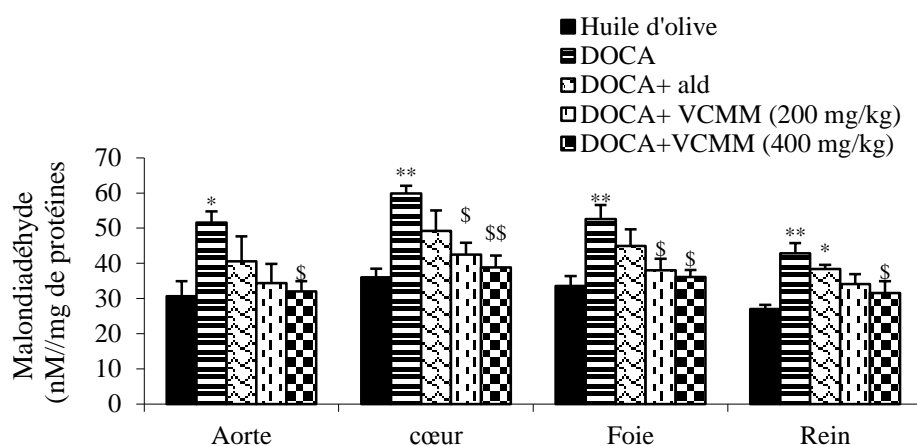


Figure 49: Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur le taux de malondialdéhyde en traitement préventif contre l'hypertension artérielle induite par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ p < 0,05 ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel); DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.7.5.3. Effets sur le taux de glutathion réduit

Une baisse significative ($P < 0,01$) du taux de glutathion réduit (GSH) a été observée dans l'aorte (11,29 %), le cœur (15,64 %), le foie (15,36 %) et les reins (15,12 %) des rats traités à la DOCA et de sel seul pendant 6 semaines. L'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg a prévenu la baisse de glutathion réduit par rapport au témoin DOCA-sel. Il a été observé par rapport au témoin DOCA-sel seul, une augmentation du taux de GSH dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins respectivement de 9,16 %, 20,37 %, 11,17 % et de 10,98 % pour l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg de 7,94 %, 18,98 %, 12,41 % et de 11,83 % pour l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg. L'administration de l'aldactone a entraîné une augmentation significative ($P < 0,01$) du taux de glutathion réduit dans le cœur (16,30 %), le foie (13,44 %) et les reins (11,97 %) par rapport aux témoins DOCA-sel (Figure 50).

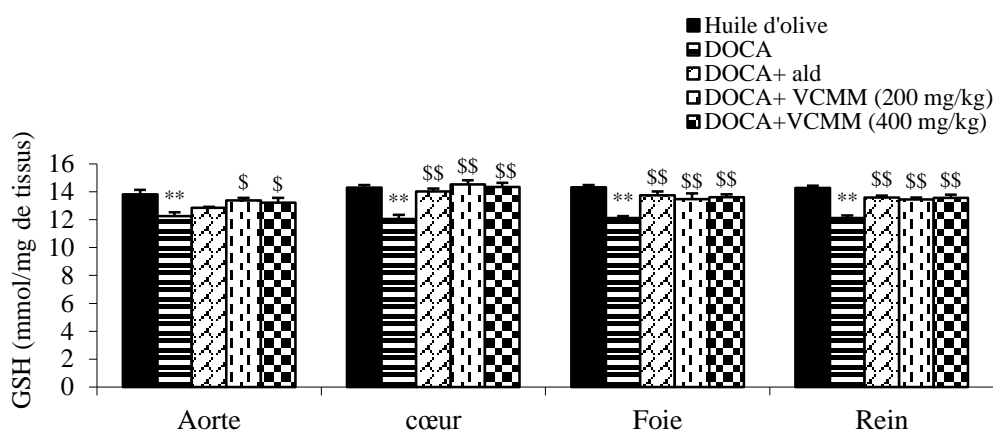


Figure 50: Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur le taux de glutathion réduit en traitement préventif contre l'hypertension artérielle induite par la DOCA et le sel .

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; ** p < 0,01 différence significative par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ p < 0,05 ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel) ; DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.7.5.4. Effets sur l'activité des d'enzymes antioxydantes

L'administration de la DOCA-sel pendant 6 semaines a réduit de manière significative les activités de la SOD aortique (50,00 % ; P < 0,05), cardiaque (68,08 % ; P < 0,01) et hépatique (64,41 % ; P < 0,05) par rapport au témoin (Figure 51). L'extrait de plante administré concomitamment avec la DOCA-sel (200 et 400 mg/kg) a prévenu la baisse de l'activité de la SOD dans l'aorte et le cœur. L'activité de la SOD a augmenté dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins respectivement de 69,77 %, 219,35 %, 166,67 % et de 25,42 % pour l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg, et de 93,02 %, 196,77 %, 190,48 % et de 22,03 % pour l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg. Comparativement au témoin DOCA-sel, l'administration de l'aldactone a entraîné une augmentation significative (P < 0,01) de l'activité de la SOD dans l'aorte (100,00 %), le cœur (174,19 %) et le foie (66,67 %) par rapport aux rats témoins hypertendus (Figure 51 A).

L'activité de la catalase a également été réduite de façon significative (P < 0,01) dans l'aorte (41,20 %), le cœur (28,52 %), le foie (52,65 %) et les reins (40,91 %) des rats qui ont reçu la DOCA-sel uniquement par rapport au témoin. *V. cienkowskii* (200 et 400 mg/kg) a significativement augmenté l'activité de la catalase aortique, hépatique et rénale par rapport au témoin DOCA-sel non traité. Les pourcentages d'augmentation dans l'aorte, le foie et les reins étaient respectivement de 78,47 %, 85,20 % et de 59,28 % pour l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg, et de 108,39 %, 100,40 % et de 79,19 % pour l'extrait de plante à la dose de 400

mg/kg. Le traitement des animaux avec l'aldactone a augmenté significativement l'activité de la catalase hépatique (96,40 % ; $P < 0,01$) et rénale (74,66 % ; $P < 0,01$) par rapport aux rats témoins non traités (Figure 51 B).

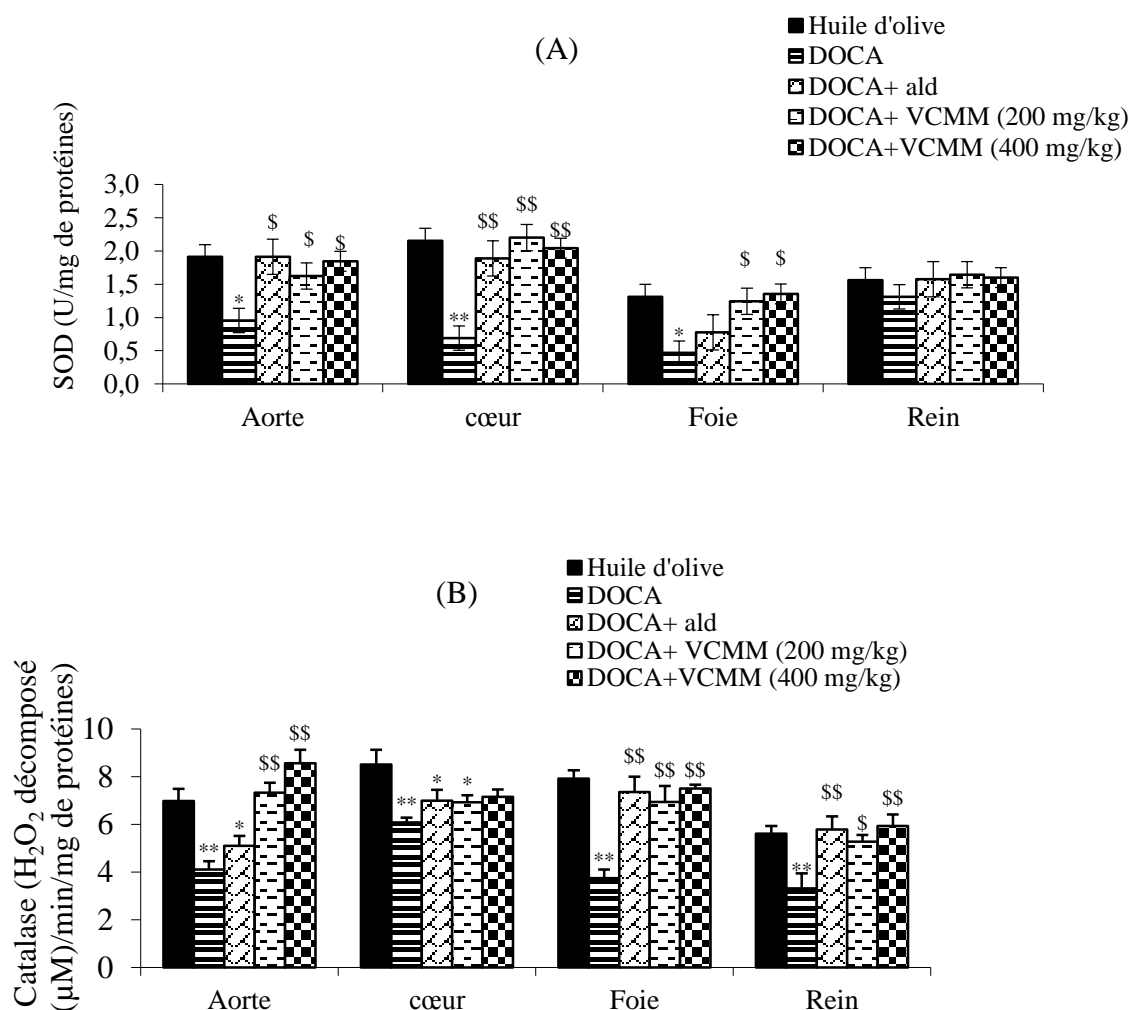


Figure 51: Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur les taux de superoxyde dismutase et de catalase en traitement préventif contre l'hypertension artérielle induite par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n=5$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; ^a $p < 0,05$; ^b $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel) ; DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.7.6. Effets sur le profil lipidique

Chez les rats soumis à la DOCA et le sel pendant 6 semaines, il a été observé une augmentation significative ($P < 0,05$) par rapport au témoin, du cholestérol total de 37,51 %, des triglycérides de 44,93 % et du cholestérol LDL de 73,71 %, et une baisse significative ($P < 0,05$) du cholestérol HDL de 33,59 %. L'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg a

amélioré significativement le profil lipidique ($P < 0,05$). L'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg par exemple, a significativement ($P < 0,01$) réduit le cholestérol total (37,49 %), les triglycérides (22,00 %), le cholestérol LDL (53,54 %) et augmenté le cholestérol HDL (44,93 %) par rapport au témoin DOCA-sel non traités. L'aldactone a entraîné une baisse de triglycérides (26,37 % ; $P < 0,05$), de cholestérol total (21,44 % ; $P > 0,05$) et de cholestérol LDL (20,59 % ; $P > 0,05$), et une augmentation de cholestérol HDL (8,20 % ; $P > 0,05$) comparativement au témoin hypertendu (Figure 52).

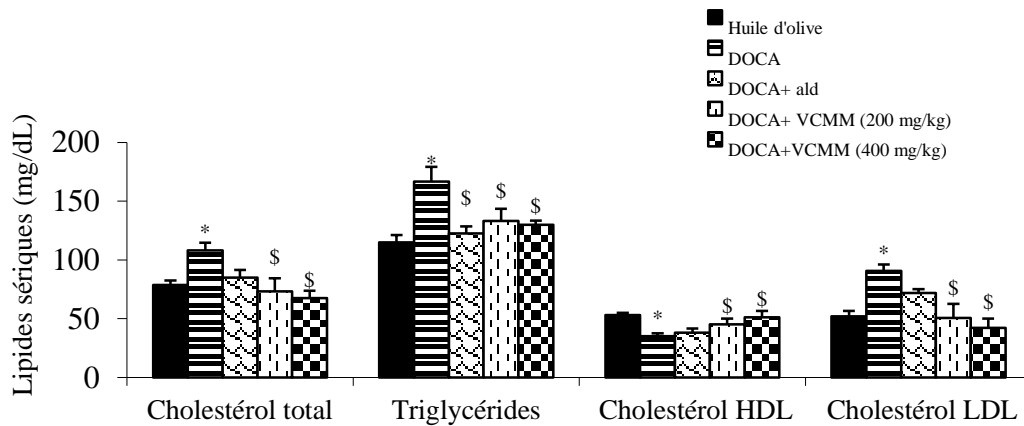


Figure 52: Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur les lipides sériques en traitement préventif contre l'hypertension artérielle induite par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n=5$; * $p < 0,05$ différence significative par rapport au témoin (rat normotendu); § $p < 0,05$ différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel); DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.7.7. Effets sur quelques marqueurs de la fonction hépatique

Le traitement des rats pendant 6 semaines uniquement avec la DOCA et le sel a entraîné une élévation non significative ($P > 0,05$) des concentrations hépatiques et sériques d'ASAT et d'ALAT (Figures 53 A et B).

Les taux de bilirubine sérique et hépatique ont significativement ($P < 0,01$) augmenté de 50,99 % et 21,46 %, respectivement chez les rats traités uniquement avec la DOCA et le sel durant 6 semaines. Comparativement aux rats traités avec la DOCA-sel uniquement, le taux de bilirubine sérique a été réduit de 24,59 %, 25,57 % et de 36,72 % respectivement avec l'aldactone ou l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg. Dans le foie, cette baisse était de 15,19 %, 19,26 % et de 21,55 % respectivement avec l'aldactone ou l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg (Figure 53 C).

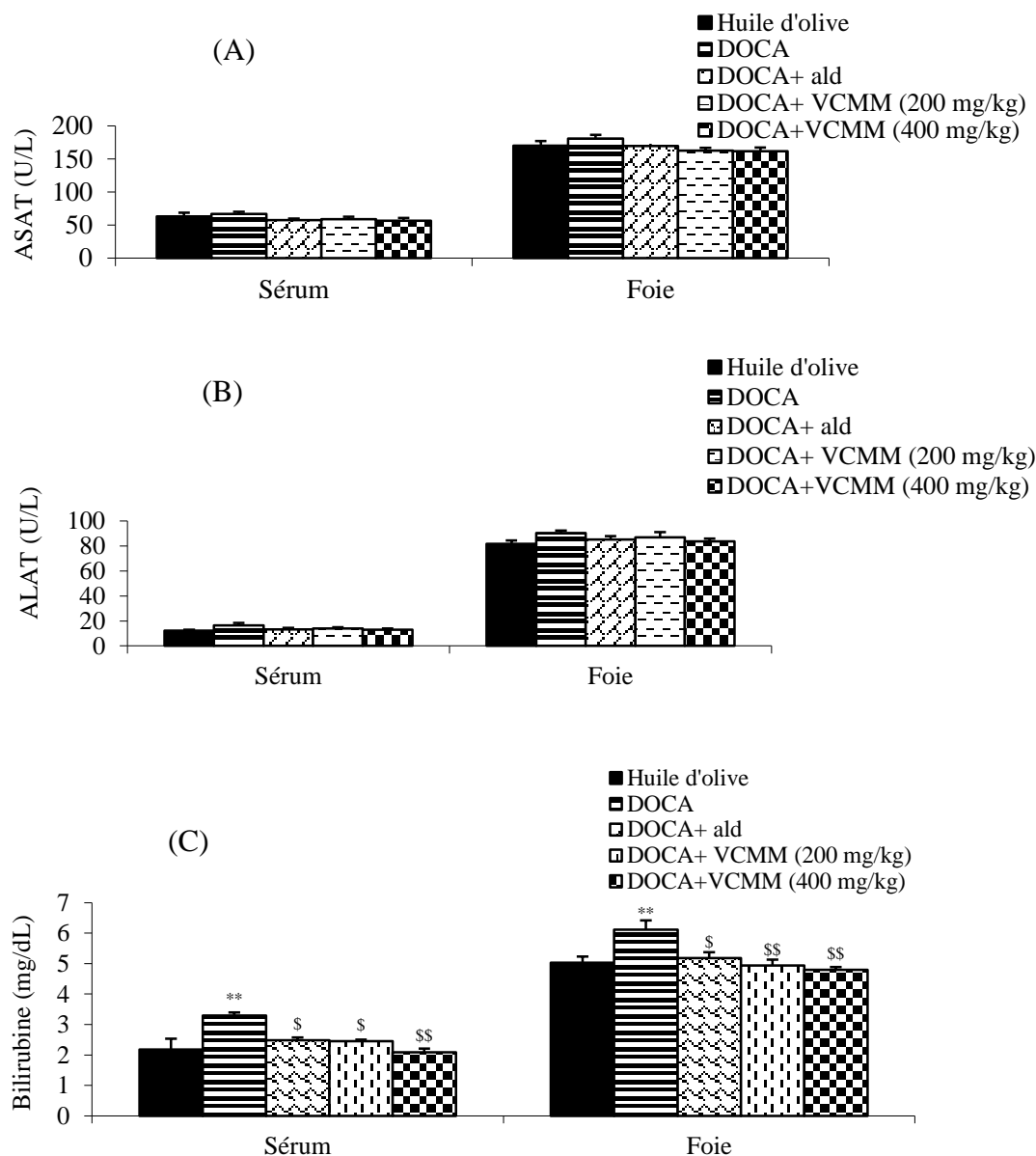


Figure 53: Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur l'activité de l'ASAT (A), l'ALAT (B) et le taux de bilirubine (C) en traitement curatif des rats hypertendus par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ < 0,05 ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel); DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.7.8. Effets sur quelques marqueurs de la fonction rénale

III.1.7.8.1. Effets sur le taux de sodium, de potassium et de chlore

La figure 54 représente les effets de l'administration concomitante de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* avec la DOCA-sel pendant 6 semaines sur les concentrations sériques de sodium, de potassium et de chlore. Il a été observé comparativement au témoin, une

augmentation significative ($P < 0,01$) des concentrations sériques de sodium et de chlore, respectivement de 9,45 % et de 25,11 % et une baisse significative de potassium de 35,75 % après 6 semaines de traitement avec la DOCA- sel uniquement. Le traitement avec l'aldactone ou l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg, des rats recevant concomitamment la DOCA-sel, a prévenu la baisse du taux de potassium et l'augmentation du taux de sodium et de chlore. Le taux de potassium a augmenté de 48,00 %, 29,08 % et de 40,91 % respectivement chez les rats traités avec l'aldactone et l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg. Le taux de sodium a baissé de 5,26 %, 2,96 % et de 5,10 %, et le chlore de 19,90 %, 10,46 % et de 15,87 % respectivement, chez les rats traités avec l'aldactone et l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg par rapport au témoin DOCA-sel non traités.

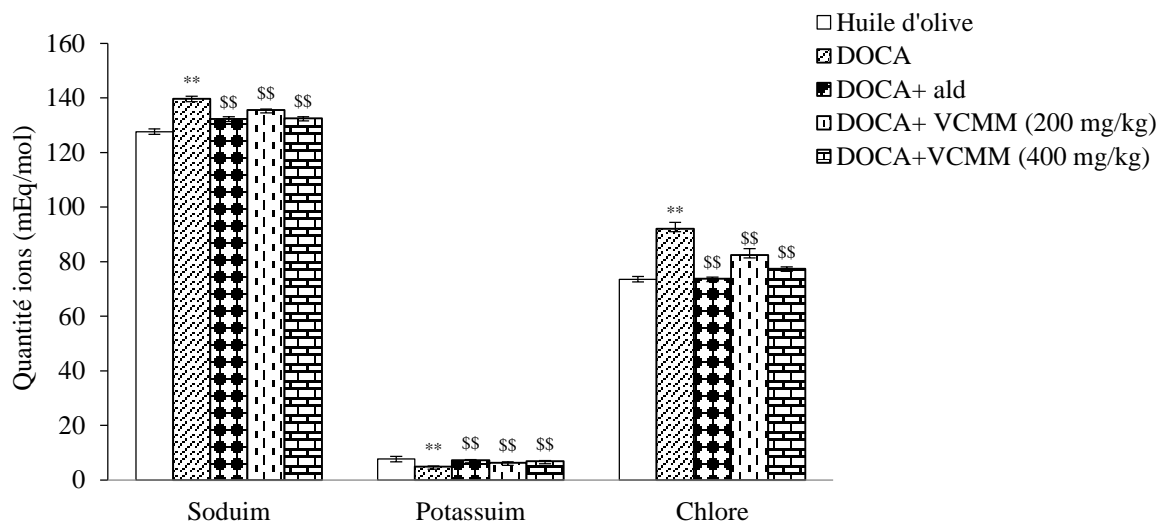


Figure 54: Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cenkowskii* sur les concentrations sériques en sodium, potassium et chlore en traitement préventif contre l'hypertension artérielle induite par DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n=5$; ** $p < 0,01$ différence significative par rapport au témoin (rat normotendu); \$\$ $p < 0,01$ différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel); DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.7.8.2. Effets sur le taux de créatinine

Les taux de créatinine sérique et rénale ont augmenté respectivement de 91,06 % et 82,46 % et de manière significative ($P < 0,01$) chez les rats traités uniquement avec la DOCA et le sel durant 6 semaines comparativement au témoin. L'aldactone a baissé significativement ($P < 0,01$) le taux de créatinine sérique et rénal de 39,04 % et de 24,04 % respectivement, par rapport au témoin DOCA-sel. L'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg a induit une baisse significative ($P < 0,01$) du taux de créatinine sérique de 31,09 % et de 27,98 % respectivement.

La diminution du taux de créatinine rénale était non significative ($P > 0,05$) chez les rats traités l'extrait de plante avec aux doses respectives de 200 (13,46 %) et de 400 mg/kg (8,65 %), comparés au témoin négatif (Figure 55).

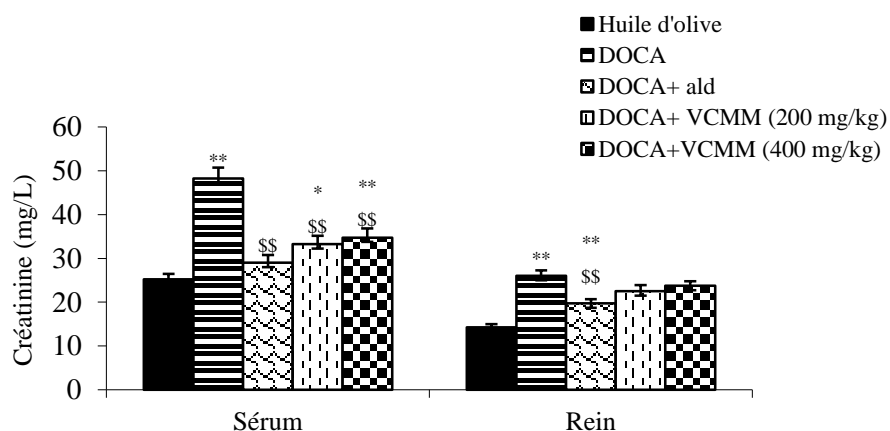


Figure 55: Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur l'activité de la créatinine en traitement curatif des rats hypertendus par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n=5$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ $p < 0,05$; \$\$ $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel); DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.8. Effets curatifs de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* chez les rats rendus hypertendus par la désoxycorticostérone acétate et le sel

III.1.8.1. Effets sur l'évolution du poids corporel

La figure 56 montre les effets d'un traitement pendant 4 semaines des rats préalablement hypertendus par la DOCA-sel avec l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur l'évolution pondérale. Il en ressort que la croissance pondérale des rats témoins hypertendus était significativement inférieure ($P < 0,01$) à celle des animaux du groupe témoin à partir de la 2^{ème} semaine. Au terme de la période expérimentale (10 semaines), la masse des rats hypertendus traités pendant 4 semaines à l'extrait de plante (400 mg/kg) ou à l'aldactone (25 mg/kg) a significativement augmentée par rapport au témoin hypertendu de 46,36 % et de 33,99 % respectivement.

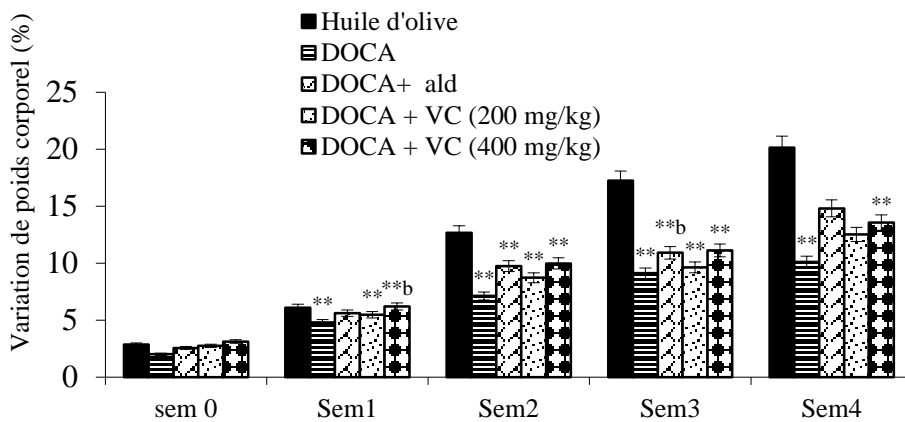


Figure 56 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* en traitement curatif sur le poids corporel des rats hypertendus par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; ** p < 0,01 différence significative par rapport au témoin (rat normotendu);^{\$\$} p < 0,01 différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel); DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg ; sem 0 : semaine qui précède la 1^{ère} semaine de traitement ; sem1-sem 4 : 1^{ère} à 4^{ème} semaine de traitement.

III.1.8.2. Effets sur le poids relatifs des organes

La figure 57 montre les effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* après un traitement curatif pendant 4 semaines des rats rendus hypertendus avec la DOCA-sel sur le poids relatifs des organes. Il ressort de cette figure que le poids relatif des reins, du cœur entier, et du ventricule gauche ont significativement augmenté respectivement de 22,80 %, 19,37 % et de 25,73 % chez les rats traités uniquement avec la DOCA-sel comparés au témoin. L'aldactone tout comme l'extrait de plante a réduit significativement le poids relatif des reins, du cœur entier et du ventricule gauche par rapport au témoin hypertendus non traités. Les pourcentages de baisse du poids du cœur entier, du ventricule gauche et des reins étaient respectivement de 16,06 %, 14,04 % et de 14,77 % chez les rats traités à l'aldactone, de 10,02 %, 11,70 % et de 14,23 % chez les rats traités avec l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg, et de 19,97 %, 19,44 % et de 20,38 % chez les rats traités avec l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg. Les différents traitements n'ont pas modifié de manière significative le poids relatif du foie et du ventricule droit par rapport au témoin.

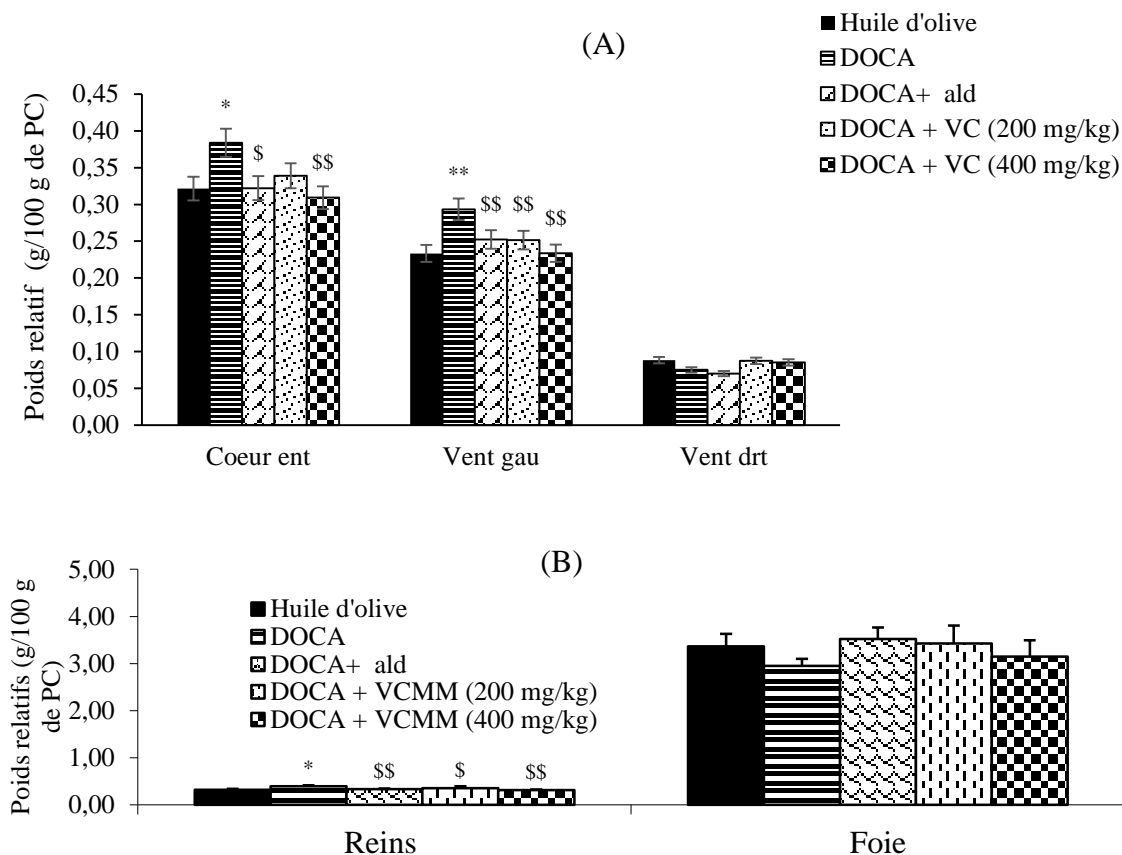


Figure 57: Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cingkowskii* au terme du traitement curatif sur le poids relatifs du cœur entier, des ventricules droits et gauches (A), des reins et du foie (B) chez des rats hypertendus par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ p < 0,05 ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel) ; DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA + VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA + VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.8.3. Effets sur les consommations alimentaire et hydrique

La consommation alimentaire des rats hypertendus non traités et traités à l'extrait de plante a été réduite de façon significative par rapport au groupe témoin, dès la 1^{ère} semaine de traitement jusqu'à la fin du traitement. L'extrait de plante ou l'aldactone n'a pas modifié de façon significative la prise alimentaire dans les différents lots comparativement aux rats hypertendus non traités (Figure 58 A).

La consommation hydrique a augmenté significativement ($P < 0,01$) durant le traitement chez les rats hypertendus non traités comparés aux rats témoins. Le traitement des animaux avec l'aldactone ou l'extrait de plante (200 et 400 mg/kg) a réduit significativement ($P < 0,01$) dès la 1^{ère} semaine la consommation hydrique des rats comparativement au témoin hypertendu. Les pourcentages de baisse de la consommation hydrique par rapport au témoin hypertendu à

la fin de la 4^{ème} semaine étaient de 45,64 %, 33,49 % et de 43,59 % respectivement pour les rats traités à l'aldactone et à l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg (Figure 58 B).

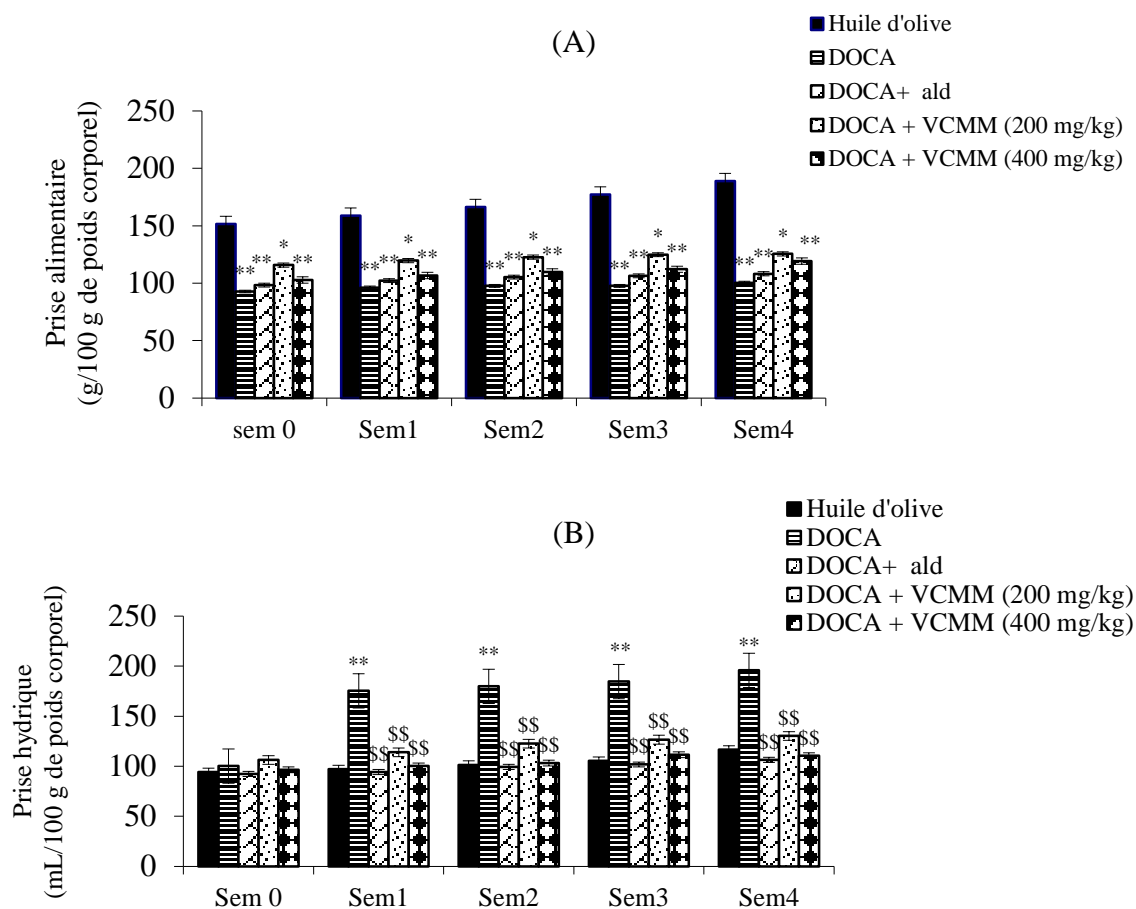


Figure 58 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* en traitement curatif sur les prises alimentaire (A) et hydrique (B) des rats hypertendus par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne ± ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel) ; DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg ; g ou mL / 100 g de poids corporel : quantité consommée en g ou mL par semaine par 100 g de poids corporel ; sem 0 : semaine qui précède la 1^{ère} semaine de traitement ; sem1-sem 4 : 1^{ère} à 4^{ème} semaine de traitement.

III.1.8.4. Effets sur la pression artérielle moyenne et sur la fréquence cardiaque

L'administration sous cutanée de DOCA (10 mg/kg) pendant 10 semaines, chez les rats qui s'abreuvaient avec la solution de NaCl 2 %, a entraîné une élévation significative (P < 0,01) de la pression artérielle moyenne (PAM), par rapport au témoin. La PAM de 113,03 ± 3,36 mm Hg chez les témoins, est passée à 164,93 ± 6,63 mm Hg chez les rats soumis à l'action de la DOCA-sel, soit un pourcentage d'augmentation de 45,91 %. Le traitement des rats rendus expérimentalement hypertendus par la DOCA et le sel de la 6^{ème} à la 10^{ème} semaine avec

l'aldactone (25 mg/kg) ou l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg a corrigé l'élévation de la PAM observée. La PAM des rats hypertendus traités avec l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg était de $124,20 \pm 2,14$ et $118,62 \pm 1,51$ mm Hg respectivement, soit une diminution de 24,69 % et de 28,07 % par rapport au témoin hypertendu (Figure 59 A).

La fréquence cardiaque n'a pas été significativement modifiée par les différents traitements par rapport au témoin (Figure 59 B).

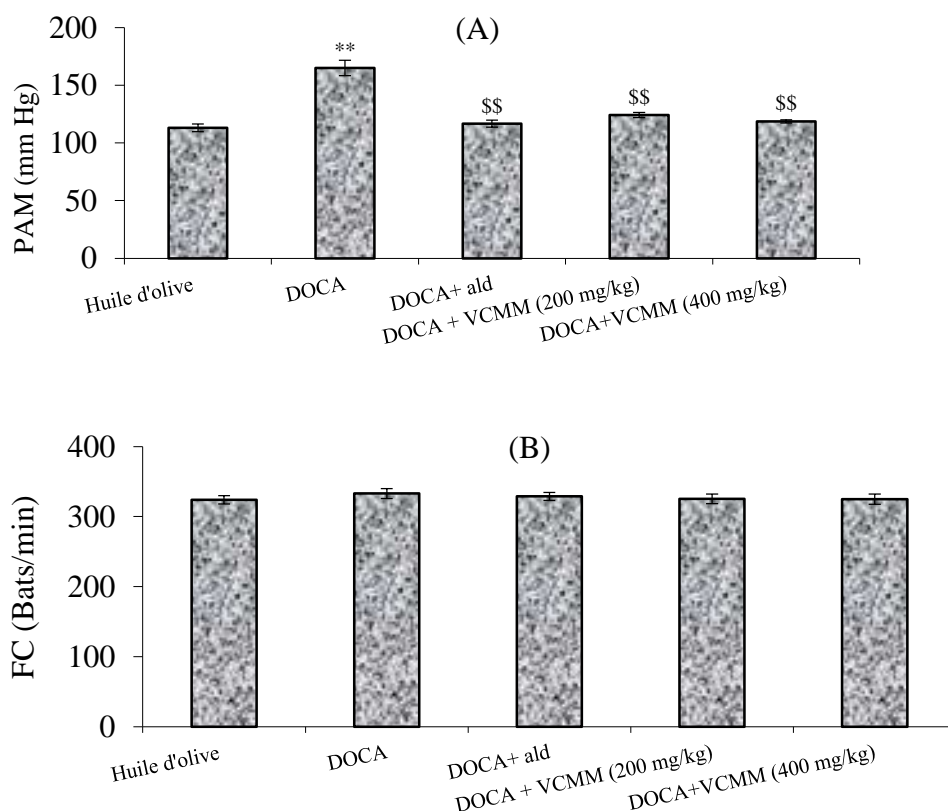


Figure 59 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* en traitement curatif sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) des rats hypertendus par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; ** p < 0,01 différence significative par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$\$ p < 0,01 différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel) ; DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg. PAM : pression artérielle moyenne ; FC : fréquence cardiaque ; Bats/min : battements par minutes.

III.1.8.5. Effets sur quelques marqueurs tissulaires du stress oxydant

III.1.8.5.1. Effets sur le taux de nitrites

L'administration de DOCA et de sel chez les animaux pendant 10 semaines a entraîné une diminution non significative du taux de nitrites dans l'aorte et le cœur par rapport au témoin. Le traitement quotidien des rats rendus hypertendus par la DOCA et le sel avec l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* pendant 4 semaines a augmenté significativement, de manière dose dépendante, la concentration en nitrites dans l'aorte et le cœur par rapport au témoin hypertendu. Cette augmentation du taux de nitrites dans l'aorte était de 4,68 % et de 9,19 % chez les rats traités à l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg respectivement. Aux mêmes doses d'extrait, l'élévation du taux de nitrites dans le cœur a atteint un pourcentage respectif de 6,07 % et de 8,69 %. L'aldactone n'a pas entraîné de variations significatives du taux de nitrites chez les rats hypertendus (figure 60).

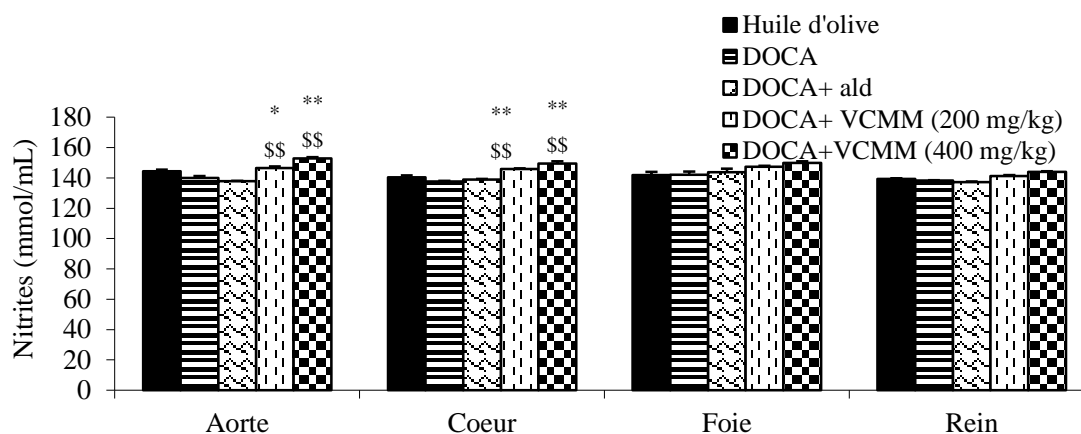


Figure 60 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* en traitement curatif sur la concentration en nitrites des rats hypertendus par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ p < 0,01 différence significative par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel) ; DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.8.5.2. Effets sur le taux de malondialdéhyde

Une augmentation significative (P < 0,01) de taux de malondialdéhyde (MDA) a été enregistrée dans les homogénats d'aorte (28,30 %), du cœur (32,95%), du foie (23,48 %) et des reins (27,50 %) des rats traités uniquement avec la DOCA et le sel pendant 10 semaines par rapport au témoin. Le traitement des rats hypertendus avec l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg a amélioré significativement le taux de malondialdéhyde dans les différents organes étudiés. Le taux de MDA a diminué de 20,90 %, 14,95 %, 16,53 et de 15,94 % respectivement

dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins par rapport aux rats hypertendus. L'aldactone n'a pas significativement ($P > 0,05$) diminué par rapport au témoin hypertendu le taux de malondialdéhyde (Figure 61).

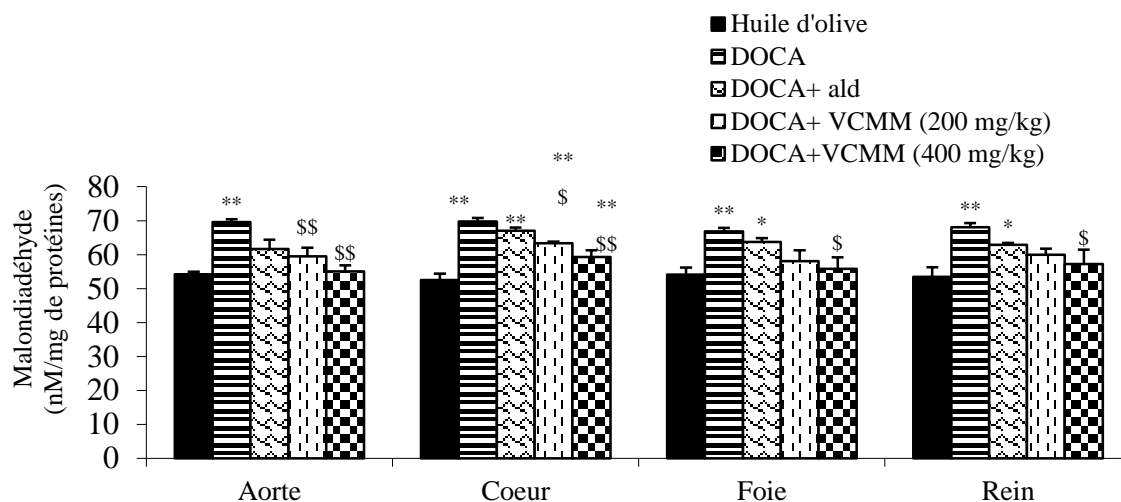


Figure 61 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* en traitement curatif sur la concentration en malondialdéhyde des rats hypertendus par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n=5$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ $p < 0,05$; \$\$ $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel) ; DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.8.5.3. Effets sur le taux de glutathion réduit

La figure 62 montre les effets d'un traitement à l'extrait CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* pendant 4 semaines sur le taux de glutathion réduit des rats rendus hypertendus par la DOCA et le sel. Il ressort de cette figure que la concentration en glutathion réduit a diminué de façon significative ($P < 0,01$) dans l'aorte (60,30 %), le cœur (44,28 %), le foie (52,80 %) et les reins (50,26 %) des rats hypertendus non traités par rapport au témoin. L'extrait de plante aux doses testées a amélioré significativement ($P < 0,01$) le taux de glutathion réduit dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins des rats hypertendus. A la dose de 400 mg/kg, le taux de glutathion réduit a augmenté de 144,30 ; 93,28 ; 89,86 et 47,93 % respectivement dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins, par rapport au témoin hypertendu. A la dose de 200 mg/kg, l'augmentation était de 92,41 ; 56,34 ; 87,25 et 27,59 % respectivement dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins, par rapport au témoin hypertendu. L'aldactone a également augmenté le taux de glutathion réduit dans l'aorte (143,04 %), le cœur (48,08 %) et les reins (37,24 %) par rapport aux rats hypertendus.

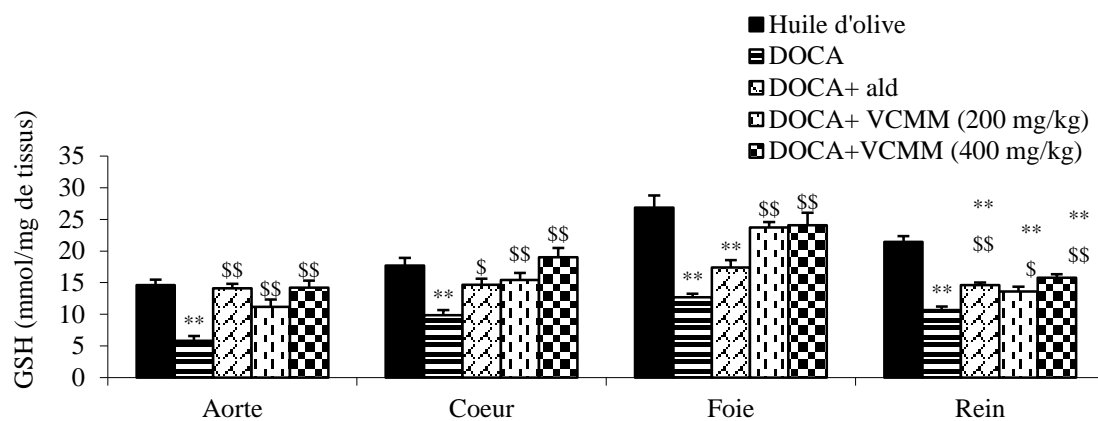


Figure 62 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* en traitement curatif sur la concentration du glutathion réducté des rats hypertendus par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ < 0,05 ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel); DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.8.5.4. Effets sur l'activité des enzymes antioxydantes

L'administration de la DOCA et le sel aux rats pendant 10 semaines, a entraîné une diminution de l'activité de la SOD et de la catalase par rapport au témoin. L'activité de la SOD a été réduite de manière significative ($P < 0,05$) dans l'aorte (56,16 %) et le cœur (40,74 %), et de manière non significative dans le foie et les reins des rats hypertendus avec la DOCA-sel par rapport au témoin. L'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg tout comme l'aldactone a augmenté significativement ($P < 0,05$) l'activité de la SOD dans l'aorte par rapport aux rats hypertendus de 81,25 % et de 78,13 % respectivement (Figure 63 A).

L'activité de catalase a été significativement réduite dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins des rats hypertendus non traités de 28,14 %, 14,77 %, 17,73 % et de 13,29 % respectivement par rapport au témoin. Le traitement avec l'extrait de plante a amélioré significativement l'activité de la catalase dans les homogénats d'aorte, de cœur, de foie et de reins. Ainsi, par rapport aux rats hypertendus, les pourcentages d'augmentation de l'activité de la catalase dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins étaient respectivement de 28,26 %, 21,51 %, 21,39 % et de 28,32 % chez les rats traités avec l'extrait à la dose de 400 mg/kg, et de 29,88 %, 23,01 %, 24,27 % et de 29,92 % chez les rats traités avec l'extrait à la dose de 200 mg/kg. L'aldactone a augmenté l'activité de la catalase dans l'aorte (26,19 % ; $P < 0,01$), le foie (15,93 % ; $P < 0,05$) et les reins (15,43 % ; $P < 0,01$), comparativement au témoin hypertendu (Figure 63 B).

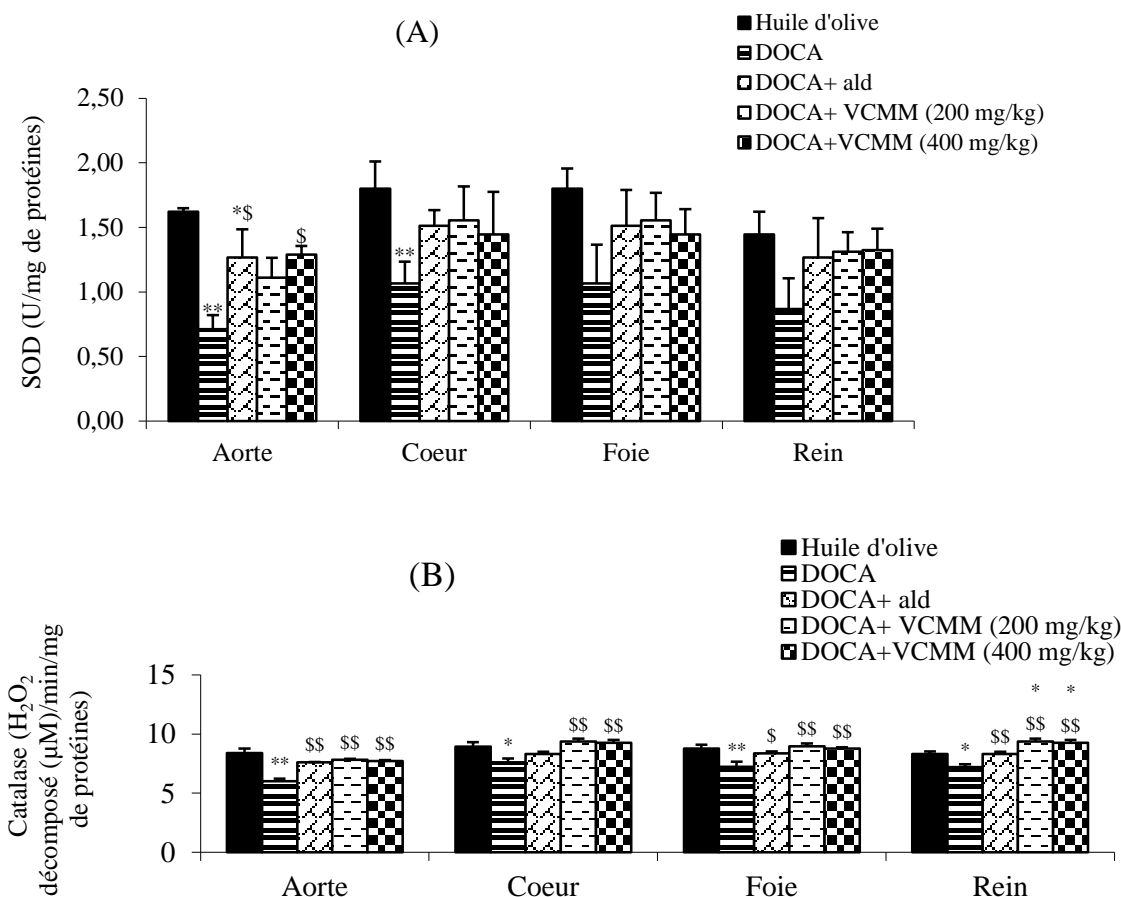


Figure 63 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* en traitement curatif sur l'activité de la superoxyde dismutase (A) et de la catalase (B) des rats hypertendus par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; § < 0,05 ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel); DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.8.6. Effets sur le profil lipidique

La prise de DOCA-sel pendant 10 semaines a entraîné une augmentation significative du cholestérol total (5,89 % ; P < 0,05), du cholestérol LDL (25,62 % ; P < 0,01) et des triglycérides (12,57 % ; P < 0,01). Il a été observé une baisse significative du cholestérol HDL (17,57 % ; P < 0,01) par rapport au témoin. L'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg a significativement réduit le cholestérol total (17,74 %), les triglycérides (13,98 %), le cholestérol LDL (34,70 %), et a augmenté le cholestérol HDL (12,97 %) par rapport au témoin hypertendu. L'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg a également significativement (P < 0,01) réduit le cholestérol total de 25,72 %, les triglycérides de 15,00 %, le cholestérol LDL de 48,78 %, et a augmenté le cholestérol HDL de 16,03 % par rapport aux rats hypertendus. L'aldactone a entraîné une baisse de triglycérides (10,67 % ; P < 0,05), de cholestérol total (19,19 % ; P < 0,01) et de cholestérol

LDL (37,80 % ; P < 0,01), et une augmentation de cholestérol HDL de (14,53 % ; P < 0,01) comparativement au témoin hypertendu (Figure 64).

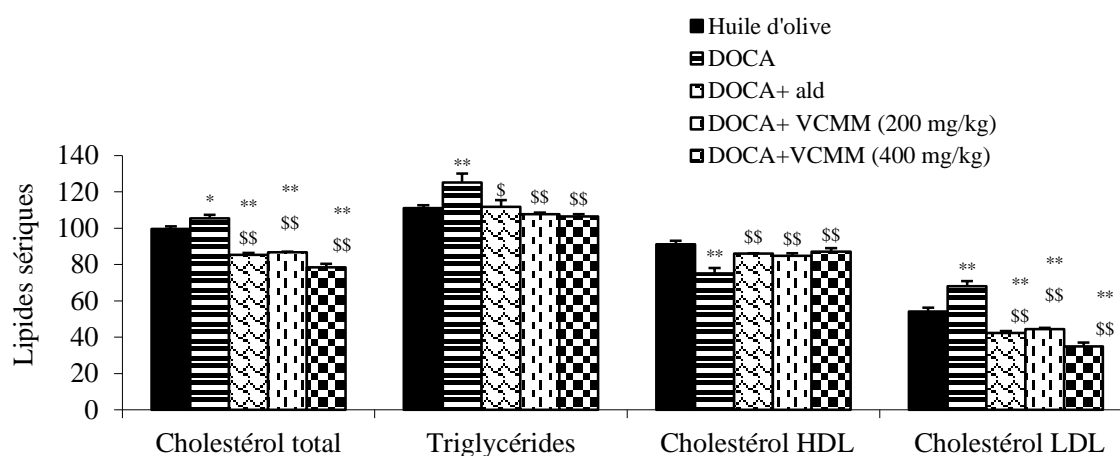


Figure 64 : Effets curatifs de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* en traitement curatif sur les lipides sériques chez les rats hypertendus par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne ± ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ p < 0,05 ; \$\$ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel); DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.8.7. Effets sur quelques marqueurs de la fonction hépatique

La figure 65 présente les effets d'un traitement de 4 semaines des rats préalablement rendus hypertendu par la DOCA et le sel avec l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur l'activité de l'ASAT, de l'ALAT et sur le taux de bilirubine totale. Le traitement subchronique des rats avec la DOCA-sel a significativement (P < 0,01) augmenté l'activité de l'ASAT et de l'ALAT respectivement de 30,68 % et de 40,65 % dans le sérum, et de 9,57 % et de 14,07 % dans le foie par rapport aux rats témoins. Le traitement des rats hypertendus avec l'aldactone et l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg a réduit significativement l'activité de l'ASAT et de l'ALAT hépatique. Comparativement au témoin hypertendu, l'activité de l'ASAT sérique a baissé de 14,68 %, 18,26 % et de 20,60 % respectivement chez les rats traités avec l'aldactone ou l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg. L'activité de l'ASAT hépatique a baissé de 16,34 %, 14,30 % et de 18,00 % respectivement chez les rats traités avec l'aldactone ou l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg par rapport au témoin hypertendu (Figures 65 A et B).

Les taux de bilirubine totale ont significativement (P < 0,01) augmenté de 84,19 % dans le sérum et de 64,13 % dans le foie des rats sous DOCA-sel comparés aux rats témoins. Le

traitement des rats hypertendus avec l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg a réduit significativement ($P < 0,01$) la bilirubine sérique de 49,00 % et de 50,58 % respectivement, et la bilirubine hépatique de 20,00 % et de 30,32 % respectivement par rapport au témoin hypertendu. L'aldactone a significativement ($P < 0,01$) réduit la bilirubine sérique de 37,52 % par rapport au témoin hypertendu (Figure 65 C).

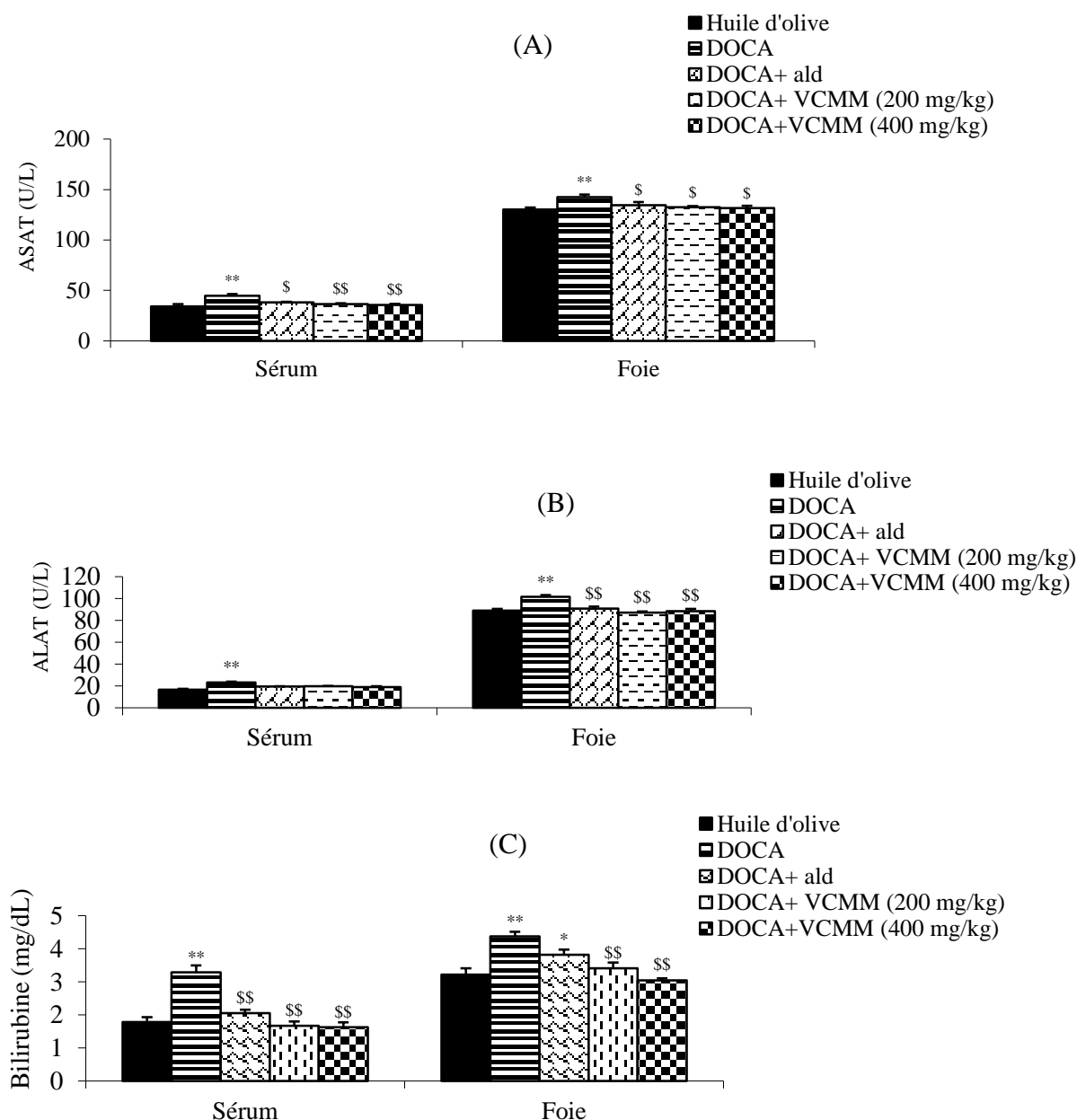


Figure 65 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur d' ASAT (A), d' ALAT (B), de bilirubine (C) et de créatinine (D) en traitement curatif des rats hypertendus par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n=5$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ $p < 0,05$; \$\$ $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel); DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.8.8. Effets sur quelques marqueurs de la fonction rénale

III.1.8.8.1. Effets sur les taux de sodium, potassium et chlore

La concentration sérique en ions sodium et chlore des rats traités uniquement avec la DOCA-sel, a subi une élévation significative ($P < 0,01$) respective de 5,62 % et 24,07 % par rapport au témoin. La concentration sérique en potassium a été significativement ($P < 0,05$) réduite de 30,05 % après traitement des rats avec la DOCA-sel par rapport au témoin. Le traitement des rats hypertendus avec l'aldactone a significativement réduit les concentrations en sodium (5,66 % ; $P < 0,01$) et en chlore (16,52 % ; $P < 0,01$), et a élevé la concentration en potassium (27,83 % ; $P < 0,05$). L'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg a baissé significativement ($P < 0,01$) les concentrations sériques en sodium de 4,49 % et en chlore de 17,22 % par rapport au témoin hypertendu. L'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg a réduit de manière significative ($P < 0,01$) les concentrations sériques en sodium de 2,67 % par rapport au témoin hypertendu (Figure 66).

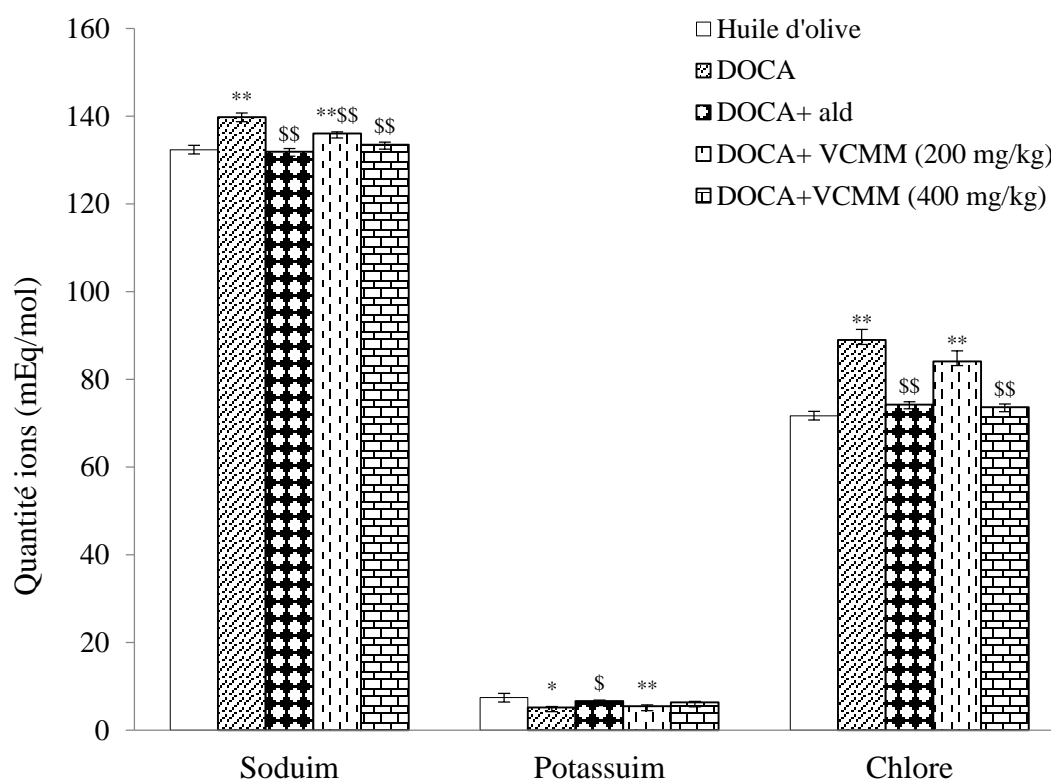


Figure 66 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* en traitement curatif sur les concentrations sériques en sodium, potassium et chlore des rats hypertendus par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n=5$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; \$ $p < 0,05$; \$\$ $p < 0,01$ différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel) ; DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.8.8.2. Effets sur le taux de créatinine

L'administration de DOCA-sel chez les rats a significativement augmenté les taux de créatinine sérique de 29,58 % et rénale de 38,79 % comparé au témoin. Le traitement des animaux hypertendus avec l'aldactone, et l'extrait de plante aux doses de 200 et 400 mg/kg a significativement réduit de 17,23 %, 24,45 % et de 17,75 % respectivement, le taux de créatinine sérique par rapport aux témoins hypertendus (Figure 67).

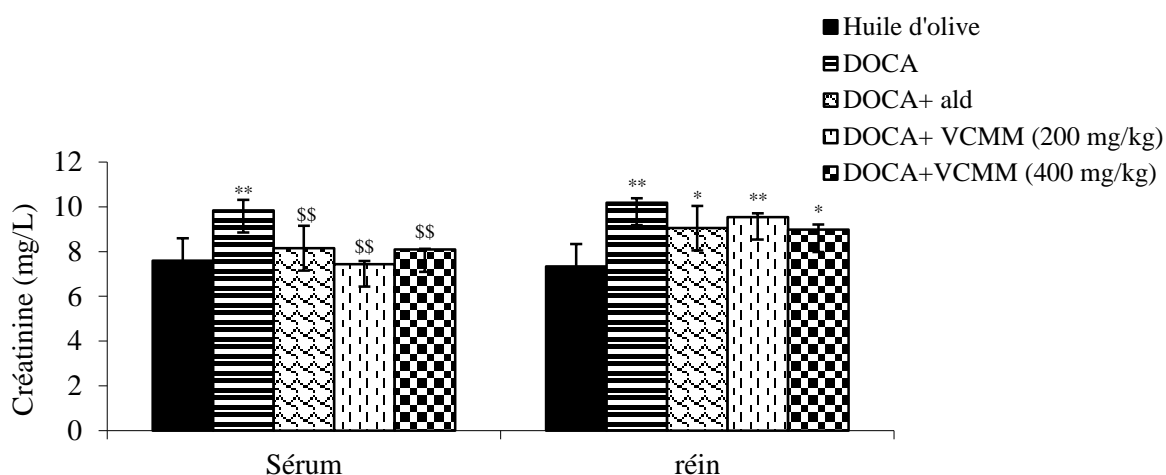


Figure 67 : Effets de l'extrait $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ de *Vitex cienkowskii* sur l'activité de la créatinine en traitement curatif des rats hypertendus par la DOCA et le sel.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin (rat normotendu) ; §§ p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin hypertendu (rat traité uniquement avec la DOCA et le sel) ; DOCA + ald : rat traité avec la DOCA – sel et l'aldactone à la dose de 25 mg/kg ; DOCA+ VCMM (200 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 200 mg/kg ; DOCA+ VCMM (400 mg/kg) : rat traité avec la DOCA – sel et l'extrait de plante à la dose de 400 mg/kg.

III.1.9. Effets de l'extrait au $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ de *Vitex cienkowskii* chez les rats spontanément hypertendus

III.1.9.1. Effets sur le poids relatifs du cœur et des ventricules

La figure 68 présente les effets de l'administration *per os* de l'extrait au $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ de *Vitex cienkowskii* pendant 6 semaines, sur le poids des ventricules et du cœur entier des SHR. Il a été observé une baisse significative du poids du cœur entier (P < 0,05) de 12,37 % et du ventricule gauche (P < 0,01) de 15,26 % chez les SHR traités avec l'extrait de plante (400 mg/kg) par rapport aux SHR non traités. Le poids du ventricule droit n'a pas été modifié significativement par le traitement.

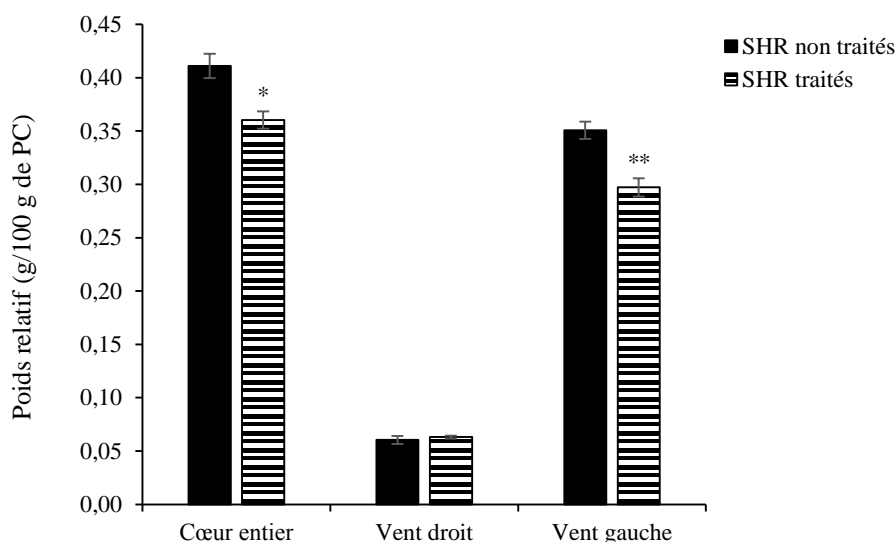


Figure 68 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cincinnensis* sur le poids relatif du cœur et des ventricules des rats SHR.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ différences significatives par rapport au SHR non traités : SHR qui ont reçu de l'eau per os pendant 6 semaines. SHR traités : SHR traités avec l'extrait au mélange CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cincinnensis* à la dose de 400 mg/kg per os pendant 6 semaines. Vent droit : ventricule droit ; Vent gauche : ventricule gauche.

III.1.9.2. Effets sur la pression artérielle et la fréquence cardiaque

L'administration quotidienne de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cincinnensis* à la dose de 400 mg/kg chez les rats spontanément hypertendus (SHR) pendant 6 semaines a induit une baisse progressive, mais non significative de la PAS. La PAS de départ qui était de $172,15 \pm 4,86$ mm Hg est passée à $155,44 \pm 5,69$ mm Hg à la fin du traitement. La PAD et la PAM ont été également diminuées de manière non significative, comparées aux valeurs initiales, durant la période expérimentale. À la fin de la période expérimentale, des baisses significatives de la PAM ($P < 0,01$) et de la PAD ($P < 0,05$) ont été enregistrées. Les valeurs initiales de PAD et PAM de $143,4 \pm 4,42$ et $153,0 \pm 4,47$ mm Hg respectivement, ont été réduites à $111,0 \pm 7,68$ et $125,8 \pm 7,00$ mm Hg. Le traitement des SHR avec l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cincinnensis* à la dose de 400 mg/kg a également entraîné une baisse significative ($P < 0,05$) de la FC par rapport à la valeur initiale à la 6^{ème} semaine. C'est ainsi que la FC initiale de $351,5 \pm 4,64$ bats/min est passée à $318,2 \pm 4,76$ bats/min à la fin du traitement (Figure 69).

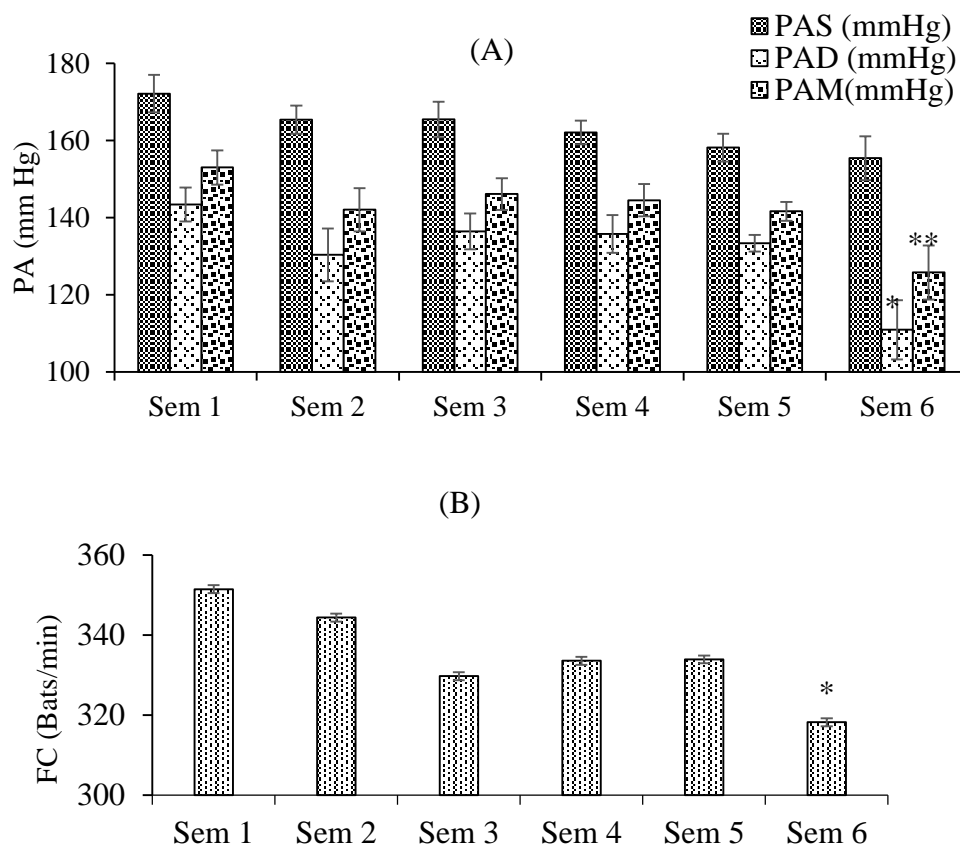


Figure 69 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur la pression artérielle (A) et la fréquence cardiaque (B) des rats spontanément hypertendus.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ différences significatives par rapport la première semaine de traitement (Sem 1). PA : pression artérielle, (PS) : pression systolique, PD : pression diastolique, PM : la pression moyenne, FC : fréquence cardiaque.

III.1.9.3. Effets sur la réactivité vasculaire des SHR

Après 6 semaines de traitement quotidien des SHR avec l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* à la dose de 400 mg/kg, les effets relaxants de l'acétylcholine (ACh), de l'ionophore calcium (A23187) et du nitroprussiate de sodium (NPS) ont été évalués sur les anneaux d'aorte précontractés par la phényléphrine (10^{-6} M). La figure 70 A montre une amélioration significative de la vasorelaxation induite par l'ACh chez les SHR traités par rapport aux SHR non traités. Le pourcentage de relaxation maximale chez les rats traités était de $96,16 \pm 0,86$ % vs $74,87 \pm 1,19$ % chez les témoins. La vasorelaxation au NPS a également été améliorée de manière significative à partir de la concentration 10^{-9} M jusqu'à 3×10^{-7} M. Le pourcentage de relaxation enregistré était de $101,29 \pm 2,32$ % chez les SHR traités contre $91,68 \pm 1,71$ % chez les SHR non traités (Figure 70 B). La réponse vasorelaxante induite par A23187 a été améliorée de manière non significative chez les SHR traités comparés aux SHR non traités (Figure 70 C).

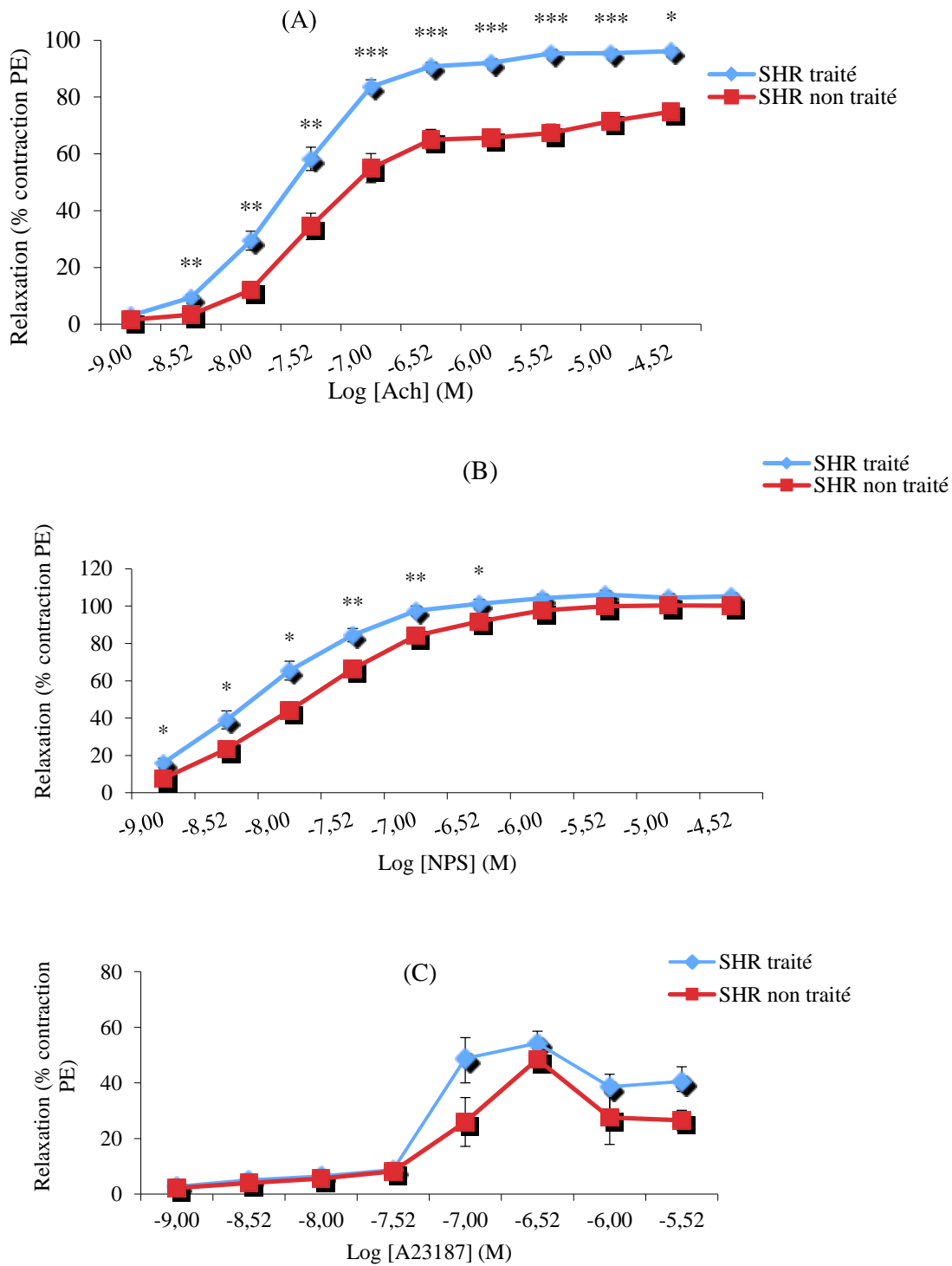


Figure 70 : Effets d'un traitement subchronique à l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cincinnensis* sur la relaxation induite par l'ACh (A), le NPS (B) et l'A23187 (C) des anneaux d'aorte intacts des rats SHR précontractés par la phényléphrine (10⁻⁶ M).

Chaque point représente la moyenne ± ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 différences significatives par rapport au SHR non traités : SHR qui ont reçu de l'eau per os pendant 6 semaines. SHR traités : SHR traités avec l'extrait au mélange CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cincinnensis* à la dose de 400 mg/kg per os pendant 6 semaines. ACh : acétylcholine ; NPS : nitroprussiate de sodium ; A23187 : l'ionophore calcium.

III.1.10. Effets de l'extrait au mélange CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur l'activité fonctionnelle des cardiomyocytes isolés des rats adultes.

Le tableau IX présente les effets de VCMM sur l'activité fonctionnelle des cardiomyocytes isolés.

Le traitement des cardiomyocytes isolés de rats avec l'extrait au mélange CH₂Cl₂-MeOH de *V. cienkowskii* a entraîné un effet inotrope positif concentrations dépendantes. Les pourcentages de raccourcissement des cardiomyocytes étaient de 31,7 %, 64,6 % et de 145,2 %, respectivement aux concentrations de 0,1 ; 0,5 et 1 mg/mL. La nicardipine (4 µM) a inhibé l'effet inotrope positif de *V. cienkowskii* (1 mg/mL). Le bisoprolol (5 µM) n'a pas modifié l'effet de *V. cienkowskii* à la concentration de 0,5 mg/mL. Le pourcentage de raccourcissement cellulaire était de 66,4 % en présence du bisoprolol contre 64,6 % en absence du bisoprolol.

V. cienkowskii a augmenté le temps nécessaire pour atteindre une contraction maximale de 20-30 % et de 40-60 %, respectivement aux concentrations de 0,5 et de 1 mg/mL. Il n'a pas été observé de variation significative du temps pour atteindre la contraction maximale à la concentration de 0,1 mg/mL. Le temps nécessaire pour obtenir 50 % de relaxation a été augmenté de façon concentration dépendante. Les pourcentages d'augmentation étaient de 25 %, 30 % et de 80 % respectivement aux concentrations de 0,1 ; 0,5 et 1 mg/mL. L'indice de Nwasokwa (Nwasokwa, 1993) indique un effet lusitrope négatif. *V. cienkowskii* a induit un effet lusitrope négatif à la concentration de 1 mg/mL. Les valeurs de l'indice de Nwasokwa étaient de 1,9 pour *V. cienkowskii* contre 2,8 pour le témoin.

Tableau IX: Effets de VCMM sur l'activité fonctionnelle des cardiomyocytes isolés des rats Wistar adultes

VCMM (mg/mL)	Raccourcissement (%)	Augmentation du temps pour atteindre le pic de la contraction (%)	Augmentation du temps nécessaire pour atteindre 50 % de la relaxation (%)
0,1	31,7	/	25
0,5	64,6	20-30	30
1	145,2	40-60	80

III.1.11. Toxicité aiguë et subchronique des extraits aqueux et au CH₂Cl₂-MeOH des écorces de *Vitex cienkowskii*

III.1.11.1 Toxicité aiguë

III.1.11.1.1. Effets sur le comportement général des animaux

L'administration d'une dose unique (2000 mg/kg) des extraits aqueux et au CH₂Cl₂-MeOH des écorces de *Vitex cienkowskii* n'a pas entraîné des modifications notables du comportement général des animaux durant les 3 heures qui ont suivies l'administration des substances. Aucun décès n'a été enregistré après les différents traitements.

III.1.11.1.2. Effets sur le poids corporel et les prises alimentaire et hydrique

Le traitement des animaux avec l'extrait aqueux ou au CH₂Cl₂-MeOH n'a pas entraîné de modifications du poids corporel et des consommations alimentaire et hydrique entre les groupes traités et le groupe témoin.

III.1.11.2. Toxicité subchronique de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH des écorces de *Vitex cienkowskii*

III.1.11.2.1. Effets sur le comportement général des animaux

Le traitement quotidien des rats à l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH des écorces de *Vitex cienkowskii* (200, 400 et 600 mg/kg) pendant 4 semaines n'a pas modifié le profil comportemental des animaux. Aucun décès n'a été enregistré au cours de l'expérimentation.

III.1.11.2.2. Effets sur le poids corporel

La masse corporelle a augmenté progressivement avec le temps au cours du traitement, dans tous les groupes. Mais, aucune différence significative n'a été enregistrée entre les poids corporels des rats témoins et ceux des rats des groupes traités avec les différentes doses d'extraits de plante testées (Figure 71).

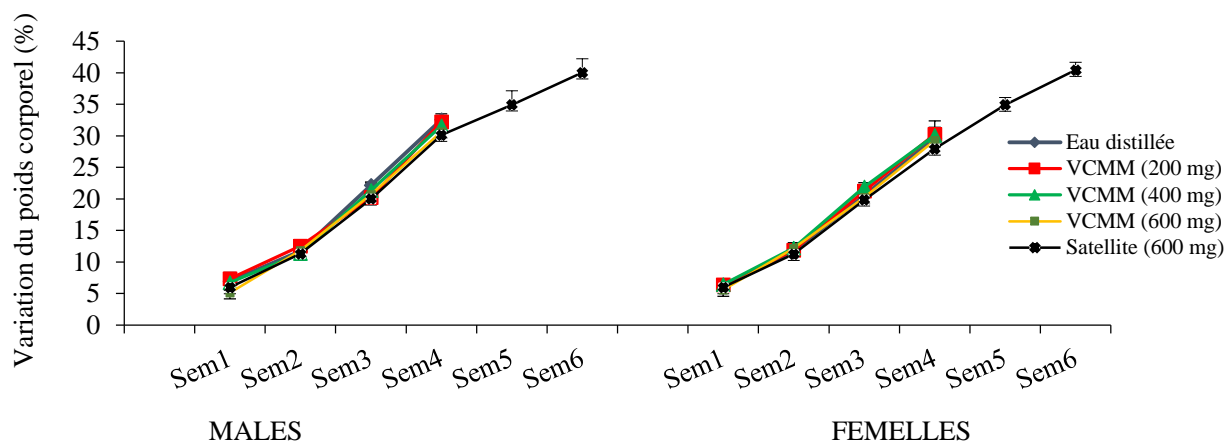


Figure 71 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cincinnensis* sur le poids corporel des rats en traitement subchronique.

Chaque point représente la moyenne \pm ESM ; VCMM : extrait au mélange CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cincinnensis*

III.1.11.2.3. Effets sur le poids relatif des organes

La figure 72 révèle que l'administration quotidienne de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH des écorces de *Vitex cincinnensis* durant 4 semaines, n'a pas modifié de manière significative ($P > 0,05$) comparativement au témoin, le poids relatif du cœur, du foie et des reins, aussi bien chez les rats mâles que chez les femelles.

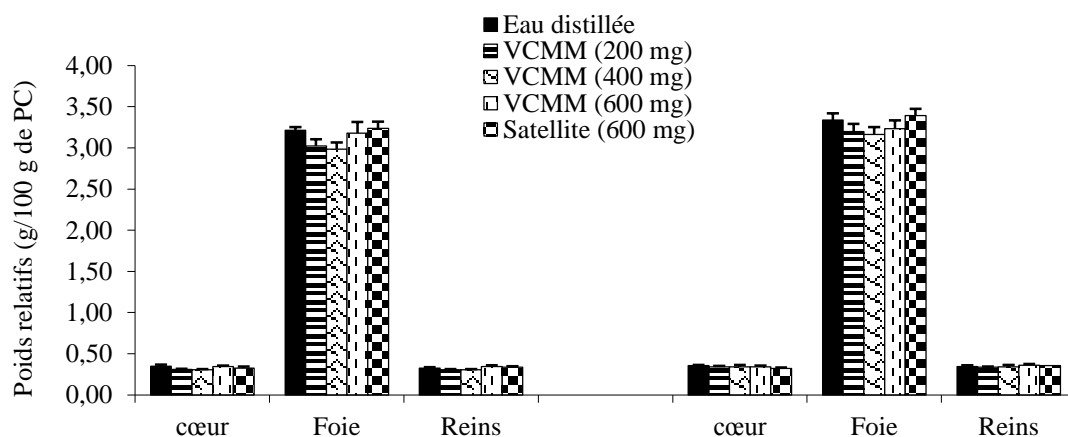


Figure 72 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cincinnensis* sur le poids relatif du cœur, du foie et des reins des rats en traitement subchronique.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; VCMM : extrait au mélange CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cincinnensis*

III.1.11.2.4. Effets sur les consommations alimentaire et hydrique

La figure 73 présente les effets d'un traitement subchronique à l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH des écorces de *Vitex cincinnensis* sur les prises alimentaire et hydrique des rats. Il ressort de cette figure que les différents traitements n'ont pas entraîné de modifications significatives de

la consommation d'aliment et d'eau, aussi bien chez les rats mâles que chez les femelles par rapport au témoin.

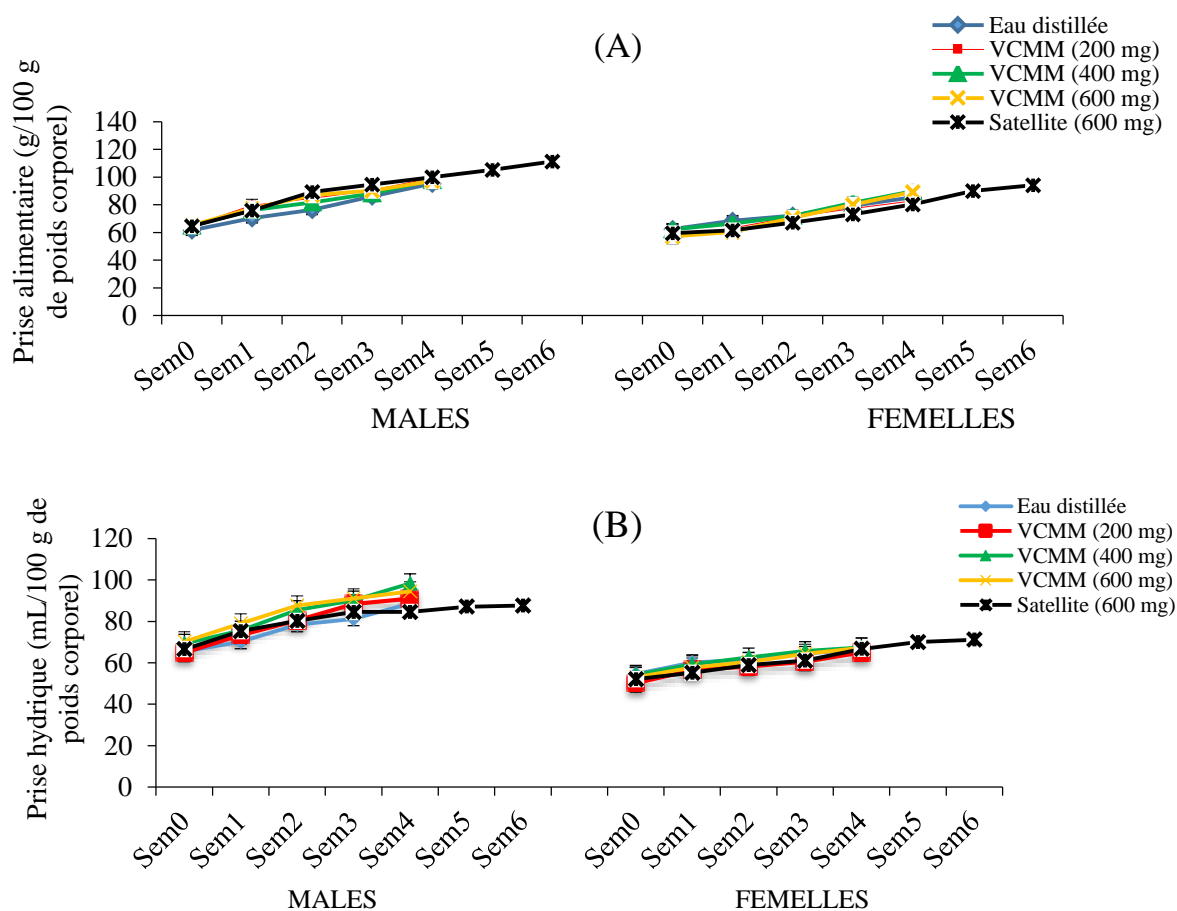


Figure 73 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur la prise alimentaire (A) et hydrique (B) des rats en traitement subchronique.

Chaque point représente la moyenne \pm ESM ; VCMM : extrait au mélange CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* ; g/ 100g de poids corporel : quantité consommée en g par semaine par 100 g de poids corporel.

III.1.11.2.5. Effets sur quelques paramètres hématologiques

La figure 74 montre les effets du traitement subaigu à l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur le taux de globules rouges, de globules blancs, de plaquettes et sur l'hématocrite. L'extrait de plante à la dose de 600 mg/kg a réduit significativement ($P < 0,01$) l'hématocrite (36,82 %) et le taux de globules rouges (49,02 %) et a augmenté significativement ($P < 0,05$) le nombre de globules blancs (43,65 %) comparativement au témoin. Une élévation non significative ($P > 0,05$) du taux de plaquettes et inversement proportionnelle à la dose d'extrait de plante a été enregistrée à la fin du traitement. Ainsi, les pourcentages d'augmentation étaient de 21,25 %, 16,38 % et de 8,22 % respectivement aux doses de 200,

400 et 600 mg/kg. Après une période de recouvrement de 14 jours, le pourcentage augmentation a été réduit à 0,70 %.

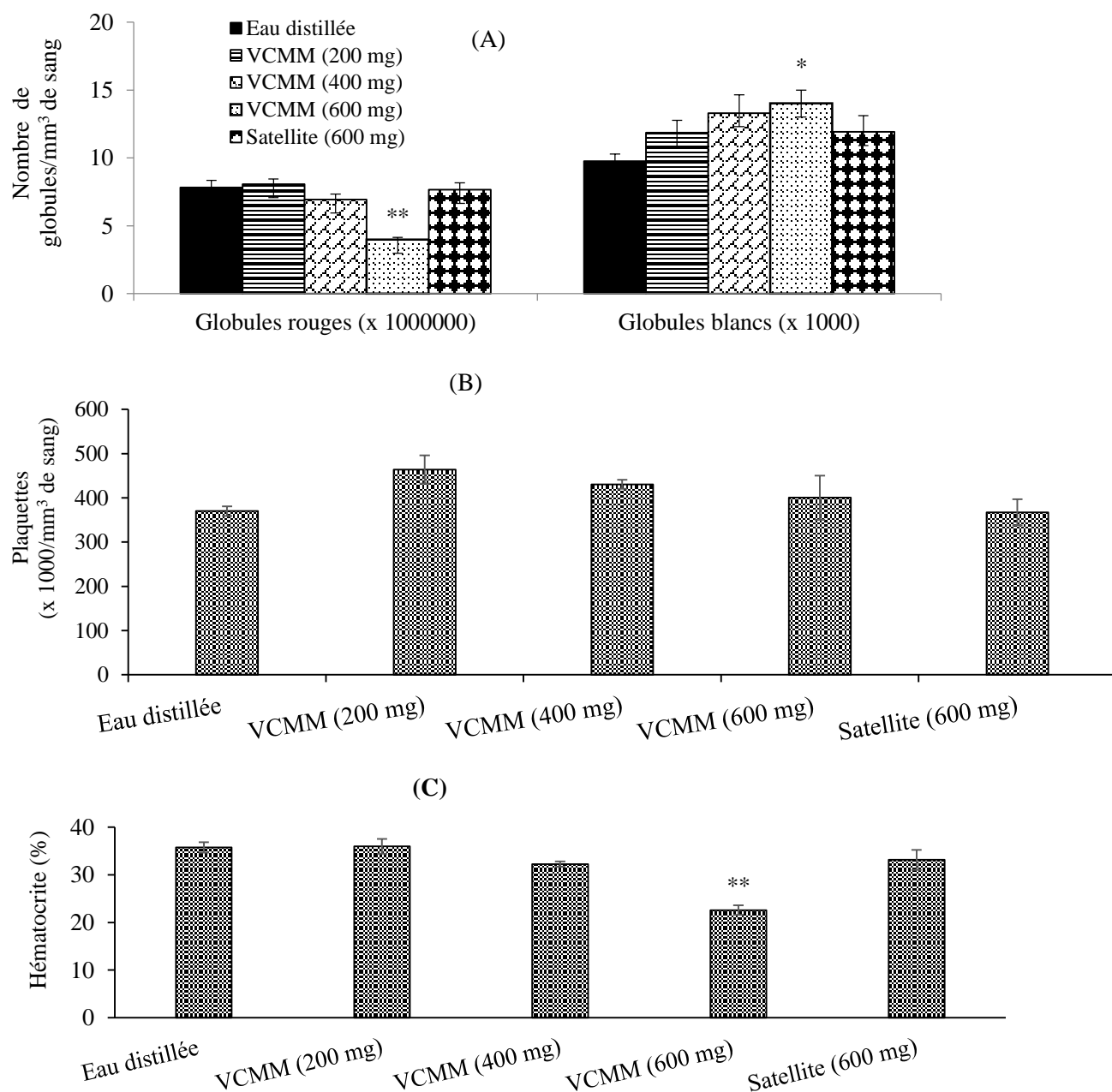


Figure 74 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur le taux de globules rouges, de globules blancs (A), de plaquettes (B) et l'hématocrite (C) des rats en traitement subchronique.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 différences significatives par rapport au témoin; VCMM : extrait au mélange CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii*

III.1.11.2.6. Effets sur le taux de protéines totales

L'administration subchronique de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* n'a pas modifié les taux de protéines totales sériques, hépatiques et rénales chez les rats traités pendant 4 semaines et chez les rats du groupe satellite (Figure 75).

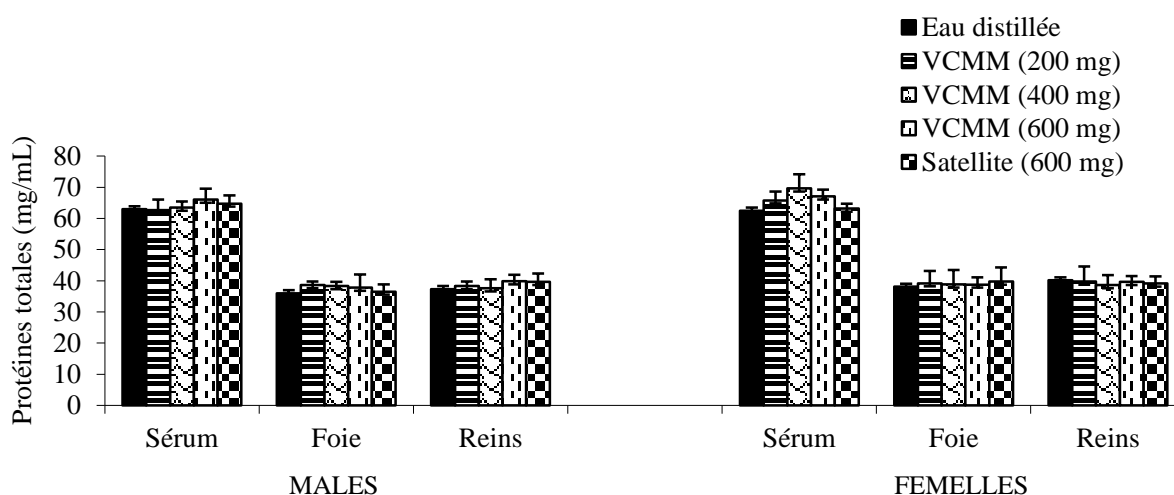


Figure 75 : Effets de l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* sur le taux protéines totales sérique et hépatique et rénale des rats en traitement subchronique.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; VCMM : extrait au mélange CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii*

III.1.11.2.7. Effets sur quelques marqueurs de la fonction hépatique

Les figures 76 A et B montrent que les concentrations sériques et hépatiques d'ASAT ou d'ALAT n'ont pas été modifiées chez les rats mâles et femelles après l'administration subchronique de l'extrait de plante. Il en est de même avec le taux de bilirubine sérique qui est resté inchangé aussi bien chez les rats mâles que chez les femelles après le traitement avec l'extrait de plante (Figure 76 C). Une baisse significative (24,35 % ; P < 0,05) du taux de bilirubine hépatique a été enregistrée chez les mâles à la dose de 600 mg/kg. Deux semaines après arrêt de l'administration de l'extrait (600 mg/kg), le taux de bilirubine hépatique est retourné vers une valeur proche du témoin (Figure 76 C).

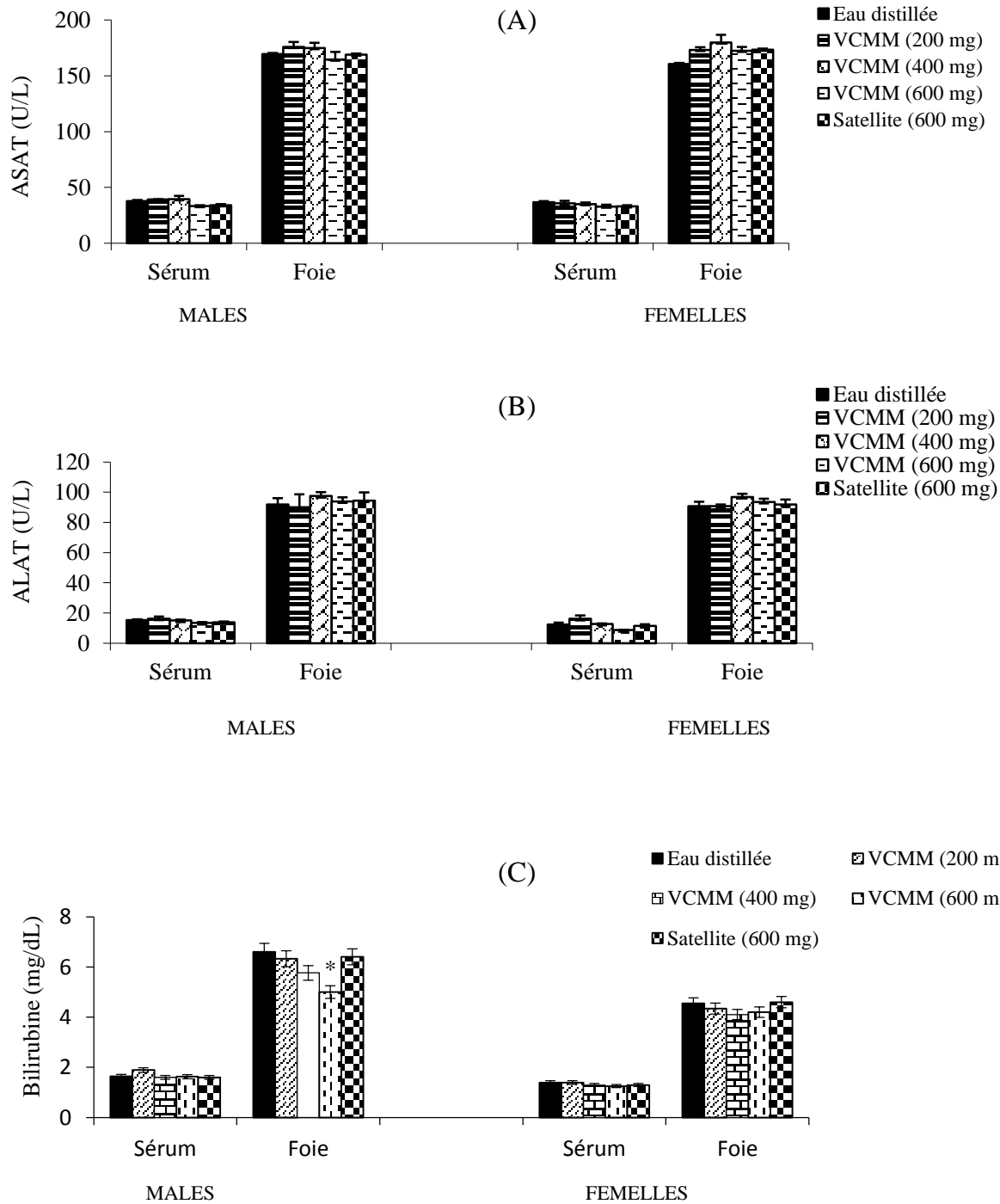


Figure 76 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur le taux d'ASAT (A), d'ALAT (B) et de bilirubine (C) sérique et hépatique des rats en traitement subchronique.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; n=5 ; * p < 0,05 différence significative par rapport au témoin; VCMM : extrait au mélange CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii*

III.1.11.2.8. Effets sur le taux de créatinine

La concentration en créatinine sérique ou rénale n'a pas subi de modifications significatives ($P > 0,05$) chez les rats mâles et femelles qui ont reçu l'extrait de plante pendant 4 semaines (Figure 77).

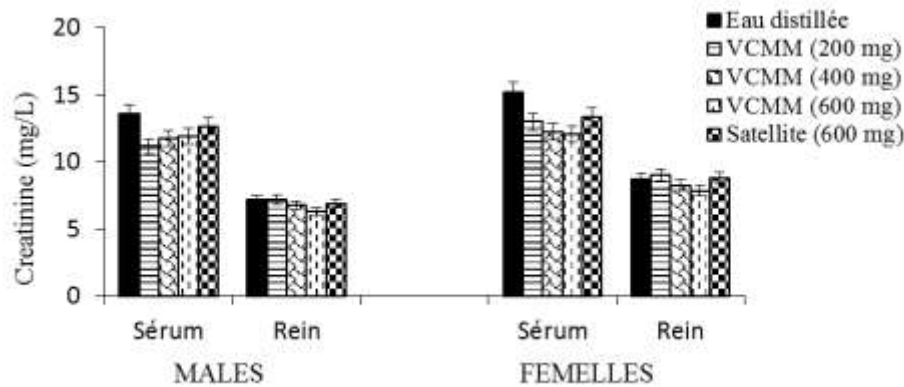


Figure 77 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur le taux de créatinine sérique et rénal des rats en traitement subchronique.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n=5$; VCMM : extrait au mélange CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii*

III.1.11.2.9. Effets sur le profil lipidique

Les effets du traitement subchronique des animaux à l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur profil lipidique sont présentés dans la figure 78. Il ressort de cette figure que les concentrations sériques en cholestérol total, en triglycérides, en cholestérol HDL et en cholestérol LDL n'ont pas été significativement modifiées chez les animaux des groupes tests par rapport au groupe témoin.

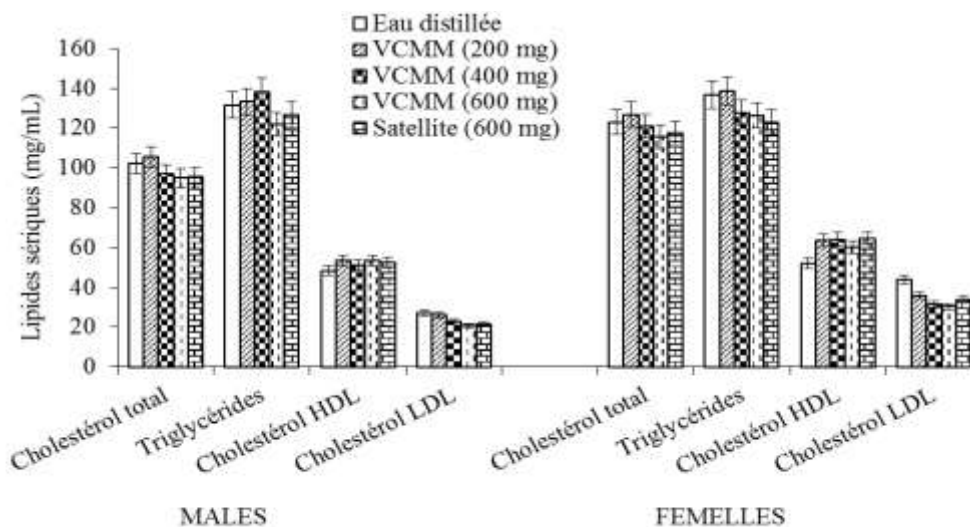


Figure 78 : Effets de l'extrait au CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* sur le profil lipidique des rats en traitement subchronique.

Chaque barre représente la moyenne \pm ESM ; $n=5$; VCMM : extrait au mélange CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii*

III.1.11.2.10. Effets sur la microstructure de l'aorte, du cœur, du foie et des reins

L'examen histologique du cœur des rats témoins montre des fibres musculaires (cardiomyocytes) avec leur noyau et du tissu conjonctif (endomysium) qui recouvre les cardiomyocytes. Dans cette étude, la microstructure du cœur n'a pas été affectée par le traitement des rats avec VCMM (Figures 79 A-E).

Les photographies de l'aorte des rats témoins présentent de la lumière vers l'extérieur du vaisseau, l'intima, la média et l'adventice. Aucune modification majeure n'a été observée au niveau de l'aorte des rats traités à l'extrait de plante en comparaison aux rats témoins (Figures 79 F-J).

Dans le foie des rats témoins, ont été observés des hépatocytes, une veine porte avec congestion vasculaire, et une artère hépatique. Des congestions vasculaires étaient présentes dans tous les autres groupes tests (Figures 80 K-O).

Dans les reins des rats témoins (Figures 80 P-T), ont été observés des glomérules, des tubes distaux et proximaux et un espace urinaire ayant un aspect normal. Cette microstructure n'a pas été modifiée dans les différents groupes tests.

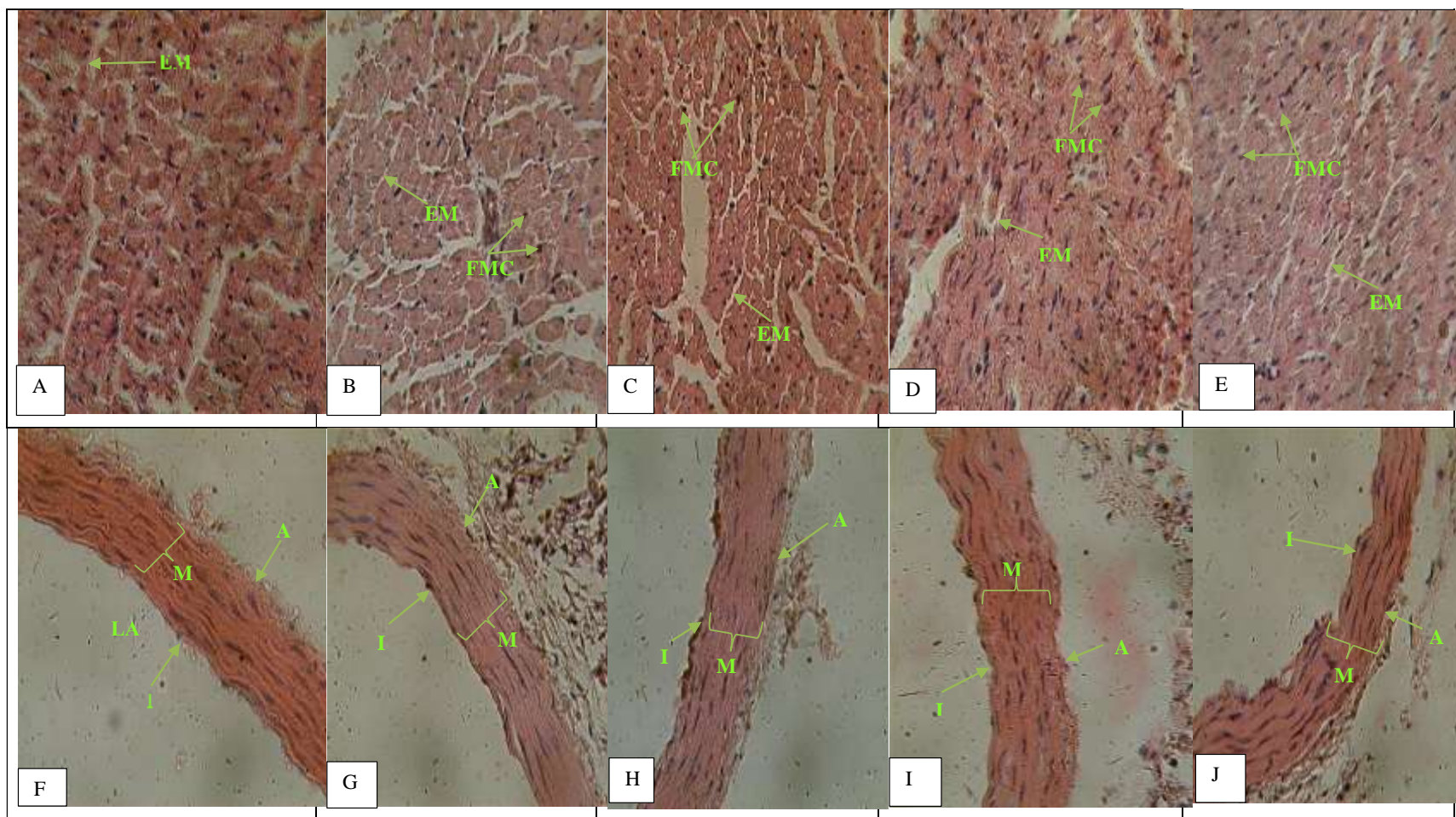


Figure 79 : Microphotographies du cœur (A, B, C, D, E) et de l'aorte (F, G, H, I, J) des rats témoins (A, F) et des rats traités avec l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cenkowskii* aux doses de 200 mg/kg (B, G), 400 mg/kg (C, H), 600 mg/kg (D, I) et des rats satellites traités avec la dose de 600 mg/kg (E, J).

Coloration à l'hématoxyline-éosine ; X 400. FMC : fibre musculaire cardiaque ; EM : endomysium ; LA : lumière aortique ; I : intima ; M : media ; A : adventice.

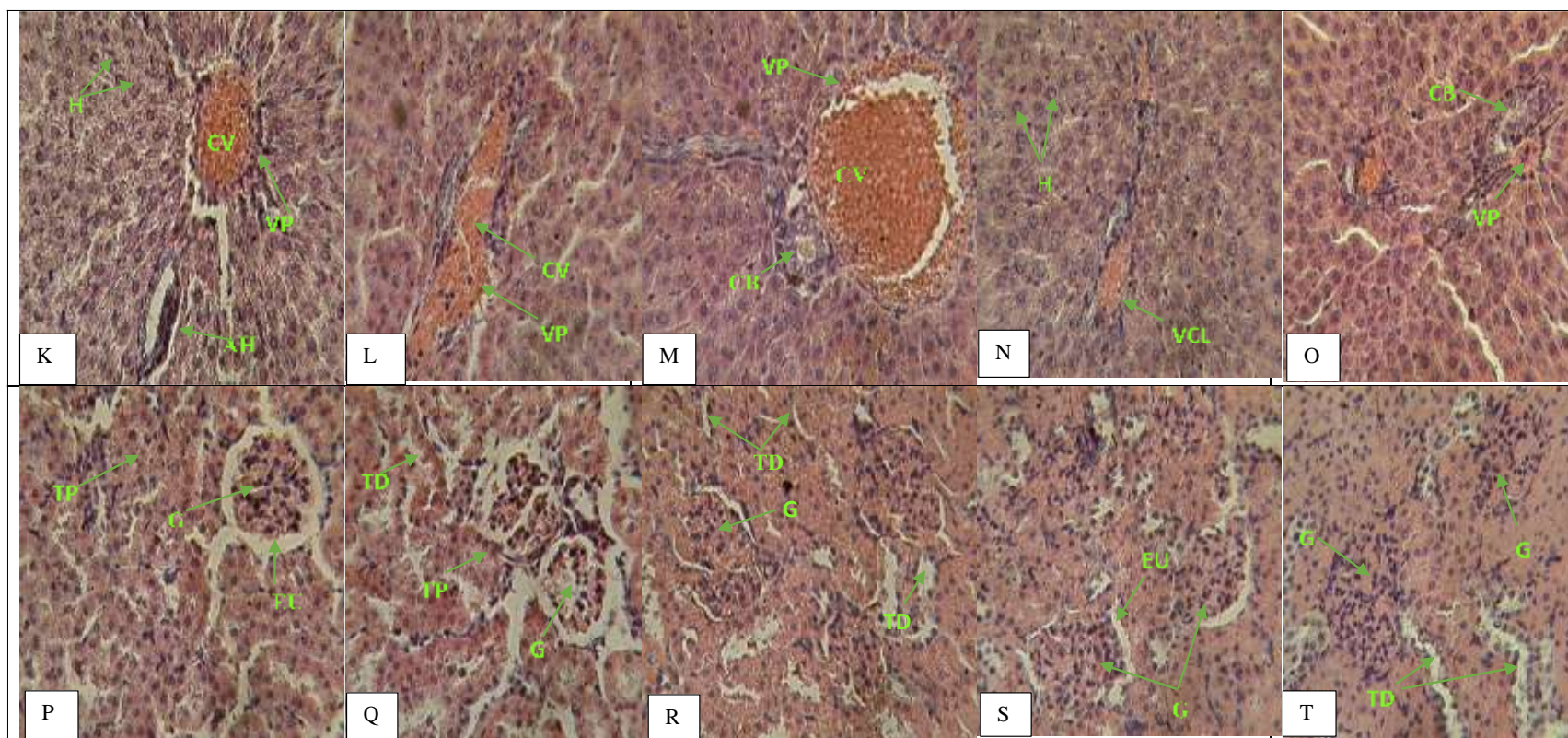


Figure 80 :Microphotographies du foie (K, L, M, N, O) et des reins (P, Q, R, S, T) des rats témoins (K, P) et des rats traités avec l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* aux doses de 200 mg/kg (L, Q), 400 mg/kg (M, R), 600 mg/kg (N, S) et des rats satellites traités avec la dose de 600 mg/kg (O, T).

Coloration à l'hématoxyline – éosine ; X 400. H : hépatocytes ; VP : veine porte ; AH : artère hépatique ; CB : canal biliaire ; CV : congestion vasculaire ; VCL : veine centrolobulaire ; G : glomérule ; EU : espace urinaire ; TP : tube proximal ; TD : tube distal.

III.2. Discussion

L'objectif principal de ce travail était d'évaluer les propriétés antihypertensives des extraits de *Vitex cenkowskii* chez le rat. Les effets hypotenseurs des extraits des écorces de *Vitex cenkowskii* et les mécanismes d'action qui y participent ont été évalués chez les rats normotendus. Les effets de l'extrait le plus actif a été évalué en étude préventive et curative sur plusieurs modèles d'hypertension artérielle notamment, l'hypertension induite par le N^ω-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), l'hypertension induite par la désoxycorticostérone acétate et le sel (DOCA-sel) et chez les rats spontanément hypertendus (SHR). Enfin les tests de toxicités aiguë et subchronique des extraits de *Vitex cenkowskii* ont été effectués afin d'en déterminer les limites d'utilisation.

L'administration intraveineuse de l'extrait aqueux (VCE) ou de l'extrait au mélange chlorure de méthylène/méthanol (VCMM) des écorces de *Vitex cenkowskii* a entraîné une chute immédiate, suivie d'une baisse progressive et lente de la pression artérielle moyenne (PAM) de manière dose-dépendante. La chute immédiate de la pression artérielle serait due à l'action des extraits de plante sur l'efficacité de la pompe cardiaque (Ebeigbe et Ezimokai, 1988), probablement par la baisse du débit cardiaque par réduction du volume d'éjection systolique (Asmar, 2007). La remontée rapide de la PAM s'expliquerait par un phénomène réflexe consécutif à l'importante sécrétion des catécholamines qui provoquent une stimulation du coeur et une vasoconstriction (Campagnaro *et al.*, 2012). La baisse progressive et lente de la pression artérielle moyenne (PAM) serait liée à la réduction des résistances périphériques. Ces résultats suggèrent que les différents extraits de *Vitex cenkowskii* auraient des effets au niveau du muscle cardiaque et des vaisseaux périphériques. L'administration intraveineuse de *Vitex cenkowskii* n'a pas significativement modifié la fréquence cardiaque des animaux. Ce résultat implique une action plus importante de *Vitex cenkowskii* au niveau des résistances vasculaires périphériques. Au cours de cette étude préliminaire, il apparait que VCMM en plus d'un effet hypotensif immédiat comme VCE, induit une activité hypotensive tardive et significative, d'où le choix porté sur cet extrait pour l'étude des mécanismes d'action de la plante.

Pour élucider les mécanismes d'action utilisés par *Vitex cenkowskii* pour induire l'hypotension observée, quelques voies d'action probables des composés bioactifs de l'extrait ont été explorées. Ainsi, l'effet hypotenseur de *Vitex cenkowskii* a été évalué avant et après blocage des récepteurs (β adrénergiques, M₂ muscariniques, H₂ histaminiques et centraux) par quelques antagonistes pharmacologiques bien connus. L'effet hypotenseur immédiat induit par

VCMM a été réduit par l'atropine, mais est restée inchangé par l'administration du propranolol, de la cimétidine et de la réserpine. L'hypotension tardive qui constitue la seconde phase a été diminuée en présence de ces différents antagonistes. L'atropine est un antagoniste compétitif des récepteurs cholinergiques muscariniques (Finkel *et al.*, 2009), le propranolol, un antagoniste non spécifique des récepteurs β adrénergiques (Praman *et al.*, 2011), la cimétidine, un antagoniste des récepteurs histaminiques H_2 (Brimblecombe *et al.*, 2010) et la réserpine, un inhibiteur de l'action du système sympathique au niveau central (Mandela *et al.*, 2010 ; Frishman et Sica, 2011). Ces résultats suggèrent que VCMM auraient des effets hypotenseurs cardiaques par médiés les récepteurs cholinergiques muscariniques, et des effets hypotenseurs vasculaires via les récepteurs cholinergiques muscariniques dont l'activation induirait la production de l'oxyde nitrique (NO), mais aussi par les récepteurs beta 2 adrénergiques, H_2 histaminiques, en partie via la voie Gs/AMPC/PKA. Au niveau cardiaque, l'activation des récepteurs M_2 muscariniques entraîne une ouverture des canaux potassiques et la sortie du potassium de la cellule. Il s'en suit une hyperpolarisation des cardiomyocytes suivie de la baisse de la force de contraction du myocarde responsable de la baisse du volume d'éjection systolique. La baisse du débit cardiaque qui en résulte entraîne la chute brusque de la pression artérielle. Au niveau vasculaire, VCMM augmenterait la biodisponibilité NO, après l'activation des récepteurs M_2 muscariniques. Le NO produit diffuse dans les cellules musculaires lisses sous-jacentes où il activerait la guanylyl cyclase soluble responsable de l'hydrolyse du GTP en GMPc. VCMM se fixerait aussi sur les récepteurs beta 2 adrénergiques, H_2 histaminiques vasculaires pour activer la voie Gs/AMPC/PKA. L'augmentation du GMPc ou l'AMPC résultante de l'activation de ces différents récepteurs par VCMM, conduit à une augmentation respective des taux de PKG et PKA qui va engendrer une cascade de réactions de phosphorylations protéiques, impliquées dans le recaptage et l'extrusion du calcium de la cellule. La baisse du calcium libre intracellulaire qui en résulte, va conduire à la relaxation de la fibre musculaire lisse vasculaire suivie de la réduction de la pression artérielle. Ces résultats confirment les travaux antérieurs *in vitro* qui montraient que le L-NAME et le ODC, inhibiteurs respectifs de la production du NO et de la guanylyl cyclase, réduisaient significativement la réponse vasodilatatrice de VCMM sur les anneaux d'aorte des rats (Dongmo *et al.*, 2011). Cet effet hypotenseur de VCMM pourrait être attribué aux composés bioactifs qui le constituent. En effet, le tetra-acétylajugasterone, un composé isolé de VCMM, serait capable de stimuler la voie NO/GMPc, et ainsi de réduire le calcium intracellulaire, en inhibant son entrée dans la cellule et sa libération à partir des réserves intracellulaires (Dongmo *et al.*, 2014). La réduction

de l'hypotension prolongée par la réserpine suggère une activité sympatholitique de l'extrait de plante qui pourrait être due à une déplétion du stock de catécholamines (Frishman et Sica, 2011).

Notre étude a montré une activité hypotensive immédiate qui serait due à l'action des composés bioactifs contenus dans l'extrait sur la pompe cardiaque. Pour élucider l'action de VCMM sur la fonction cardiaque, nous avons évalué *in vitro* les effets de cet extrait de plante sur les cardiomyocytes isolés de rats adultes. VCMM a induit un effet lusitrope négatif (réduction de la vitesse de relaxation du myocarde) et un effet inotrope positif dose dépendante. La réponse inotrope positive a été inhibée par la nicardipine, mais est restée inchangée après administration du bisoprolol, ce qui permet d'exclure une fois de plus l'implication des récepteurs beta adrénergiques cardiaques dans l'induction de cette activité de *Vitex cienkowskii*. La nicardipine est un inhibiteur calcique de la famille des dihydropyridines, qui bloque la pénétration du calcium extracellulaire par les canaux calciques voltage-dépendants de type L, avec pour conséquence la baisse du calcium intracellulaire (Ram, 2014). Il sera alors observé une relaxation du cardiomyocyte (Mahé *et al.*, 2003). L'inhibition de l'effet inotrope positif de l'extrait de plante par la nicardipine suggère que, VCMM activerait les canaux calciques voltages dépendant de type L du cardiomyocyte, ce qui conduirait à un influx du calcium extracellulaire dans la cellule cardiaque, puis à l'élévation de la concentration intracellulaire en calcium responsable de l'augmentation la force de contraction du myocarde. Par ailleurs, il est connu qu'en diastole, la phosphorylation du phospholamban (PLB), protéine régulatrice de la protéine SERCA va libérer celle-ci de l'effet inhibiteur du PLB et ainsi, favoriser la recapture rapide du calcium dans le réticulum responsable d'un effet lusitrope positif (Periasamy et Janssen, 2009). Il a aussi été reporté que, l'effet inotrope positif d'une drogue peut aussi être la conséquence d'une augmentation de la sensibilité des protéines contractiles au calcium, et/ou d'une activation de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. Ainsi, une forte implication de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ dans la réponse inotrope positive du carbachol sur les cardiomyocytes ventriculaires de rat a été décrite (Cui *et al.*, 2007). Dans cette étude, il a été observé un effet lusitrope négatif de l'extrait. Ce résultat vient une fois de plus montrer que les composés bioactifs de cet extrait interféreraient avec l'homéostasie calcique. La diminution de la vitesse de relaxation du myocarde peut résulter soit, d'une diminution de l'activité des SERCA induisant un ralentissement de la recapture du calcium par le réticulum endoplasmique, soit d'une baisse de l'activité de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ou de la pompe Ca^{2+} -ATPase. Des tests ultérieurs permettront de mieux élucider les effets de VCMM sur la fonction cardiaque.

L'inhibition ou le déficit chronique de l'oxyde nitrique dans l'organisme, la variation sérique de certains ions et même la volémie peuvent être à l'origine de nombreuses pathologies telles que l'hypertension artérielle (Bernatova *et al.*, 2002 ; Fürstenau *et al.*, 2010). Les effets antihypertenseurs de VCMM ont été évalués sur différents modèles expérimentaux d'HTA. Dans cette étude, il ressort que l'administration subchronique de L-NAME ou de DOCA-sel chez les rats normaux, a entraîné une augmentation significative de la pression artérielle. De nombreux chercheurs ont obtenu une élévation de la pression artérielle suite à une administration subchronique de L-NAME (Kang *et al.*, 2002; Tsuchiya *et al.*, 2010) ou de DOCA-sel (Veeramani *et al.*, 2011). Le L-NAME est un analogue compétitif de la L-arginine, qui bloque la production du NO par les cellules endothéliales, active le système rénine-angiotensine-aldostérone, augmente l'activité du système sympathique avec pour conséquence, l'élévation des résistances vasculaires périphériques et l'augmentation de la pression artérielle (Kang *et al.*, 2002; Tsuchiya *et al.*, 2010). L'administration subchronique de DOCA-sel est également associée à un dysfonctionnement endothéliale marqué par une diminution de la biodisponibilité en NO (Jiménez *et al.*, 2007). C'est un minéralocorticoïde synthétique qui induit la rétention de sodium qui est accentuée lorsque ce dernier est ingéré en grande quantité. En effet, la DOCA stimule la production de l'aldostérone qui va induire la réabsorption du sodium au niveau des tubes distal et collecteur. L'hypertonie du milieu intérieur qui en résulte, stimule la sécrétion de l'ADH, et ainsi la réabsorption de l'eau, d'où une augmentation de la volémie, conduisant à l'installation d'une hypertension artérielle volume-dépendant (Veeramani *et al.*, 2011). VCMM administré aux doses de 200 et 400 mg/kg, a prévenu et corrigé l'élévation de la pression artérielle observée chez les rats rendus hypertendus par le L-NAME ou la DOCA-sel. L'effet antihypertenseur de VCMM enregistré chez les rats rendus hypertendus par le L-NAME, pourrait être attribué à une l'augmentation de la concentration en NO tel que montrée par l'évaluation du taux tissulaire de nitrites dans nos études. Ces résultats confirment l'observation relevée plus haut selon laquelle VCMM serait capable d'activer les récepteurs cholinergiques muscariniques, et d'induire par-là une augmentation du NO conduisant à une vasorelaxation et une baisse de la pression artérielle. VCMM a significativement réduit, les concentrations sériques de sodium et de chlore, et augmenté la kaliémie des rats rendus hypertendus par la DOCA-sel. Les effets bénéfiques des plantes sur les électrolytes sanguins des animaux soumis à un régime hypersodé avaient déjà été mentionnés. En effet, Ikewuchi *et al.* en 2013 avaient observé une baisse de la natrémie et une augmentation de la kaliémie, après administration de l'extrait aqueux de *Pleurotus tuberregium*,

chez des rats qui recevaient une surcharge chronique en sel. La baisse de natrémie et l'augmentation de la kaliémie suite à l'administration de VCMM chez les rats rendus hypertendus par la DOCA-sel, pourrait traduire de façon indirecte, respectivement l'augmentation de la natriurèse et la diminution de l'excrétion de potassium. Ce résultat suggère que VCMM pourrait agir comme un diurétique épargneur de potassium pour réduire la pression artérielle des rats rendus hypertendus par la DOCA-sel. Un effet diurétique de VCMM pourrait être probable, si l'on s'en tient à l'un de ses constituants, l'acide oléanolique dont les effets diurétiques ont déjà été mentionnés par Bachhav *et al.* en 2011. En plus de son effet bénéfique sur la fonction endothéliale, la réduction de la natrémie et l'augmentation de la kaliémie pourraient être des voies utilisées par VCMM pour empêcher et corriger l'hypertension artérielle observée chez les rats rendus hypertendus par la DOCA-sel. Le captopril (25 mg/kg) et l'aldactone (25 mg/kg) ont significativement prévenu et corrigé l'hypertension artérielle dans les modèles L-NAME et DOCA-sel, respectivement. Le captopril est un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, qui va augmenter l'activité de la NO synthase et bloquer la production de l'angiotensine II. Il s'en suit une baisse des résistances périphériques et une baisse du taux d'aldostérone et de ce fait, une réduction de la rétention de sels et d'eau, conduisant à la baisse de la pression artérielle (Miguel-Carrasco *et al.*, 2010; Gasparatto *et al.* 2010). De même, il est mentionné que le captopril possède un groupement « thiol » capable d'altérer les canaux calciques voltage dépendants de la membrane cellulaire, et d'induire par là la baisse du calcium intracellulaire, responsable de la relaxation des fibres lisses vasculaires, de la baisse des résistances vasculaires périphériques et par conséquent, de la réduction de la pression artérielle (Houston, 2005 ; Pechanova, 2007). L'aldactone (spironolactone), un antagoniste compétitif de l'aldostérone inhibe l'action de celui-ci. Il sera alors observé une diminution de la réabsorption du sodium et du chlore (au niveau du tubule distal et des tissus épithéliaux tels que le colon, les glandes salivaires et la peau) et une diminution de l'excrétion du potassium et de magnésium (Chun *et al.*, 2002 ; Jeunesse *et al.*, 2007). L'augmentation de l'excrétion du sodium qui s'en suit, conduit à une augmentation de l'excrétion d'eau (diurèse osmotique) avec pour conséquence, la baisse de la volémie et de la pression artérielle.

La fréquence cardiaque des animaux n'a pas été modifiée suite à l'administration de VCMM dans ces deux modèles d'hypertension artérielle. Cette observation conforte l'idée selon laquelle la diminution des résistances vasculaires périphériques et une modification de la balance hydrosodée pourraient être les voies utilisées par *Vitex cienkowskii* pour réduire la pression artérielle.

Au regard des résultats bénéfiques de VCMM sur les modèles d'hypertensions modérées précédents, nous nous sommes proposés de vérifier l'effet de cet extrait de plante, chez les rats spontanément hypertendus (SHR), un excellent modèle d'hypertension expérimentale qui mime l'hypertension essentielle chez l'homme (Badyal *et al.*, 2003). Les résultats de cette étude montrent que le traitement des rats SHR avec VCMM à la dose de 400 mg/kg, a entraîné au terme de 6 semaines de traitement, une baisse non significative de PAS et significative des PAD, PAM et de la fréquence cardiaque. Le temps mis par VCMM pour exprimer son activité antihypertensive (6^{ème} semaine), suggère la mise en jeu des mécanismes physiologiques complexes tels que l'amélioration de la fonction endothéliale. Pour confirmer cet effet bénéfique de VCMM sur la fonction endothéliale des SHR, la réactivité vasculaire à l'ACh, au NPS et à l'ionophore calcium (A23187) a été évaluée sur les anneaux d'aortes des SHR traités et non traités à la fin de l'expérimentation. Il est ressorti de cette expérience, une amélioration significative de la relaxation de l'aorte à l'ACh, au NPS et une amélioration non significative à l'A23187 chez les SHR traités comparés aux SHR non traités. L'amélioration de la vasodilatation à l'ACh chez les SHR traités témoigne une fois de plus l'activité de VCMM sur l'endothélium où il stimulerait la production des EDRF tels que le NO au cours d'un traitement aigu ou subchronique. L'amélioration de la réactivité vasculaire au NPS pourrait traduire la mise en jeu par de l'extrait de plante, des mécanismes qui assureraient la biodisponibilité du NO dans le muscle lisse vasculaire des SHR. Cette observation pourrait témoigner l'inhibition partielle de l'activité hypotensive de VCMM par l'atropine lors de l'étude des mécanismes d'action de l'extrait de plante. Des tests approfondis seront réalisés pour mieux élucider cet effet. L'amélioration non significative de la réponse vasodilatatrice à l'ionophore calcium, pourrait traduire une aptitude de VCMM à assurer les voies et moyens nécessaires, à l'augmentation du calcium dans la cellule endothéliale des SHR traités. Les effets observés pourraient être attribués aux substances bioactives de VCMM telles que les triterpénoïdes pentacycliques et les flavonoïdes, dont les activités vasorelaxantes ont été démontrées (Koh *et al.*, 2007; Dongmo *et al.*, 2011, 2014).

Outre les effets cardiovasculaires de l'oxyde nitrique, plusieurs études ont montré sa forte implication dans la régulation du comportement alimentaire des animaux (Morley et Flood, 1992 ; Morley *et al.*, 1996 ; Czech, 1998). L'administration subchronique de VCMM a prévenu et corrigé significativement le ralentissement de la prise pondérale enregistré chez les rats rendus hypertendus par le L-NAME et la DOCA-sel. Le ralentissement de la prise pondérale pourrait s'expliquer par la baisse de la prise alimentaire observée dans ces groupes

de rats hypertendus non traités et NO déficients. En effet, il a été mentionné que le NO augmente l'appétit, par l'élévation des peptides orexigènes et la baisse des peptides anorexigènes (Czech *et al.*, 1998; Czech *et al.*, 2003; Farr *et al.*, 2005). Ceci nous amène à penser que l'amélioration de la prise alimentaire suite au traitement des animaux avec l'extrait de plante pourrait être liée à l'augmentation de la concentration en NO observée dans cette étude. Le traitement des animaux avec VCMM a prévenu et corrigé l'élévation de la prise hydrique observée chez les rats rendus hypertendus avec le L-NAME ou la DOCA-sel. Le captopril et l'aldactone ont significativement réduit la consommation d'eau des rats hypertendus. L'oxyde nitrique est également impliqué dans la régulation de la prise hydrique des rats (Abrao Saad *et al.*, 2004). En effet, la diminution de la concentration en NO induit une augmentation de la concentration d'angiotensine II, un médiateur physiologique important de la soif. L'angiotensine II produit, entraîne une l'augmentation de l'osmolalité du plasma responsable de la stimulation des osmorécepteurs du centre hypothalamique de la soif. La sensation de soif se fait alors ressentir et conduit à l'ingestion d'eau (Marieb, 1998). Ainsi, chez les rats rendus hypertendus par le L-NAME, la réduction de la prise d'eau induite par VCMM pourrait être liée à l'augmentation de la biodisponibilité de NO, et par ricochet à une baisse du taux d'angiotensine II conduisant à une baisse de la soif et de la prise d'eau. L'augmentation de la consommation d'eau enregistrée chez les rats rendus hypertendus par la DOCA-sel serait due à l'élévation de l'osmolalité du plasma suite à la rétention massive de sodium. Ceci suggère que la réduction de la natrémie observée dans cette étude, pourrait aussi être une voie d'action probable utilisée par VCMM pour réduire la soif, et de ce fait, la prise d'eau.

L'hypertension artérielle est un facteur de risque majeur, pouvant entraîner des dommages tissulaires caractérisés par, un remodelage cardiaque (Bernatova *et al.*, 2000 ; Panchal *et al.*, 2011), une altération de la relaxation endothéliale (Zanfolin *et al.*, 2006) et une altération des fonctions rénales et hépatiques (Zanfolin *et al.*, 2006 ; Panchal *et al.*, 2011 ; Jaffri *et al.*, 2011). Une augmentation significative du poids relatif du ventricule gauche a été enregistrée chez les rats rendus hypertendus avec le L-NAME, la DOCA-sel et chez les SHR. L'hypertrophie ventriculaire gauche est une réponse d'adaptation du myocarde, suite à l'augmentation de pression ou de volume, dans le but de maintenir ou d'accroître le débit cardiaque (Pechanova et Bernatova, 2000 ; Khattab *et al.*, 2005). L'étirement mécanique dû à la post-charge entraîne une surexpression des récepteurs AT₁ de l'angiotensine. L'angiotensine II produit va inciter la croissance des cardiomyocytes et la synthèse du collagène, ce qui va conduire à l'augmentation de la masse du ventricule (Miguel-carrasco *et al.*, 2010). Dans les

modèles L-NAME et SHR, l'hypertrophie ventriculaire gauche est liée à la fibrose et au remodelage des cellules cardiaques suite à la baisse de NO (Bernatova *et al.*, 2000). Cependant, il est connu que la réduction du NO augmente l'activité de la rénine, qui va activer l'enzyme de conversion de l'angiotensine, et conduire ainsi à l'élévation du taux d'angiotensine II (Takemoto *et al.*, 1997). Dans le modèle DOCA-sel, l'hypertrophie ventriculaire gauche est également marquée par une réduction du NO, mais aussi et surtout, à l'augmentation du volume sanguin, suite à l'hyperactivité de l'aldostérone (Ambroisine *et al.*, 2004 ; Veeramani *et al.*, 2011). Le captopril et l'aldactone ont prévenu et corrigé l'hypertrophie ventriculaire observée chez les rats rendus hypertendus respectivement avec le L-NAME et la DOCA-sel. Plusieurs études ont montré que les inhibiteurs de l'ECA, pouvait réduire l'hypertrophie ventriculaire gauche des rats hypertendus en réduisant l'expression des récepteurs AT₁ de l'angiotensine II, et en augmentant l'expression de l'oxyde nitrique synthase endothéliale (Afkir *et al.*, 2007 ; Miguel-carrasco *et al.*, 2010). De même, Ambroisine *et al.* (2004) ont montré que, en réduisant l'hypertension artérielle, l'aldactone réduit progressivement la synthèse de collagène, puis la fibrose cardiaque, et de ce fait l'hypertrophie ventriculaire. Ces observations nous amènent à penser que le traitement de l'hypertrophie ventriculaire par VCMM pourrait être dû à la baisse de la pression artérielle consécutive à l'élévation du NO. De même, la réduction du taux d'angiotensine II, pourrait également être une voie utilisée par cet extrait de plante pour corriger l'hypertrophie ventriculaire car, les flavonoïdes qui le constituent, inhibent l'enzyme de conversion de l'angiotensine, diminuant de ce fait la production d'angiotensine II (Gasparotto *et al.*, 2010). En plus dans le modèle d'hypertension induite par la DOCA, il a été démontré la présence d'un taux plasmatique élevé en endothéline-1 (ET-1). L'effet de cette substance sur l'hypertrophie des cardiomyocytes a été déjà reporté *in vivo* et *in vitro* chez les rats ainsi que sur la mobilisation intracellulaire en calcium (Ito *et al.*, 1991). L'activation de la protéine kinase C par le diacylglycérol formé par la phospholipase C, et l'activation de l'endothéline (ET-1) serait l'une des voies par laquelle l'ET-1 induit l'hypertrophie des cardiomyocytes. Ainsi VCMM pourrait également agir en réduisant l'expression des récepteur ET-1 ou en inhibant l'activité de cette substance (Shubeita *et al.*, 1990). La réduction du rythme contraction/relaxation des cardiomyocytes induit par VCMM pourrait diminuer le travail du myocarde, et conduire ainsi à une réduction de l'hypertrophie ventriculaire. Des travaux supplémentaires seront nécessaires pour élucider l'activité de l'extrait de plante dans le traitement de l'hypertrophie ventriculaire.

Le rein joue un rôle prépondérant dans le maintien de l'équilibre de l'organisme en eau et en électrolytes. Son fonctionnement est généralement altéré dans les états physiopathologiques tels que l'hypertension artérielle (Jaffri *et al.*, 2011). Les troubles rénaux causés par l'hypertension artérielle peuvent être corrigés par de nombreuses substances pharmacologiques. Dans cette étude, le traitement subchronique des animaux avec le L-NAME, n'a pas modifié la masse rénale des animaux. Ce qui pourrait traduire un effet inoffensif du L-NAME au niveau des reins. Cependant, une augmentation significative du taux de créatinine sérique et rénale a été observée chez les animaux hypertendus non traités. VCMM a significativement réduit l'activité de la créatinine sérique et rénale des rats hypertendus. Des études ont montré que l'inhibition chronique du NO au niveau rénal peut entraîner des perturbations graves de la régulation hémodynamique rénale et de la microcirculation glomérulaire (Baylis *et al.*, 1992 ; Tsuchiya *et al.*, 2010). L'augmentation du taux de NO rénal enregistrée dans cette étude, pourrait être à l'origine de l'effet bénéfique de cet extrait de plante sur la fonction rénale des rats rendus hypertendus par le L-NAME. Chez les rats rendus hypertendus par la DOCA-sel, une augmentation significative du poids relatif des reins a été enregistrée. Des résultats similaires avaient été obtenus par Chen *et al.* (2010). L'augmentation de masse rénale dans ce modèle, traduit une atteinte rénale liée à l'élévation du taux d'aldostérone (Ambroisine *et al.*, 2004). La hausse du taux de créatinine enregistrée chez les rats rendus hypertendus par la DOCA-sel, marque le dysfonctionnement des reins. La réduction du taux de créatinine rénale et sérique par VCMM pourrait être due à sa capacité à réduire les concentrations sériques en sodium et en chlore, et à élever la kaliémie des rats hypertendus, bref à inverser les effets de l'aldostérone.

La microcirculation hépatique est unique parce que plus de 90 % du volume sanguin passe par la veine porte hépatique. La perfusion insuffisante du foie, qui peut être observée dans plusieurs modèles d'hypertension, peut y entraîner des dommages graves marqués par l'augmentation de l'activité des enzymes hépatiques (Jaffri *et al.*, 2011 ; Prahalathan *et al.*, 2012). Le poids relatif du foie des animaux qui ont reçu le L-NAME pendant 56 jours et la DOCA-sel a augmenté significativement par rapport au témoin. VCMM aux doses de 200 et 400 mg/kg, a corrigé l'augmentation des activités sérique et hépatique d'ALAT et d'ASAT, chez les rats rendus hypertendus par le L-NAME ou par la DOCA-sel. VCMM a réduit significativement le taux de bilirubine totale sérique et hépatique, aussi bien chez les rats rendus hypertendus par la DOCA-sel que chez les rats rendus hypertendus par le L-NAME, que chez les rats normaux. Ces résultats traduisent un effet hépatoprotecteur de VCMM. Cet effet

pourrait être lié à l'amélioration du taux de NO hépatique observé dans cette étude. En effet, il est fortement documenté que l'augmentation de la concentration hépatique en NO améliore la microcirculation du foie (Jaffri *et al.*, 2011), lui permettant d'assurer pleinement ses multiples fonctions parmi lesquelles le contrôle du métabolisme des lipides plasmatiques (Cohn *et al.*, 2010).

L'hypertension artérielle qui est caractérisée par des altérations structurelles et fonctionnelles de la membrane cellulaire, est le plus souvent associée à d'important troubles métaboliques tels le métabolisme lipidique (Labreuche *et al.*, 2009; Feng *et al.*, 2011 ; Veeramani *et al.* (2012) ; Wang *et al.*, 2015 ;). Le duo hypertension artérielle et dyslipidémie représente la principale cause de morbidité et de mortalité chez les personnes souffrantes de troubles cardiovasculaires (Wang *et al.*, 2015). La réduction du taux de lipides plasmatiques constitue donc une méthode efficace pour prévenir et traiter les affections cardiovasculaires (Feng *et al.*, 2011). L'administration chronique du L-NAME ou de la DOCA-sel chez les rats a entraîné une augmentation du taux de cholestérol total, de triglycérides, de cholestérol LDL et une baisse du taux de cholestérol HDL sérique. Ces modifications ont été significativement inversées par le traitement des animaux avec VCMM. Ces résultats vont dans le même sens que ceux obtenus par Saravanakumar et Raja en 2012, qui ont montré que le blocage de la NOS par le L-NAME, pouvait conduire à une altération du métabolisme lipidique. De même, les effets hyperlipidémiques d'une administration subchronique de la DOCA-sel chez les rats, suite à l'altération de la membrane cellulaire ont été mentionnés (Veeramani *et al.*, 2012 ; Wang *et al.*, 2015). En effet, la baisse de NO au niveau du foie réduit sa perfusion microvasculaire. Ceci peut altérer grandement la fonction hépatique et induire des perturbations du métabolisme lipidique (Saravanakumar et Raja, 2012). L'augmentation du taux de cholestérol HDL est responsable de la baisse de cholestérol total, en ce sens où il réduit le cholestérol total circulant pour le stocker dans le foie (Veeramani *et al.*, 2012). Ces observations suggèrent que VCMM aurait produit ces effets grâce à sa capacité à augmenter le NO hépatique tel que observé dans cette étude. Des auteurs ont également montré que certains composés présents dans l'extrait de plante tels que les flavonoïdes, possèdent des propriétés inhibitrices de l'hydroxyl methyl glutanyl CoA réductase (HMG-CoA), une enzyme qui réduit la synthèse du cholestérol au niveau du foie, et limite son absorption intestinale, en réduisant sa solubilité en micelles (Feng *et al.*, 2011). Les flavonoïdes contenus dans VCMM pourraient donc être responsable de l'effet bénéfique de cet extrait de plante sur la lipidémie des rats hypertendus. Le taux de triglycérides traduit l'état fonctionnel des phospholipides de la membrane plasmique qui sont responsables

de leur transport. Ainsi, l'élévation du taux de triglycérides observée chez les rats hypertendus pourrait traduire des dommages au niveau de la membrane plasmique, causés par une augmentation de la peroxydation lipidique (Veeramani *et al.*, 2012). Ces résultats nous amènent à penser que, la baisse des triglycérides suite au traitement avec VCMM, pourrait suggérer un effet protecteur de cet extrait de plante contre la peroxydation lipidique, à l'origine du stress oxydant, non moins impliqué dans la pathologie de l'hypertension artérielle.

Il est bien établi que l'hypertension artérielle est associée à un accroissement du taux d'espèces réactives à l'oxygène. Plusieurs études ont montré une altération du statut oxydatif des rats rendus hypertendus par le L-NAME (Huet et Duranteau, 2008 ; Alam *et al.*, 2013) ou la DOCA-sel (Jiménez *et al.*, 2007; Veeramani *et al.*, 2011) et une amélioration de la pression artérielle après un traitement antioxydant (Kukongviriyapan *et al.*, 2015). En effet, l'augmentation de l'activité de la NADPH oxydase réduite, observée chez les animaux hypertendus, induit un accroissement des radicaux libres responsables d'un dysfonctionnement endothélial et d'une activation du système rénine angiotensine aldostérone (Zalba *et al.*, 2000 ; Zhou *et al.*, 2003). Dans cette étude, le traitement des animaux avec le L-NAME ou la DOCA-sel a entraîné une altération significative du statut oxydatif marquée par, une augmentation de la concentration en malondialdéhyde (MDA), une baisse du taux de NO et de glutathion réduit, une baisse des activités de la SOD et de la catalase dans plusieurs organes tels l'aorte, le cœur, le foie et les reins. L'administration subchronique de VCMM aux doses de 200 et 400 mg/kg a significativement prévenu et corrigé les modifications observées chez les rats hypertendus. Des études antérieures montraient déjà que, VCE et VCMM possèdent un fort pouvoir antiradicalaire *in vitro*, dû à leur capacité à piéger le radical libre 1,1-diphényle-2-picrylhydrazyle (DPPH), avec un effet plus marqué pour VCMM (Dongmo *et al.*, 2011). Le DPPH est un radical libre qui peut se combiner au radical hydrogène (H[•]) pour devenir une molécule diamagnétique. Cette réaction permet de mettre en évidence l'aptitude des composés à agir comme piègeurs du radical libre ou donneurs d'hydrogène, mais aussi pour l'évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de plantes *in vitro* (Ziying *et al.*, 2007). Ces observations suggèrent que ces deux extraits de plante pourraient contenir des substances bioactives capables de donner des protons ou des atomes d'hydrogènes à la molécule de DPPH. En outre, l'aptitude d'un extrait de plante à piéger le radical DPPH est aussi fonction de la quantité de composés phénoliques et du nombre de groupement hydroxyle présent sur le composé phénolique (Masoko et Ellof, 2007). La baisse de l'oxyde nitrique observée chez les rats hypertendus traduit la présence d'un stress oxydant. Il est admis que l'hyperproduction de l'anion superoxyde en

situation de stress oxydant est responsable de la diminution de la biodisponibilité du monoxyde d'azote conduisant à un dysfonctionnement endothélial (Beaudeau *et al.*, 2006). L'augmentation du NO observée suite au traitement avec VCMM, confirme une fois de plus la capacité de cet extrait de plante à améliorer la fonction endothéliale chez les rats hypertendus par le L-NAME ou la DOCA-sel. L'augmentation du taux de MDA observée chez les rats hypertendus traduirait, une augmentation des ROS consécutive à la baisse des systèmes de défenses antioxydantes enregistrée dans cette étude. En effet, il a été démontré que dans les cellules, la peroxydation lipidique est sous le contrôle d'un système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique. Ainsi, l'élévation de la peroxydation lipidique apparaît comme le point de départ qui conduit les tissus vers un état de stress oxydatif. Les radicaux libres réagissent avec toutes les substances biologiques, dont les plus importantes sont les acides gras polyinsaturés des lipoprotéines ou de la membrane cellulaire. Ces réactions conduisent à la peroxydation lipidique qui produit des hydroperoxydes instables, responsables de la diminution de la fluidité membranaire. L'un des marqueurs principal de la peroxydation lipidique est le MDA. Ainsi, la baisse de MDA chez les rats qui ont reçu l'extrait de plante révèle un effet protecteur de la plante contre le stress oxydant. Cette activité de la plante peut être attribuée à l'un de ces constituants, l'acide maslinique, un triterpénoïde dont les activités piègeuse des radicaux libres et chélatrice du cuivre *in vitro* ont été démontrées par Allouche *et al.* (2010). Cet effet peut également être lié aux flavonoïdes contenus dans cet extrait de plante et dont la capacité inhibitrice de l'oxydation des lipoprotéines a été mise en évidence par Velayutham *et al.* (2008).

Le glutathion qui peut se présenter sous la forme réduite ou oxydée, est une substance de nature peptidique synthétisée par le foie et dont le rôle principal est de protéger les tissus contre l'oxydation. Il est synthétisé dans le foie en présence de la glutathion synthétase. Le glutathion réduit est oxydé en glutathion oxydé en présence de la glutathion peroxydase elle-même activée par le sélénium. Cette réaction d'oxydation permet d'éponger les radicaux libres, tout en régénérant le glutathion. Il joue le rôle de donneur du groupe sulfhydryle ou thiol (SH) pour les réactions de détoxifications. La baisse du GSH chez les rats hypertendus serait due à sa conversion en GSSG dans le but d'éponger les espèces réactives à l'oxygène généralement élevées dans cette pathologies (Veeramani *et al.*, 2011). L'augmentation de GSH dans l'aorte, le cœur, le foie et les reins des rats traités avec VCMM témoigne de son réel effet protecteur contre le stress oxydant, et plus loin contre l'hypertension artérielle. En effet, Ford *et al.* en

2006 ont montré que la chute de GSH *in vitro* atténue significativement la vasorelaxation à l'ACh, ceci à cause d'une baisse du NO résultante de son interaction avec les ROS.

L'organisme est constitué d'un système de défense antioxydant enzymatique complexe qui permet de minimiser les effets des radicaux libres. La SOD est une enzyme qui débarrasse l'organisme de l'anion superoxyde (O_2^-) en catalysant sa conversion en hydrogène peroxyde (H_2O_2) et en oxygène moléculaire (O_2). La catalase catalyse la dismutation de l'eau oxygénée (H_2O_2) pour produire du dioxygène et de l'eau. Il est bien documenté que, le taux de ROS est élevé chez les rats hypertendus non traités. Les baisses de la SOD et de la catalase pourraient s'expliquer par leur utilisation excessive dans le but de nettoyer les tissus de l'excès d' O_2^- et de H_2O_2 respectivement (Beswick *et al.*, 2001). L'élévation de l'activité de la SOD et de la catalase observée chez les rats traités par l'extrait de plante pourrait traduire une faible utilisation de ces enzymes, témoignant ainsi la baisse du taux de ROS. L'activité antioxydante du captopril observée est due à la présence de son groupement « thiol » qui est fortement impliqué dans l'épongement des ROS (Pechanova, 2007). En effet, les molécules contenant ce groupement thiol libre interviennent dans la production du glutathion, des vitamines antioxydantes C et E, et sont capables de se lier aux aldéhydes endogènes pour accélérer leur excrétion (Houston, 2005). La spironolactone est capable de réduire la formation de l'anion superoxyde et de contribuer ainsi à l'amélioration de la fonction endothéliale (Bauersachs *et al.*, 2002). Tous ces résultats nous amène à penser que, l'amélioration du statut oxydatif des rats hypertendus pourrait être une voie indirecte, qu'utiliserait VCMM, pour exercer son activité antihypertensive.

Les plantes médicinales présentent des effets thérapeutiques parce qu'elles contiennent des composés bioactifs, qui peuvent agir immédiatement ou après une biotransformation, par un ou plusieurs systèmes biologiques. Malgré les excellentes prouesses thérapeutiques que peuvent exhibées ces plantes, il ne faudrait pas perdre de vue que ces produits naturels peuvent être toxiques à de degrés divers. C'est pourquoi, des études approfondies de toxicité de ces plantes thérapeutiques doivent être réalisées sur les différents systèmes biologiques, pour s'assurer de leur innocuité, avant la mise en disposition du phytomédicament aux mains des populations. Ainsi, au vu des effets bénéfiques de *Vitex cienkowskii* sur le système cardiovasculaire, des investigations sur la toxicité aiguë et subchronique des extraits aqueux et au mélange CH_2Cl_2 -MeOH de *Vitex cienkowskii* chez le rat ont été entreprises.

Le traitement *per os* des rates avec VCE et VCMM à la dose limite unique de 2000 mg/kg, n'a pas induit des modifications significatives du comportement général. Le poids corporel et les consommations alimentaire et hydrique des animaux traités n'ont pas été modifiés de manière significative par rapport au témoin, ce qui traduirait l'absence d'un effet néfaste majeur de nos différents extraits sur le système digestif. Aucun décès n'a été enregistré pendant toute l'expérimentation. L'observation macroscopique des organes (cœur, poumon, foie, reins, tube digestif) des animaux sacrifiés à la fin de l'expérimentation, n'a pas révélé des signes notables de toxicité. Ces résultats suggèrent que, les DL₅₀ de ces extraits seraient supérieures à 2000 mg/kg selon la classification de l'OCDE (2008 a). Ceci permet de classer ces deux extraits dans la catégorie 5 (>2000-5000) du système de classification global harmonisé (SGH) de substances chimiques qui les considère comme relativement non toxiques (OCDE, 2008 c).

VCMM aux doses de 200, 400 et 600 mg/kg a été administré chez les rats mâles et femelles pendant 28 jours, afin d'étudier les effets toxiques éventuels, que pourraient induire cet extrait en administration thérapeutique à court terme. Un groupe satellite a reçu l'extrait de plante à la dose de 600 mg/kg pendant 28 jours, et a été laissé en observation pendant 14 jours dans l'optique d'étudier la réversibilité d'éventuelles modifications induites par le traitement. Le traitement subchronique des animaux avec notre extrait de plante n'a pas modifié le comportement des animaux. Le poids corporel, les consommations alimentaire et hydrique n'ont pas varié durant le traitement par rapport au groupe témoin. Le poids relatif des organes (cœur, reins et foie) n'a pas été modifié par le traitement. Ces résultats témoignent à suffisance, de la très faible toxicité de notre extrait de plante, ce qui justifierait l'absence de décès des animaux pendant toute la durée de l'expérimentation.

Le système hématopoïétique est très sensible aux composés toxiques, et peut donc être utilisé comme un marqueur efficace du statut physiologique et pathologique, aussi bien chez l'homme que chez les animaux (Rosidah *et al.*, 2009). Dans cette étude, l'administration quotidienne de l'extrait de plante à la dose de 600 mg/kg, a induit une augmentation du nombre de leucocytes et une baisse du nombre de globules rouges et de l'hématocrite. La réduction du nombre de globules rouges et de l'hématocrite traduit une anémie qui pourrait être due à un effet délétère de VCMM sur la sécrétion de l'érythropoïétine au niveau des reins et du foie. Une augmentation non significative de plaquettes, avec un effet inversement proportionnelle à la dose a été noté. Ce qui signifie que notre extrait de plante contient des composés, qui pourraient augmenter la sécrétion de la thrombopoïétine à faible dose ou qui pourraient la réduire à dose

élevée (Kajihara *et al.*, 2007; Nascimbene *et al.*, 2007). Ce résultat pourrait suggérer un effet toxique de VCMM aux doses élevées et en administration prolongée. Néanmoins, cet effet est réversible après l'arrêt du traitement, car il a été observé un retour de ces modifications à la normale chez le groupe satellite aussi bien chez les femelles que chez les mâles.

L'administration subchronique de VCMM aux doses de 200, 400 et 600 mg/kg n'a pas modifié les taux d'ALAT, d'ASAT et de créatinine sérique, hépatique ou rénal suggérant l'absence des effets nocifs de cet extrait de plante au niveau du foie et des reins. Par ailleurs, le taux de bilirubine hépatique a été significativement réduit chez les rats mâles qui ont reçu l'extrait de plante à la dose de 600 mg/kg. Ce résultat confirme une fois de plus l'effet hépatoprotecteur de VCMM qui a été observé dans les études pharmacologiques. La protéinémie est restée inchangée après le traitement avec l'extrait de plante, ce qui pourrait traduire un bon fonctionnement du foie. En effet, il est bien documenté que la baisse du taux de protéines totales sériques témoigne une atteinte des hépatocytes, qui sont le lieu de synthèse de la plus grande partie des protéines (Rasekh *et al.*, 2008).

L'étude de la microstructure de l'aorte, du cœur, du foie et des reins n'a pas révélé de signes d'anomalies particulières chez les animaux traités en comparaison au témoin, suggérant l'absence de toxicité de l'extrait CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii* dans ces organes au cours d'un traitement subchronique.

CONCLUSION

Conclusion

Au terme de notre étude qui avait pour but l'évaluation des activités antihypertensives des extraits des écorces séchées de *Vitex cincinnatensis*, il ressort que :

- les extraits aqueux et au CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cincinnatensis* possèderaient une activité hypotensive immédiate et tardive ;
- l'extrait au CH₂Cl₂-MeOH qui s'est révélé être le plus actif posséderait des effets préventifs et curatifs aussi bien sur l'hypertension artérielle induite par le L-NAME que sur l'hypertension induite par la DOCA et le sel. Il améliorerait : significativement la pression artérielle, la fréquence cardiaque, la réactivité vasculaire à l'ACh, et au nitroprussiate de sodium des rats spontanément hypertendus. Il améliore l'hypertrophie ventriculaire dans ces 3 modèles d'hypertension artérielle ;
- les effets antihypertenseurs observés pourraient s'expliquer par la capacité de *Vitex cincinnatensis* à améliorer la fonction endothéliale (par activation de la voie NO/GMPc/PK), le statut oxydatif, la balance électrolytique et le profil lipidique.
- les extraits aqueux et CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cincinnatensis* présentent une faible toxicité avec une DL₅₀ estimée supérieure à 2000 mg/kg.

Perspectives

Dans le futur, il serait intéressant de :

- d'approfondir les mécanismes d'action de VCMM (dosage GMPc, endothéline, ECA, angiotensine II, rénine, l'aldostérone et blocage des systèmes de transport ioniques (SERCA, Na⁺/Ca²⁺...)) ;
- d'étendre les études chez les SHR en évaluant les paramètres biochimiques (stress oxydant et profil lipidique) et de faire une étude histologique des organes tels que l'aorte et le cœur ;
- d'effectuer une étude de toxicité chronique de ces extraits sur l'ensemble significative des systèmes de l'organisme ;
- d'évaluer les effets cardiovasculaires de l'extrait aqueux qui est la forme utilisée par les tradithérapeutes et en faire des médicaments traditionnels améliorés;

RÉFÉRENCES

Abdulrahman FI, Onyeyili PA, Sandabe UK, Ogugbuaja VO (2007). Evaluation of the effects of the aqueous extract of *Vitex doniana* root-bark on the peripheral and central nervous system of laboratory animals. *Journal of Applied Sciences* 7: 1397-1403.

Abiodun OO, Sood S, Osiyemi OA, Agnihotri VK, Gulati A, Ajaiyeoba EO, Singh B (2015). In vitro antimicrobial activity of crude ethanol extracts and fractions of *Terminalia catappa* and *Vitex doniana*. *African Journal of Medicine and Medical Science* 44(1):21-6.

Abrao Saad W, Ismael Francisco Motta Siqueira Guardae, De Arruda LA, Camargo, Garcia G, Gutierrez LI (2004). Lateral hypothalamus lesions influences water and salt intake, and sodium and urine excretion, and arterial blood pressure induced by L-NAME and FK 409 injections into median preoptic nucleus in conscious rats. *Life Sciences* 75 : 685-697.

Adelodum ST, Adewole OS, Bejide RA, Adeyemi DO, Arayombo BE, Saka OS, Olayode AA (2016). Protective effects of *Vitex doniana* (Black plum) against ischemic testes torsion injury: Histological and morphometric features. *Pathophysiology* 23: 157-168

Adetoro KO, Bolanle JD, Ahmed OA (2013). *In vivo* antioxidant effect of aqueous root bark, stem bark and leaves extracts of *Vitex doniana* in CCl₄ induced liver damage rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3(5): 395-400

Afkir S, Nguenefack TB, Aziz M, Zoheir J, Cuisinaud G, Bnouham M, Mekhfi H, Legssyer A, Lahlou S, Ziyat A (2007). *Arbutus unedo* prevents cardiovascular and morphological alterations in L-NAME-induced hypertensive rats. Part I: Cardiovascular and renal hemodynamic effects of *Arbutus unedo* in L-NAME-induced hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology* 116:288-295.

Agbafor KN, Nwachukwu N (2011). Phytochemical Analysis and Antioxidant Property of Leaf Extracts of *Vitex doniana* and *Mucuna pruriens*. *Biochemistry Research International* 2011: 459839.

Agbor GA, Vinson JA, Oben EJ, Ngogang YJ (2006). Comparative analysis of the *in vitro* antioxidant activity of white and black pepper. *Nutrition Research* 26: 659-663.

Ajiboye TO (2015). Standardized extract of *Vitex doniana* Sweet stalls protein oxidation, lipid peroxidation and DNA fragmentation in acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Journal of Ethnopharmacology* 164:273-82

Akaniro-Ejim NE, Ubani CS, Nubila NI, Nzei AA, Nwodo UU, Okoh AI (2016). Evaluation of Saponin Extract from *Vitex doniana* and *Pentaclethra macrophylla* for Antibacterial Activity. *Applied Science* 6, 180.

Alam MA, Sernia C, Brown L (2013). Ferulic acid improves cardiovascular and kidney structure and function in hypertensive rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 61:240-249.

Allouche Y, Beltrán G, Gaforio JJ, Uceda M, Mesa MD (2010). Antioxidant and antiatherogenic activities of pentacyclic triterpenic diols and acids Food and Chemical Toxicology. *Journal of Ethnopharmacology* 48:2885-2890.

Ambroisine ML, Milliez P, Nehme J, Pasquier AL, De Angelis N, Mansier P, Swynghedauw B, Delcayre C (2004). Aldosterone and anti-aldosterone effects in cardiovascular diseases and diabetic nephropathy. *Journal of Diabetes and Metabolism* 30:311-8.

Amegbor K, Metowogo K, Gbeassor M (2012). Preliminary Evaluation of the Wound Healing Effect of *Vitex doniana* Sweet (Verbenaceae) in Mice. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines* 9(4): 584-590.

Andrea MV, James W, Russell PL, Eva LF (2005). Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocrine Reviews* 25:612-628.

Arrey WT, Dimala CA, Atashili J, Mbuagbaw J, Monekosso GL (2016). Hypertension, an emerging problem in rural Cameroon : prevalence, risk factors and control. *International Journal of Hypertension* 6 p.

Arbonnier M (2000). Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. *CIRAD-MNHN-UICN* 541p.

Asmar R (2007). Pression artérielle. Régulation et épidémiologie : Mesures et valeurs normales. *Néphrologie & Thérapeutique* 3 : 163-184.

Audigane L, Kerfant BG, El Harchi A, Lorenzen-Schmidt I, Toumaniantz G, Cantereau A, Potreau D, Charpentier F, Noireaud J, Gauthier C (2009). Rabbit, a relevant model for the study of cardiac beta 3-adrenoreceptors. *Experimental Physiology* 94:400-11.

Bachhav SS, Patil SD, Bhutada MS, Surana SJ (2011). Oleanolic acid prevents glucocorticoid-induced hypertension in rats. *Phytotherapy Research* 10:1435-1439.

Bader M, Zhao Y, Sander M, Lee MA, Bachmann J, Böhm M, Djavidani B, Peters J, Mullins JJ, Ganten D (1992). Role of tissue renin in the pathophysiology of hypertension in TGR (mREN2)27 rats. *Hypertension* 19: 681-686.

Badyal KH, Lata AP, Dadhich (2003). Animal models of hypertension and effect of drugs. *Indian Journal of Pharmacology* 35: 349-362.

Bakehe M, (2013) Système cardiovasculaire I. *Xlibris Corporation, France* 792 P.

Bartels H, Bohmer M (1972): Estimation of creatinine clearance in patient with unstable renal function. *Clinical chemical Acta* 37:173.

Bartunek J, Weinberg EO, Tajima M, Rohrbach S, Katz SE, Douglas PS; Lorell BH (2000). Chronic N G-Nitro-LArginine methyl ester-induced hypertension novel molecular adaptation to systolic load in absence of hypertrophy. *Circulation* 101:423-429.

Baudet S, Weisser J, Janssen AP, Beulich K, Bieligk U, Pieske B, Noireaud J, Janssen PM, Hasenfuss G, Prestle J (2001). Increased basal contractility of cardiomyocytes overexpressing protein kinase C epsilon and blunted positive inotropic response to endothelin-1. *Cardiovascular Research* 50: 486-94.

Bauersachs J, Heck M, Fraccarollo D, Hildemann SK, Ertl G, Wehling M, Christ M (2002). Addition of spironolactone to angiotensin-converting enzyme inhibition in heart failure improves endothelial vasomotor dysfunction role of vascular superoxide anion formation and endothelial nitric oxide synthase expression. *Journal of the American College of Cardiology* 39:351-358.

Baylis C, Mitruka B, Deng A (1992). Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *Journal of Clinical Investigation*. 90:278-281.

Beaudeau J-L, Delattre J, Therond P, Bonnefont-Rousselot D, Legrand A, Peynet J (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse et Biologie Spécialisée*, 21:144-150.

Bella NMT, DE, Ngo LTE , Aboubakar Farouck OBF, Bilanda DC, Dimo T (2013). Protective Effects of *Tetrapleura tetraptera* Extract on High Salt-Induced Hypertension in Male Rats. *International Journal of Tropical Medicine* 8: 54-61.

Bernatova I, Pechanova O, Babal P, Kysela S, Stvrtina S, Andriantsitohaina R (2002). Wine polyphenols improve cardiovascular remodeling and vascular function in NO-deficient hypertension. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 282:942-948.

Bernatova I, Pechanova O, Pelouch V, Simko F (2000). Regression of chronic L-NAME-treatment-induced left ventricular hypertrophy: Effect of captopril. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 32: 177-185.

Berset C, Cuvelier ME (1996) Méthodes d'évaluation du degré d'oxydation des lipides et de mesure du pouvoir oxydant. *Sciences des aliments* 16 : 219-245.

Beswick RA, Dorrance AM, Leite R, Webb RC (2001). NADH/NADPH oxidase and enhanced superoxide production in the mineralocorticoid hypertensive rat. *Hypertension* 38:1107-1111.

Bilanda DC, Dimo T, Dzeufiet PDD, Bella NMT, Aboubakar OBF, Nguélefack TB, Tan VP, Kamtchouing P (2010). Antihypertensive and antioxidant effects of *Allanblackia floribunda* Oliv. (Clusiaceae) aqueous extract in alcohol- and sucrose-induced hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology* 128:634-640.

Blacher J, Czernichow S, Iaria, Bureau J-M, Roux O, Kondo T, Tournier B, Cocaul M, Moreau I, Detienne J-P, Safar M (2005). Traitement non pharmacologique de l'hypertension artérielle. *EMC-Cardiologie Angéiologie* 2 : 136–151.

Bopda OSM, Longo F, Ndzana Bella T, Ohandja EPM, Taiwe SG, Bilanda DC, Tom LNE, Kamtchouing P, Dimo T (2014). Antihypertensive activities of the aqueous extract of *Kalanchoe pinnata* (Crassulaceae) in high salt-loaded rats. *Journal of Ethnopharmacology* 153:400-407.

Brimblecombe R, Duncan W, Durant GJ, Ganellin CR, Parsons ME, Black JW (2010). The pharmacology of cimetidine, a new histamine H₂-receptor antagonist. *British journal of Pharmacology* 160: S52-S53.

Bruce J, Colbert BJ, Kennedy BJ (2008). Integrated Cardiopulmonary pharmacology 2nd Edition. *Pearson Education*, France 369 p.

Buccafusco JJ (1996). The role of central cholinergic neurons in the regulation of blood pressure and in experimental hypertension. *Pharmacology Review* 48:179-211.

Buccolo G, David H (1973). Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzyme. *Clinical Chemistry* 19: 476-482.

Campagnaro BP, Gava AL, Meyrelles SS, Vasquez EC (2012). Cardiac-autonomic imbalance and baroreflex dysfunction in the renovascular angiotensin-dependant hypertensive mouse. *International Journal of Hypertension* 9 pages.

Campbell NA, Reece JB (2007). *Biologie* (3^{ème} édition.). *Pearson ERPI*, Quebec 1334 p.

Cheftel JC, Cheftel H, Besancon, R. (1989): Aspect toxicologique: introduction à la biochimie et à la technique des aliments. *Ed Lavoisier Paris pp* 137-161.

Chen Y-Y, Ji W, Du J-R, Yu D-K, He Y, Yu C-X, Li D-S, Zhao C-Y, Qiao K-Y (2010). Preventive effects of low molecular mass potassium alginate extracted from algae on DOCA salt-induced hypertension in rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 64: 291-295.

Chun T-Y, Bloem L, Pratt JH (2002). Spironolactone increases integrin β 3 gene expression in kidney and heart muscle cells. *Molecular and Cellular Endocrinology* 194: 175-182

Ciociu M, Badescu L, Miron A, Badescu M (2013). The Involvement of a Polyphenol-Rich Extract of Black Chokeberry in Oxidative Stress on Experimental Arterial Hypertension. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2013:8. doi: 10.1155/2013/912769. 912769.

Cohen Y, Jacquot C (2001). Pharmacologie 5^e Edition. *Masson*, France 489 p.

Cohn JS, Kamili A, Wat E, Chung RWS, Tandy S (2010). Reduction in intestinal cholesterol absorption by various food components: Mechanisms and implications. *Atherosclerosis Supplements* 11: 45-48

Combs CA, Katz MA, Kitzmiller JL, Brescia RJ (1993). Experimental preeclampsia produced by chronic constriction of the lower aorta: validation with longitudinal blood pressure measurements in conscious rhesus monkeys. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 169:215-23.

Cui X-L, Chen H-Z, Wu B-W (2007). Carbachol exhibited positive inotropic effect on rat ventricular myocytes via M2 muscarinic receptors. *Acta physiologica Sinica*, 59: 667-673.

Czech AD, Kazel MR, Harris J (2003). A nitric oxide synthase inhibitor, NG-nitro-L-arginine methyl ester, attenuates lipoprivic feeding in mice. *Physiology and Behavior* 80: 75-79.

Czech DA (1998). A nitric oxide synthase inhibitor NG-nitro-L-arginine, attenuates glucoprivic feeding and deprivation-induced drinking in the mouse. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour* 60:601-607.

Czech DA, Klosterman AE, Le Sueur KT, (1998). NG-nitro-L-arginine Methyl Ester Reduces Stress-Related Feeding in the Rat Tail-Pinch Model. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 19:91- 96.

Davisson RL, Hoffmann DS, Butz GM, Aldape G, Schlager G, Merrill DC (2002). Discovery of a spontaneous genetic mouse model of preeclampsia. *Hypertension* 39:337-42.

Dimo T, Nguenefack TB, Tan PV, Yewah MP, Dongo E, Rakotonirina SV, Kamany A, Bopelet M (2003). Possible mechanisms of action of the neutral extract from *Bidens pilosa* L. Leaves on the Cardiovascular System of anaesthetized rats. *Phytotherapy Research* 17: 1135-1139.

Dongmo AB, Azebaze AGB, Metchi DMF, Dimo T, Nkeng-Efouet AP, Devkota KP, Sontia B, Wagner H, Sewald N, Vierling W (2011). Pentacyclic triterpenoids and ceramide mediate the vasorelaxant activity of *Vitex cienkowskii* via involvement of NO/cGMP pathway in isolated rat aortic rings. *Journal of Ethnopharmacology* 133:204-212.

Dongmo AB, Nkeng-Efouet AP, Devkota KP, Krishna Prasad, Wegener, Jorg W, Sewal (2014). Tetra- acetyljugasterone a new constituent of *Vitex cienkowskii* with vasorelaxant activity. *Phytomedicine* 21: 787-792.

Dongmo FGI, Oben EJ, Momo NEC, Mandob ED (2007). Phytochemical constituents and antioxidant potential of some Cameroonian medicinal plants. *Pharmacology online* 2:436-452.

Dornas WC, Silva ME (2011) Animal models for the study of arterial hypertension. *Journal of Biosciences* 36 731–737.

Duong-Quy S, Le-Dong NN, Hua-Huy T, Dinh-Xuan AT (2011). Dysfonctionnement endothélial dans la BPCO : Rôle du monoxyde d'azote et d'endothéline-1. *Journal Franco-Vietnamien de Pneumologie* 2: 21-28.

Ebeigbe AB, Ezimokhai M (1988). Vascular smooth muscle responses in pregnancy-induced hypertension. *Trends in Pharmacological Sciences* 9:855-475.

Ellman GL (1959). Tissue sulfhydryl group. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 82:70-77.

Evans P, Halliwell B (2001). Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *British Journal of Nutrition* 2:67-74.

Ezekwesili CN, Ogbunugafor HA, Ezekwesili-Ofili JO (2012). Anti-diabetic Activity of Aqueous Extracts of *Vitex doniana* Leaves and *Cinchona calisaya* Bark in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *International Journal of Tropical Disease and Health* 2(4): 290-300.

Farr SA, Banks WA, Kumar VB, Morley JE (2005). Orexin-A-induced feeding is dependent on nitric oxide. *Peptides* 26:759-765.

Feng L, Yu C, Ying K, Hua J, Dai X (2011). Hypolipidemic and antioxidant effects of total flavonoids of *Perilla Frutescens* leaves. *Food Research International* 44:404-409.

Finkel R, Clark MA, Cubeddu LX (2009). Pharmacology. *Lippincott Williams et Wilkins*. Philadelphia 564 p.

Ford RJ, Graham DA, Denniss SG, Quadriatero J, James WE (2006). Glutathione depletion in vivo enhances contraction and attenuates endothelium-dependent relaxation of isolated rat aorta. *Free Radical Biology and Medicine* 40:670 - 678.

Fridovich I. (1999). Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? *Annals of the New York Academy of Sciences* 893:13-18.

Friedewald WT, Levy RI, Frederickson DS (1972). Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry* 18: 499-502.

Friedman RB, Young DS (1989). Effects of disease on Clinical Laboratory tests, 3rd Edition. *American Association for Clinical Chemistry Press* 516 p.

Frishman WH, Sica DA (2011). Cardiovascular pharmacotherapeutics. *Cardiotext Publishing* 800 p.

Fürstenau CR, Ramos DB, Vuaden FC, Emerson André Casali EA, Monteiro PS, Trentin DS, Gossenheimer AN, Bogo MR, Bonan CD, Barreto-Chaves MLM, Sarkis JJF, Wofchuk ST (2010). L-NAME-treatment alters ectonucleotidase activities in kidney membranes of rats. *Life Sciences* 87:325-332.

Ganong WF (2005). Review of Medical Physiology. *McGraw Hill Professional*, California 928 p.

Gasparotto AJ, Gasparotto FM, Louren ELB, Crestani S, Stefanello MEA, Salvador MJ, Silva-Santos JE, Marques MCA, Kassuya CAL (2010). Antihypertensive effects of isoquercitrin and extracts from *Tropaeolum majus* L.: Evidence for the inhibition of angiotensin converting enzyme. *Journal of Ethnopharmacology* 134:363-72.

Girerd X, Digeos-Hasnier S, Le Heuzey J-Y (2005). Guide pratique de l'hypertension artérielle. *Elsevier Masson*. Paris 209 p.

Goldblatt H, Lynch J, Hanzel RF, Summerville WW (1934). Studies on experimental hypertension-II: The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischaemia. *Journal of Experimental Medicine* 59:347-79.

Gomez-Amores L, Mate A, Miguel-Carrasco JL, Jimenez L, Jos A, Ana M. Camean AM, Elisa Revilla E, Santa-Maria C, Vazquez CM (2007). L-Carnitine attenuates oxidative stress in hypertensive rats. *Journal of Nutritional Biochemistry* 18:533-540.

Gornall AG, Bardwill CJ, David MM (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry* 177: 752-766.

Grand F, Guitton J, Goudable J (2001). Optimisation des paramètres du dosage des nitrites et nitrates sériques par la technique de Griess. *Annales de Biologie Clinique* 5:559-65.

Greig JA, Shirley R, Graham D, Denby L, Dominiczak AF, Work LM, Baker AH (2010). Vascular-Targeting Antioxidant Therapy in a Model of Hypertension and Stroke. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 56:642-650.

Guénard H (2001). Physiologie humaine 3^{ème} Edition. *Pradel* Paris 606 p.

Guyton CA, Hall JE (2006). Textbook of Medical Physiology 11th Edition. *Elsevier Saunders*, Philadelphia pp 116-122.

Hakim ZS, Goyal RK (2000) Comparative evaluation of different rat models with coexisting diabetes mellitus and hypertension. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology* 44:125-35.

Hatton DC, De Merritt J, Coste SC, McCarron DA (1993) Stress induced hypertension in the borderline hypertensive rat: stimulus duration. *Journal of Physiology and Behavior* 53:635-41.

Heller R, Unbehaun A, Schellenberg B, Mayer B, Werner-Felmayer G, Werner ER (2001). L-ascorbic acid potentiates endothelial nitric oxide synthesis via a chemical stabilization of tetrahydrobiopterin. *Journal of Biological Chemistry* 276:40-47.

Henning EC, Warach S, Spatz M (2010). Hypertension-induced vascular remodeling contributes to reduced cerebral perfusion and the development of spontaneous stroke in aged SHRSP rats. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 30:827-836.

Higham JP, Ross C, Warren Y, Heistermann M, MacLarnon AM (2007). Reduced reproductive function in wild baboons (*Papio hamadryas anubis*) related to natural consumption of the African black plum (*Vitex doniana*). *Hormones and Behavior* 52:384-90.

Higuchi K, Hashizume H, Aizawa Y, Ushiki T (2000). Les vaisseaux sanguins. *Archives of Histology and Cytology* 63: 115-6.

Hodgson JM, Watts GF (2003). Can coenzyme Q10 improve vascular function and blood pressure? Potential for effective therapeutic reduction in vascular oxidative stress. *Biofactors* 18:129-136.

Houghton AR, Gray D, Lampton FJ, François J (2012). Pack Cardiologie-Special ECG. *Elsevier Masson Paris* 940 p.

Houston CM (2005). Nutraceuticals, vitamins, antioxidants, and minerals in the prevention and treatment of hypertension. *Progress in Cardiovascular Diseases* 47:96-449.

Huet O, Duranteau J (2008). Dysfonction endothéliale: rôle des radicaux libres Endothelial dysfunction: Involvement of reactive oxygen species. *Réanimation* 17 : 387-392.

Ignarro LJ, Cirino G, Casini A, Napoli C (1999). Nitric oxide as a signaling molecule in the vascular system: an overview. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 34:879-86.

Ikebe M, Hartshorne DJ, Elzinga M. (1987). Phosphorylation of the 20,000-dalton light chain of smooth muscle myosin by the calcium-activated, phospholipid-dependent protein kinase. Phosphorylation sites and effects of phosphorylation. *Journal of Biological Chemistry* 262: 9569-73.

Ikewuchi JC, Ikewuchi CC, Mercy O. Ifeanchio MO, Igboh NM, Ijeh II (2013). Moderation of hematological and plasma biochemical indices of sub-chronic salt-loaded rats by aqueous extract of the sclerotia of *Pleurotus tuberregium* (Fr) Sing's: Implications for the reduction of cardiovascular risk. *Journal of Ethnopharmacology* 150:466-476.

Ochieng CO, Ishola IO, Opiyo SA, Manguro LA, Owuor PO, Wong KC (2013). Phytoecdysteroids from the stem bark of *Vitex doniana* and their anti-inflammatory effects. *Planta Medica* 1:52-59.

Ito H, Hirata Y, Hiroe M (1991). Endothelin-1 induces hypertrophy with enhanced expression of muscle specific genes in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Circulation Research* 69:209-215.

Jaffri JM, Mohamed S, Ahmad IN, Mustapha NM, Yazid A, Manap YA, Rohimi N (2011). Effects of catechin-rich oil palm leaf extract on normal and hypertensive rats' kidney and liver. *Food Chemistry* 128:433-441.

Jeanette SJ, Alex KH, David JR, Advie E (2005). Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular Diabetology* 4:(5) 1-20.

Jeunesse E, Woehrlé F, Schneider M, Lefebvre MP (2007). Effect of spironolactone on diuresis and urine sodium and potassium excretion in healthy dogs. *Journal of Veterinary Cardiology* 9: 63-68.

Jiménez R, López-Sepúlveda R, Kadmiri M, Romero M, Sánchez RVM, Vargas F, O'Valle F, Zarzuelo A, Dueñas M, Celestino Santos-Buelga C, Duarte J (2007). Polyphenols restore endothelial function in DOCA-salt hypertension: Role of endothelin-1 and NADPH oxidase. *Free Radical Biology and Medicine* 43: 462-473.

Kajihara M, Okazaki Y, Kato S, Ishii H, Kawakami Y, Ikeda Y, Kuwana M (2007). Evaluation of platelet kinetics in patients with liver cirrhosis: similarity to idiopathic thrombocytopenic purpura. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 22: 112-118.

Kakoti BK, Thamil SV, Prerona S, Gupta M, Mazumder UK (2007). *In vivo* and *in vitro* antioxidant properties of methanol extract of *Streblus asper* Lour. *Pharmacologyonline* 3: 15-38.

Kang DG, Hur TY, Lee GM, Oh H, Kwon TO, Sohn EJ, Lee HS (2002). Effects of *Cudrania tricuspidata* water extract on blood pressure and renal functions in NO-dependent hypertension. *Life Sciences* 70: 2599-2609.

Kassi Y, Aka KJ, Abo K J-C, Méa A, Néné SA, Ehilé EE (2008). Effet antihypertensif d'un extrait aqueux d'écorce de tronc de *Parkia biglobosa* (Mimosaceae) sur la pression artérielle de lapin. *Sciences and Nature* 5: 133 -143.

Katalinié V, Milos M, Modun D, Musi I, Boban M (2004). Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin. *Food Chemistry* 86:593-600.

Katende AB, Birnie A, Tengnas B (1995). Useful trees and shrubs for Uganda: indentification, propagation and management for agricultural and pastoral communities. Technical Handbook 10. *Regional Soil Conservation Unit*, Nairobi, Kenya. 710 p.

Kaur M, Rana AC, Kumar S (2011). Induction of hypertension by various animal models. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences* 1:335-340.

Khattab MM, Mostafa A, Al-Shabanah O (2005). Effects of captopril on cardiac and renal damage, and metabolic alterations in the nitric oxide deficient hypertensive rat. *Kidneys and Blood Pressure Research* 28:243-250.

Kobori H, Nangaku M, Navar LG, Nishiyama A (2007). The intrarenal renin angiotensin system: from physiology to the pathobiology of hypertension and kidney disease. *Pharmacological Reviews*. 59 : 251-87.

Koehlin-Ramonatxo C, (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et Metabolisme* 20 : 165-177.

Koh SB, Kang MH, Kim TS, Park HW, Park CG, Seong YH, Seong HJ (2007). Endothelium-dependent vasodilatory and hypotensive effects of *Crotalaria sessiliflora* L. in rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 30:48-53.

Krinsky NI. (1989). Antioxydants function of carotenoides. *Free Radical Biology and Medicine* 7: 617-635.

Kukongviriyapan U, Kukongviriyapan V, Pannangpetch P, Donpunha W, Sripui J, Sae-Eaw A, Boonla O (2015). *Mamao pomace* extract alleviates hypertension and oxidative stress in nitric oxide deficient rats. *Nutrients* 7: 6179-6194.

- Labreuche J, Touboul J-P, Amarenco P (2009). Plasma triglyceride levels and risk of stroke and carotid atherosclerosis: A systematic review of the epidemiological studies. *Atherosclerosis* 203:331-345.
- Ladeji O, Udoh FV, Okoye ZS (2005). Activity of aqueous extract of the bark of *Vitex doniana* on uterine muscle response to drugs. *Phytotherapy Research* 19:804-6.
- Lafay V, Fourcade L, Bertrand E (2014). Prise en charge socioculturelle et médicale de l'hypertension artérielle en Afrique subsaharienne. *John Libbey* 24:283-288
- Li J, Deng LY, Grove K, Deschepper CF, Schiffrin EL (1996). Comparison of effect of endothelin antagonism and angiotensin-converting enzyme inhibition on blood and vascular structure in spontaneous hypertensive rats treated with N omega-nitro-L-arginine methyl ester. *Hypertension* 28:188-95.
- Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G (2012). A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 380 : 2224-60.
- Louppe D, Oteng-Amoako AA, Brink M (2008). Ressources végétales de l'Afrique tropicale 7 (1). Bois d'œuvre 1. *Fondation PROTA* 785 p.
- Mahé I, Chassany O, Grenard A-S, Caulin C, Bergmann J-F (2003). Defining the role of calcium channel antagonists in heart failure due to systolic dysfunction. *American Journal of Cardiovascular Drugs* 3:33-41.
- Mandela P, Chandley M, Xu Y-Y, Zhu M-Y, Ordway GA (2000). Reserpine-reduced reduction in norepinephrine transporter function requires catecholamine storage vesicles. *Neurochemistry International* 56 : 760-67.
- Marieb NE (1998). Anatomie et physiologie humaines 4^{ème} Edition. *Benjamin/Cummings Publishing company*, Canada pp 672-686.

- Masoko P, Eloff JN (2007). Screening of twenty-four South African Combretum and six *Terminalia species* (Combretaceae) for antioxidant activities. *African Journal of Traditional Complementary, and alternative Medicine* 4: 231 – 239.
- Means AR, Vanberkum MF, Bagchi I, Lu KP, Rasmussen CD (1991). Regulatory functions of calmodulin. *Pharmacology Therapy* 50: 255-270.
- Menard J, Azizi M (2007). «The difficult conception, birth and delivery of renin inhibitor: controversies around aliskiren ». *Journal of Hypertension* 25:1775-1782
- Miguel-Carrasco JL, Monserrat MT, Mate A, Vázquez CM (2010). Comparative effects of captopril and L-carnitine on blood pressure and antioxidant enzyme gene expression in the heart of spontaneously hypertensive rats. *European Journal of Pharmacology* 632: 65-72.
- Misra H, Fridovich I (1972). The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine to adrenochrome and a simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry* 247:3170-3175.
- Molle (1986). Limites de tolérance et toxicités de quelques amino acides (Forme L et D). *Amino-peptides-protéines, cahier N°4 éd AEC* pp 207-232.
- Morley JE, Flood JF (1992). Competitive antagonism of nitric oxide synthetase causes weight loss in mice. *Life Sciences* 51:1285-9.
- Morley JE, Kumar VB, Mattammal MB, Farr S, Morley PMK, Flood JF (1996). Inhibition of feeding by a nitric oxide inhibitor: effects of aging. *European Journal of Pharmacology* 311:15-19.
- Nagase M, Shibata S, Yoshida S, Nagase T, Gotoda T, Fujita T (2006). Podocyte injury underlies the glomerulopathy of Dahl salt-hypertensive rats and is reversed by aldosterone blocker. *Hypertension* 47: 1084-1093.
- Nakhostin-Roohi B, Babaei P, Rahmani-Nia F, Bohlooli S (2008). Effect of vitamin c supplementation on lipid peroxidation, muscle damage and inflammation after 30-min exercise at 75 % VO₂ max. *Journal of Sport Medicine and Physical Fitness* 48: 217-24.

Nascimbene A, Iannacone M, Brando B, De Gasperi A (2007). Acute thrombocytopenia after liver transplant: role of platelet activation, thrombopoietin deficiency and response to high dose intravenous IgG treatment. *Journal of Hepatology* 47: 651-657.

Negrey-Salvayre, Salvayre R. (2005). Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif : Implication en physiopathologie vasculaire. *Oilseeds and Fats Crops, and Lipids* 12 : 433-458.

Neuwinger HD (2000). African Traditional Medicine: A Dictionary of Plant Use and Applications. *Medpharm Scientific*, Stuttgart 589 pp

Neuzil J, Stocker R (1993). Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. *FEBS Letters* 331: 281-284.

Nguelefack-Mbuyo PE, Nguelefack TB, Dongmo AB, Afkir S, A.G.B. Azebaze AGB, Dimo T, Legssyer A, Kamanyi A, Ziyat A (2008). Anti-hypertensive effects of the methanol/methylene chloride stem bark extract of *Mammea africana* in l-NAME-induced hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology* 117: 446-450.

Nozik-Grayck E, Suliman H, Piantadosi C (2005). Extracellular superoxide dismutase. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 37: 2466 -71.

Nwasokwa ON (1993). A model of time course of myocardial dynamics: use in characterisation of relaxation and evaluation of its indices. *Cardiovascular Research* 27: 1510-21.

Nweke OL, Nwachukwu N, Aja PM, Agbafor KN (2015). Comparative hepato-therapeutic effect of aqueous and methanol leaf extracts of *Vitex doniana* and *Bombax buonopense* in CCl₄ induced liver damage in male albino rats. *Journal of Agriculture and Veterinary Science* Vol 8, PP 37-45.

OCDE (2001). Toxicité orale aiguë - Méthode de la dose prédéterminée, Lignes Directrice No.420, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. *Organisation de Coopération et du Développement Economique*, Paris 15 p.

OCDE (2008 a). Toxicité orale aiguë - méthode de l'ajustement des doses, Lignes Directrice No.425, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. *Organisation de Coopération et du Développement Economique*, Paris 29 p.

OCDE (2008 b). Etude de toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs, Lignes Directrice No.407, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. *Organisation de Coopération et du Développement Economique*, Paris 14 p.

OCDE (2008 c). Toxicité orale aiguë - Méthode par classe de toxicité aiguë, Lignes directrices No 423, Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. *Organisation de la Coopération et du Développement Economique*, Paris 14 p.

OCDE (2009). Études de toxicité chronique, Lignes Directrice No.452, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. *Organisation de Coopération et du Développement Economique*, Paris 16 p.

Oche O, Sani I, Chilaka NG, Samuel NU, Samuel A (2014). Pancreatic islet regeneration and some liver biochemical parameters of leaf extracts of *Vitex doniana* in normal and streptozotocin-induced diabetic albino rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 4(2): 124-130.

OMS (1992). Research guide line for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines prepared during the meeting of the working group. *Manilla, Phillipines* pp 5 - 9.

OMS (1999). Guidelines for management of hypertension. *Journal of Hypertension* 1: 151-183.

OMS (2000). General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine. *Organisation mondiale de la Santé*, Genève 6p.

OMS (2013). Panorama mondiale de l'hypertension artérielle. *Organisation Mondiale de la Santé*, Suisse 40 p.

Ortiz PA, Garvin JL (2001). Intrarenal transport and vasoactive substances in hypertension. *Hypertension* 38: 621-624.

Panchal SK, Poudyal H, Iyer A (2011). High-carbohydrate high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 51:51-64.

Papp LV, Lu J, Holmgren A, Khanna KK. (2007). From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxidant and Redox Signaling* 9:775-806.

Pechanova O (2007). Contribution of captopril thiol group to the prevention of Spontaneous Hypertension. *Physiological Research*. 56:41-S48.

Pechanova O, Bernatova I (2000). Effect of captopril on cyclic nucleotide concentrations during long-term NO synthase inhibition. *Physiological Research* 49: 55–63.

Periasamy M, Janssen MLP (2009). Molecular basis of diastolic dysfunction. *Heart Failure Clinic* 4 (1): 13–21.

Phytoecdysteroids from the stem bark of *Vitex doniana* and their anti-inflammatory effects. *Planta Medica* 79(1):52-9.

Pincemail J, Bonjean K, Cayeux K, Defraigne J-O (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 16 : 233-239.

Prahalathan P, Kumar S, Raja B (2012). Effect of morin, a flavonoid against DOCA-salt hypertensive rats: a dose dependent study. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2(6): 443-448.

Praman P, Mulvany MJ, Allenbach Y, Marston A, Hostettmann K, Sirirugsa P, Jansakul C (2011). Effects of an *n*-butanol extract from the stem of *Tinospora crispa* on blood pressure and heart rate in anesthetized rats. *Journal of Ethnopharmacology* 133 : 675-686.

Puddu P, Puddu GM, Zaca F, Muscari A (2000). Endothelial dysfunction in hypertension. *Acta Cardiologica* 55:221-32.

Ram CVS (2014). Hypertension : A clinical guide. *CRP Press Texas* 140 p.

Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK (2003). Pharmacology, 5th Edition. *Churchill Livingstone* pp 724-735.

Rasekh HR, Nazari P, KamLi-Nejad M, Hosseinzadeh L (2008). Acute and subchronic oral toxicity of *Galega officinalis* in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 116: 21-26.

Rathod SP, Shah N, Balaraman R (1997). Antihypertensive effect of dietary calcium and diltiazem, a calcium channel blocker on experimentally induced hypertensive rats. *Indian Journal of Pharmacology* 29:99-104.

Reitman S, Frankel S (1957). A colorimetric method for determination of serum glutamate oxaloacetate and glutamic pyruvate transaminase. *American Journal of Clinical Pathology* pp 28-56.

Ribeiro MO, Antunes E, De-Nucci G, Lovisolo SM, Zatz R (1992). Chronic inhibition of nitric oxide synthesis: a new model of arterial hypertension. *Hypertension* 20: 298-303.

Richmond W (1973). Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Nocardia* sp and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. *Clinical chemistry* 19 : 1350-6.

Roberts CK, Vaziri ND, Sindhu RK, Barnard RJ (2003). A highfat, refined carbohydrate diet affects renal NO synthase protein expression and salt sensitivity. *Journal of Applied Physiology* 94: 941-946.

Roberts CK, Vaziri ND, Wang XQ, Barnard RJ (2000). Enhanced NO inactivation and hypertension induced by a high-fat, refined-carbohydrate diet. *Hypertension* 36:423-429.

Rodrigo R, Gonzalez J, Paoletto F (2007). The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension. *Hypertension Research* 34:431- 40.

Rosidah, Yam MF, Sadikun A, Ahmad M, Akowuah GA, Asmawi MZ (2009). Toxicology evaluation of standardized methanol extract of *Gynura procumbens*. *Journal of Ethnopharmacology* 123:244-249.

Ross JS, Wilson KJW (2003): Anatomie et physiologie normales et pathologiques. *Maloine*, Paris 484 p.

Ruckebuch (1977). Physiologie, pharmacologie et thérapeutique animale. *Maloine, Paris* 424 p.

Ruffo CK, Birnie A, Tengnäs B (2002). Edible wild plant of Tanzania, Technical Handbook. *RELMA-SIDA* 766 p.

Sakurabayashi-Kitade S, Aoka Y, Nagashima H, Kasanuki H, Hagiwara N, Kawana M (2009). Aldosterone blockade by Spironolactone improves the hypertensive vascular hypertrophy and remodeling in angiotensin II overproducing transgenic mice. *Atherosclerosis* 206:54-60.

Saravanakumar M, Raja B (2012). Effect of veratric acid on the cardiovascular risk of l-NAME-induced hypertensive rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 59:553-62.

Sharma ML (1985). Antihypertensive activity of scoparone. *Indian Journal of Pharmacology* 17: 219-22.

Sharma N, Okere IC, Duda MK, Chess DJ, O'Shea KM, Stanley WC (2007). Potential impact of carbohydrate and fat intake on pathological left ventricular hypertrophy. *Cardiovascular Research* 73: 257-268.

Sherwood L (2006). Physiologie Humaine. 2^{ème} édition. *De Boeck*, Bruxelles 768 p.

Shubeita HE, Mc Donough PM, Harris AN (1990). Endothelin induction of inositol phospholipid hydrolysis, sarcomere assembly and cardiac gene expression in ventricular myocytes: a paracrine mechanism for myocardial cell hypertrophy. *Journal of Biological Chemistry* 265: 20555-20562.

Silbernagl S, Despopoulos A (2001). Atlas de physiologie. 3^{ème} Edition. *Médecine - Sciences Flammarion* Paris, pp186 - 208.

Silva GC, Bragab FC, Limac MP, Pesquerod JL, Lemosd VS, Cortes SF (2011). *Hancornia speciosa* Gomes induces hypotensive effect through inhibition of ACE and increase on NO *Journal of Ethnopharmacology* 137: 709- 713.

Sinha AK (1972). Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry* 47:389-394.

Sontia (2005). Influence of plant extracts (*Vitex cienkowskii* and *Danella oliveri*) and physiological ions on vascular smooth muscles and electrophysiological properties of the heart muscle. Doctorate thesis, Ludwig-Maximilians-Universität, Munich, Germany 137p.

Takemoto M, Egashira K, Usui M, Numaguchi K, Tomita H, Tsutsui H, Shimokawa H, Sueishi K, Takeshita A (1997). Important role of tissue angiotensin-converting enzyme activity in the pathogenesis of coronary vascular and myocardial structural changes induced by long-term blockade of nitric oxide synthesis in rats. *Journal of Clinical Investigation* 99: 278-287.

Tom ENL, Demougeot C, Bopda Mtopi OS, Dimo T, Dzeufiet PDD, Bilanda DC, Girard C, Berthelot A (2010). The aqueous extract of *Terminalia superba* (Combretaceae) prevents glucose-induced hypertension in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 133:828-833.

Toussaint J-F, Jacob M-P, Lagrost L, Chapman J (2005). L'athérosclérose, Physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques. *Elsevier Masson*, Paris 808 p.

Tsuchiya K, Shuhei T, Keisuke I, Shinji A, Yasumasa I, Yoshitaka K, Toshiaki T (2010). Dietary nitrite ameliorates renal injury in L-NAME-induced hypertensive rats. *Nitric Oxide* 22: 98-103.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, Telser J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cellular Biology* 39: 44-84.

Van Vliet BN, Chafe LL, Vladan LA, Schnyder-Candrian S, Montani J-P (2000). Direct and indirect methods used to study arterial blood pressure. *Journal of Pharmacology and Toxicology Method* 44: 361-373.

Vanhoutte PM (2003). Endothelial control of vasomotor function: From health to coronary disease. *Circulation Journal* 67:572-575.

Veeramani C, Al-Numair KS, Chandramohan G, Alsaif MA, Pugalendi KV (2012). Antihyperlipidemic effect of *Melothria maderaspatana* leaf extracts on DOCA-salt induced hypertensive rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 5:434-9.

- Veeramani C, Aristatile B, Pushpavalli G, Pugalendi KV (2011). Effects of *Melothria maderaspatana* leaf extract on antioxidant status in sham-operated and uninephrectomized DOCA-salt hypertensive rats. *Saudi Journal of Biological Sciences* 18: 99-105.
- Velayutham P, Anandh B, and Dongmin L (2008). Green tea catechins and cardiovascular health: an update. *Current Medicinal Chemistry* 15:1840-1850.
- Venardos KM, Perkins A, Headrick J, Kaye DM (2007). Myocardial ischemia-reperfusion injury, antioxidant enzyme systems, and selenium: a review. *Current Medicinal Chemistry* 14:1539-1549.
- Wang H, Sun J, Jia Z, Yang T, Xu L, Zhao B, Yu K, Wang R (2015). Nitrooleic Acid Attenuates Lipid Metabolic Disorders and Liver Steatosis in DOCA-Salt Hypertensive Mice. *Peroxisome proliferator-Activated Receptor Research* 2015: 9 p.
- Weather PR, Burkitt GH, Daniel VG, Deakin PJ (1988). Histologie fonctionnelle. 2^{ème} Edition. *Medsa-McGraw-Hill*, Paris 351 p.
- Wilbur KM, Bernheim F, Shapiro OW (1949). Determination of lipid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 24:305-310.
- Yamakawa T, Tanaka S, Tamura K, Isoda F, Ukawa K, Yamakura Y (1995). Wistar fatty rat is obese and spontaneously hypertensive. *Hypertension* 25:146-50.
- Yazar ES, Konyalioglu R, Col Y, Osman BA, Levent B, Elmas M (2004). Effects of vitamin E and prednisolone on some oxidative stress markers in endotoxemic rabbits. *Revue de Médecine Vétérinaire* 155: 538-542.
- Yen GC, Duh PD, (1994). Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active oxygen species. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 42: 629-632.
- Zafar K, Mushtaq A (2015). Assessing the primary causes of hypertension in Khyber pakhtunkhunwa, Pakistan. *Journal of Biology and Life science* 6: 24-36.

Zalba G, Beaumont FJ, San Jose G (2000). Vascular NADH/NADPH oxidase is involved in enhanced superoxide production in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 35:1055-1061.

Zanfolin M, Faro R, Araujo EG, Guaraldo AAM, Antunes E, De Nucci G, (2006). Protective effects of BAY 41-2272 (sGC Stimulator) on hypertension, heart, and cardiomyocyte hypertrophy induced by chronic L-NAME Treatment in Rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 47: 391- 5.

Zeggwagh AA, Lahlou Y, Bousliman Y (2013). Enquête sur les aspects toxicologiques de la phytothérapie utilisée par un herboriste à Fes, Maroc. *Pan African Medical Journal* 14: 125.

Zheng HL, Zhao ZQ, Zhang CG, Feng JZ, Ke ZL, Su MJ (2000). Changes in lipid peroxidation, the redox system and ATPase activities in plasma membranes of rice seedling roots caused by lanthanum chloride. *Biometals* 13:157-163.

Zhou MS, Adam AG, Jaimes EA (2003). In salt-sensitive hypertension, increased superoxide production is linked to functional up regulation of angiotensin II. *Hypertension* 42:945-951.

Ziying Y, Yi X, Guoliang J, Puming H, Youying T (2007). Study on the antioxidant activity of tea flowers (*Camellia sinensis*). *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 16:148-152.

ANNEXES

I- Préparation des solutions l'étude des effets hypotenseurs de *Vitex cienkowskii*

I.1. Solution de Mc Even

Pour préparer cette solution, 8,6 g de NaCl, 0,42 g de KCl, 0,109 g de NaH₂PO₄, 1g de CO₃HNa, 0,03 g de MgCl₂ et 2 g de glucose ont été dissous dans 200 mL d'eau distillée. 0,28 g de CaCl₂ a ensuite été dissous dans un petit volume d'eau distillée avant d'être introduite dans la 1^{ère} solution. La solution finale a été obtenue en complétant le volume de la préparation à 1 L avec de l'eau distillée.

I.2. Solution d'éthyle carbamate (15%)

Pour préparer cette solution, 1,5 g de cristaux d'éthyle carbamate ont été dissous dans un volume d'eau distillée suffisant pour faire 10 mL de solution. La solution était conservée à 4°C.

I.3. Solution d'atropine (0,1 mg/mL)

Pour préparer cette solution, 0,1 mL d'atropine de concentration 1mg/mL a été dissous dans un volume de Mac Even suffisant pour faire 1 mL de solution. La solution était conservée à 4°C.

I.4. Solution de carbachol (10 µg/mL)

Pour préparer cette solution, 0,1 mg de cristaux de carbachol ont été dissous dans un volume Mac Even suffisant pour faire 10 mL de solution.

I.5. Solution de noradrénaline (10 µg/mL)

Pour préparer cette solution, 10 µg de poudre de noradrénaline ont été dissous dans un volume Mac Even suffisant pour faire 1 mL de solution.

I.6. Solution de propranolol (2mg/mL)

Pour préparer cette solution, 2 mg de poudre de propranolol ont été dissous dans un volume Mac Even suffisant pour faire 1 mL de solution.

I.7. Solution de réserpine (5 mg/mL)

Pour préparer cette solution, 5 mg de poudre de réserpine ont été dissous dans un volume d'eau suffisant pour faire 1mL de solution.

II- Préparation des solutions l'isolement et l'étude fonctionnelle des cardiomyocytes

II.1. Solution de Tyrode

Pour préparer la solution de tyrode, les réactifs suivant (en mM) ont été mélangés: NaCl, 137 ; KCl, 5,4 ; MgSO₄, 1,2 ; HEPES, 20 ; glucose, 10. Le pH a été ajusté à 7,4 à température ambiante avec du NaOH 5N. Cette solution a été filtrée grâce au filtre Millipore (0,22 µm) et a servi à la préparation de différentes solutions.

II.2. Solution de rinçage du coeur

Il s'agit de la solution de CaCl₂ 1,8 mM qui a été préparée en dissolvant 20 mg de CaCl₂ dans un volume d'eau suffisant pour faire 100 mL de solution.

II.3. Solution de prélèvement des ventricules digérés

Elles ont été préparées dans 3 tubes stériles de 50 mL contenant 40 mL de solution Tyrode sans calcium. 1,11 mL de CaCl₂ 1,8 mM a été ensuite ajouté dans ces tubes de façon à obtenir des solutions de CaCl₂ 0,05 mM. Le 2,3-butanedione monoxime (BDM) 20 mM a été ajouté à la solution du premier tube.

II.4. Solutions de concentrations calciques croissantes

Elles ont été préparées dans 4 tubes stériles de 50 mL contenant 25 mL de la solution de Tyrode sans calcium. Des volumes adéquats de la solution de CaCl₂ 1,8 mM ont été ensuite ajoutés respectivement dans ces tubes pour avoir des concentrations finales de 0,125, 0,25, 0,5 et 1 mM

II.5. Solution enzymatique (collagénase)

Elles ont été préparées dans 4 tubes stériles de 50 mL contenant les enzymes utilisées dans la solution de digestion enzymatique sont la collagénase de type 2 (253-330 U/mg selon les lots, et la protéase XIV (5,1 U/mg). La collagénase (1 mg/mL) et la protéase XIV (0,04 mg/mL) ont été ajoutées extemporanément dans un volume de 80 mL de solution Tyrode (CaCl₂ 0,0125 mM). A ce mélange ont été ajoutés les réactifs suivants de manière à obtenir les concentrations respectives suivantes en mM : acide DL-Glutamique, 8 ; DL-carnitine, 2 ; taurine, 60.

II.6. Solution « stop »

Pour la préparer, la solution de CaCl₂ 1,8 mM a été ajoutée dans la solution de Tyrode de façon à obtenir une solution de Tyrode avec du CaCl₂ à la concentration de 0,05 mM.

III- Préparation des solutions pour le dosage des paramètres biochimiques

III.1 Tampon Tris-HCl (50mM ; pH 7,4 ; KCl 150 mM)

Pour préparer le tampon Tris-HCl (50 mM ; pH 7,4 ; KCl 150 mM), 1,21 g de tris base et 2,79 g de KCl ont été pesés et dissous dans un volume d'eau distillée suffisant pour faire 250 mL de solution. Le pH a été ajusté à 7,4 par ajout de HCl 11,8 N et le volume, complété à 500 mL avec de l'eau distillée.

III.2. Préparation des réactifs pour le dosage du monoxyde d'azote (NO)

III.2.1. Réactif de GRIESS

Pour préparer 36 mL de réactif de Griess, 360 mg de sulfanilamide, 36 mg de naphtyléthylènediamide ont été dissous séparément, à l'abri de la lumière dans de l'eau distillée (environ 10 mL). Par la suite, la solution de sulfanilamide a été mélangée à la solution de naphtyléthylènediamide, et 1,058 mL d'acide orthophosphorique 85 % y a été ajouté, puis le volume de la solution finale a été complété à 36 mL avec de l'eau distillée.

III.2.2. Solution standard de nitrite de sodium

La solution standard de nitrite de sodium (NaNO_2) a été préparée à une concentration de 1 mM, en dissolvant 0,69 mg de NaNO_2 dans de l'eau distillée en quantité suffisante pour faire 10 mL.

III.3. Préparation des réactifs pour le dosage du malondialdéhyde

III.3.1. Solution d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67%

Pour préparer cette solution, 0,268 g de TBA ont été dissous dans un volume d'eau distillée suffisant pour faire 40 mL de solution.

III.3.2. Solution d'acide trichloroacétique (TCA) 20%

Pour préparer cette solution, 4 g de TCA ont été dissous dans un volume d'eau distillée suffisant pour faire 20 mL de solution.

III.4. Préparation des réactifs pour le dosage du glutathion

Tampon Tris-HCl (50 mM ; pH 7,4 ; KCl 150 mM) comme décrit ci-haut

III.4.1. Tampon phosphate (0,1M ; pH 6,5)

Pour préparer le tampon phosphate (0,1M ; pH 6,5), 8,91 g de phosphate dissodique hydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ont été dissous dans 500 mL d'eau distillée et 6,5 g de phosphate

monosodique hydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ont été dissous dans 500 mL d'eau distillée. A 500 mL de la solution de la solution de phosphate monosodique hydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ont été ajoutés d'un coup 200 mL de phosphate dissodique dihydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), puis goutte à goutte 80 mL de cette même solution, ce qui a donné un volume finale d'environ 780 mL de tampon phosphate (0,1 M; pH 6,5).

III.4.2. Réactif d'Ellman

Pour préparer le réactif d'Ellman, 4,96 mg d'acide 5,5'-dithio bis-nitrobenzoïque (DTNB) ont été introduits dans une fiole de 250 mL et le volume a été complété avec le tampon phosphate 0,1M ; pH 6,5 jusqu'au trait de jauge.

III.5. Préparation des réactifs pour le dosage de la catalase

III.5.1. Tampon phosphate (0,1 M; pH 7,5)

Pour préparer le tampon phosphate (0,1M ; pH 7,5), 8,91 g de phosphate dissodique hydraté ont été dissous dans 500 mL d'eau distillée et 6,5 g de phosphate monosodique hydraté ont été dissous dans 500 mL d'eau distillée. A 500 mL de la solution de phosphate dissodique dihydraté ont été ajoutés d'un coup 70 mL de la solution de phosphate monosodique hydraté, puis goutte à goutte 30 mL de cette même solution, ce qui donne un volume finale d'environ 600 mL de tampon phosphate (0,1 M; pH 7,5).

III.5.2. Solution de peroxyde d'hydrogène 50 mM

Pour préparer le peroxyde d'hydrogène 50 mM, 171 μL de peroxyde d'hydrogène 14,69 M ont été mis dans une éprouvette et le volume a été complété à 50 mL avec de l'eau distillée.

III.5.3. Solution de dichromate de potassium à 5 % (v/v)

Pour préparer le dichromate de potassium à 5 %, 2,5 g de dichromate de potassium ont été dissous dans un volume d'eau distillée suffisant pour faire 50 mL de solution.

III.5.4. Solution d'acide perchlorique

Pour préparer l'acide perchlorique, 50 mL de dichromate de potassium à 5 % (v/v) ont été mélangés à une quantité d'acide acétique glacial suffisante pour faire 150 ml de solution.

III.6. Préparation des réactifs pour le dosage de la superoxyde dismutase

III.6.1. Tampon carbonate

La solution de tampon carbonate (0,05 M, pH : 10,2) a été préparée en pesant dans l'ordre dans un bécher 4,3 g de carbonate de sodium ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) et 4,2 g de NaHCO_3 .

L'ensemble a été solubilisé dans 900 mL d'eau distillée. Le pH de la solution a été ramené à 10,2 avec de la soude 10 N et le volume a été complété à 1000 mL avec de l'eau distillée.

III.6.2. Solution d'adrénaline (0,3 mM)

Cette solution a été préparée par dissolution de 0,006 g d'adrénaline dans un volume d'eau distillée suffisant pour faire 100 mL de solution.

III.7. Préparation des réactifs pour le dosage des protéines

III.7.1. Solution de Sérum Albumine Bovin (BSA)

Pour préparer cette solution, 3 mg de BSA ont été introduits dans un volume d'eau distillée suffisant pour faire 1 mL de solution.

III.7.2. Solution de Biuret

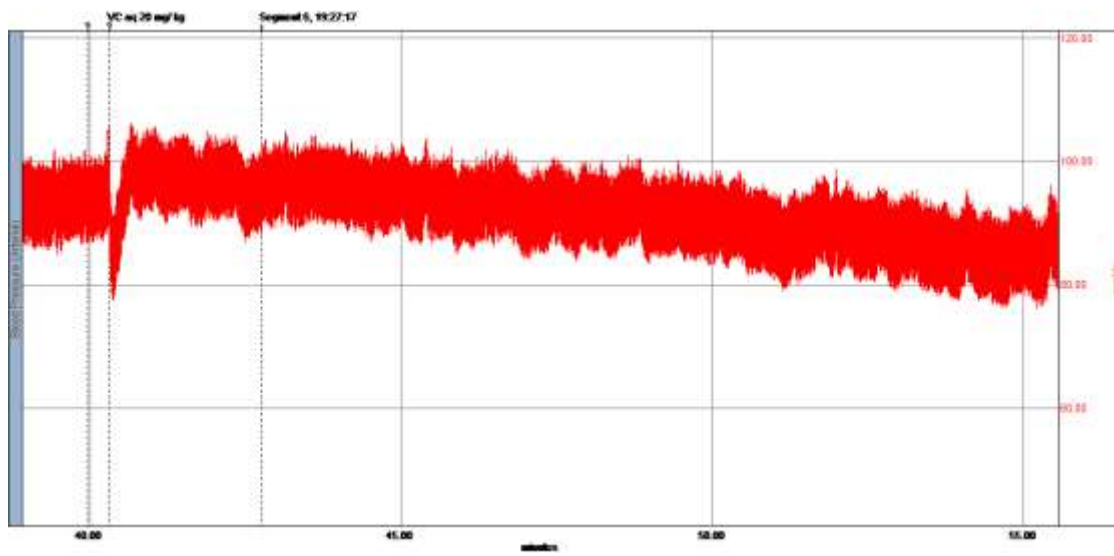
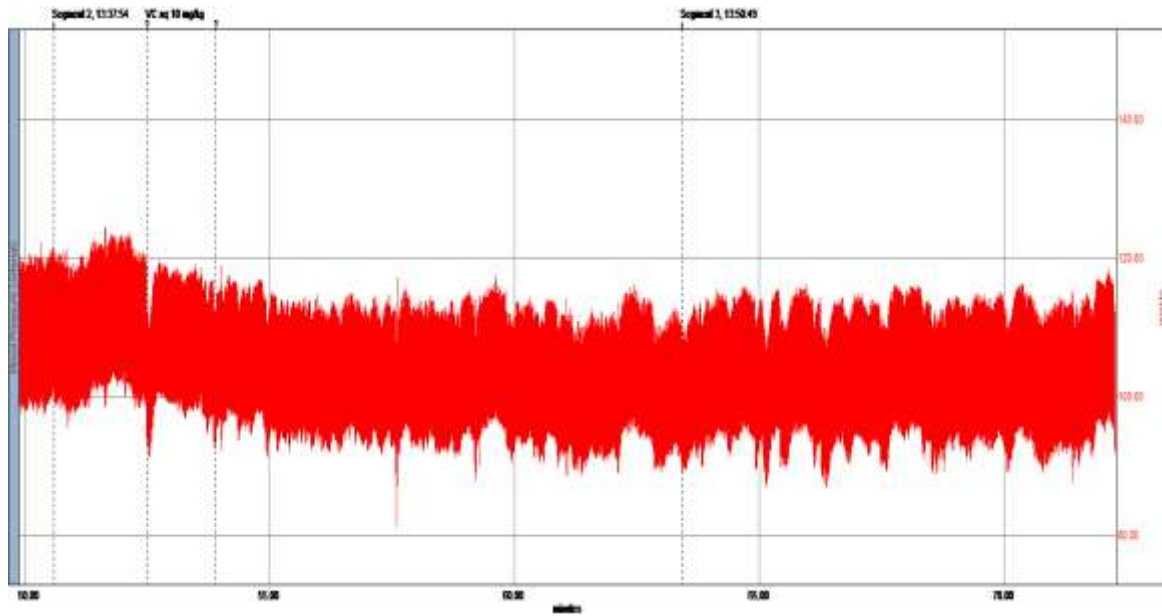
- Solution A : 0,75 g de sulfate de cuivre hydraté ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) et 3 g de tartrate de sodium et de potassium ont été dissous dans un volume d'eau distillée suffisant pour faire 100 mL de solution.
- Solution B : 15 g de soude ont été dissous dans un volume d'eau distillée suffisant pour faire 100 mL de solution.

Les deux solutions ont été mélangées et le volume final est ajusté à 500 mL avec de l'eau distillée.

- Solution de NaCl 0,9%

La solution de NaCl 0,9% a été obtenue en dissolvant 9 g de NaCl dans un volume d'eau distillée suffisant pour faire 1000 mL de solution.

IV- Enregistrements originaux de la pression artérielle obtenus après injection intraveineuse des extraits de VCMM et des substances pharmacologiques de référence



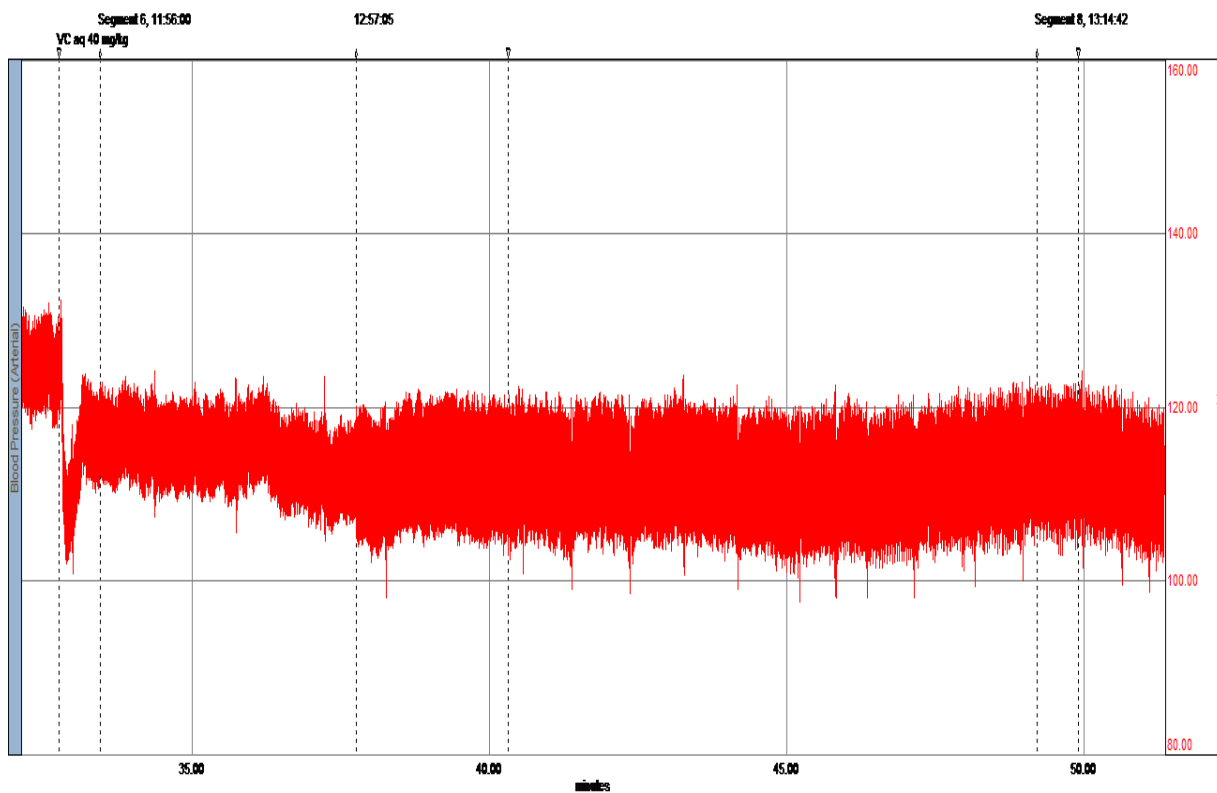
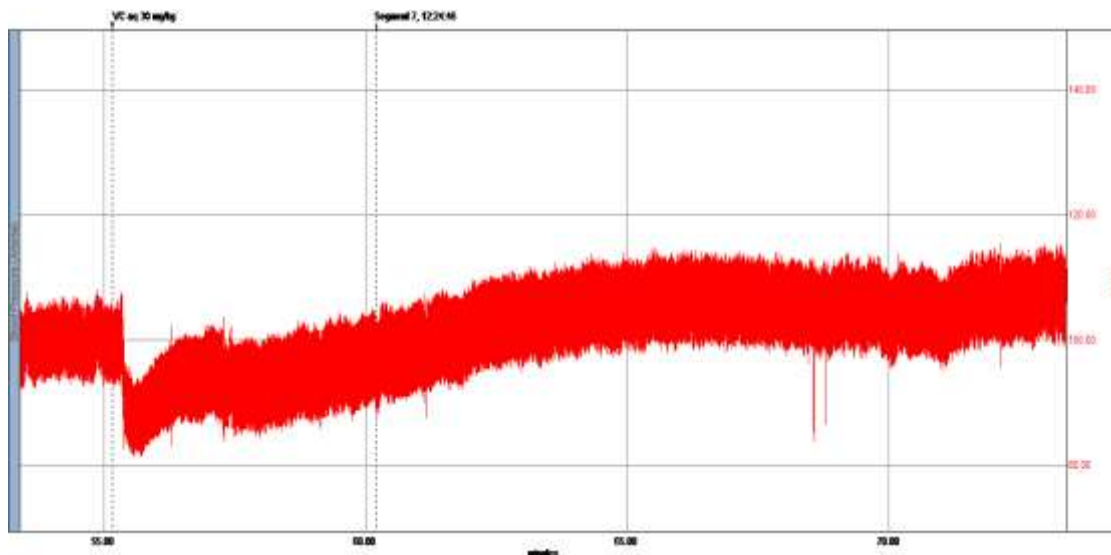
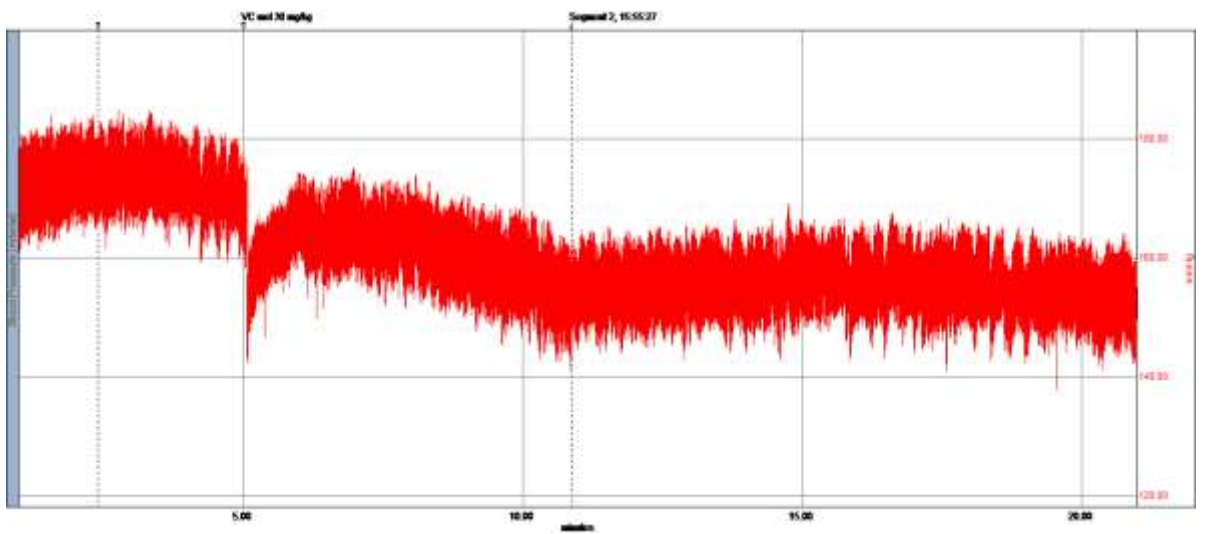
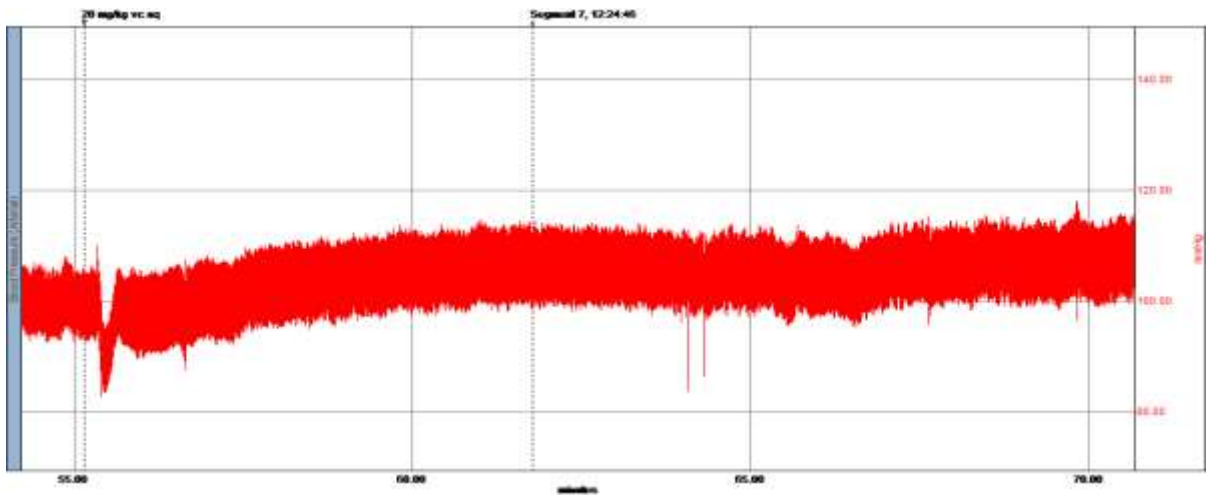
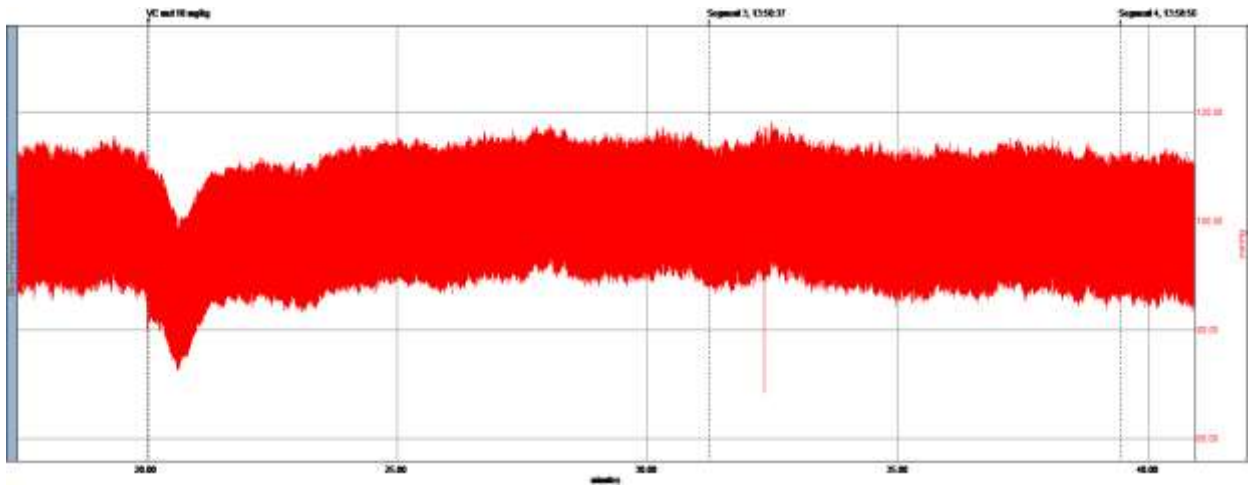


Figure 1 : Enregistrements originaux de la pression artérielle obtenus après injection intraveineuse de l'extrait aqueux de *V. cienkowskii* aux doses de 10, 20, 30 et 40 mg/kg

Les valeurs sur l'axe des abscisses représentent le temps. Les valeurs de la pression sont relevées avant administration des différents produits, au moment de l'administration, puis chaque 5 minutes après administration, ceci pendant 1 heure de temps. VCE : extrait aqueux de *V. cienkowskii*.



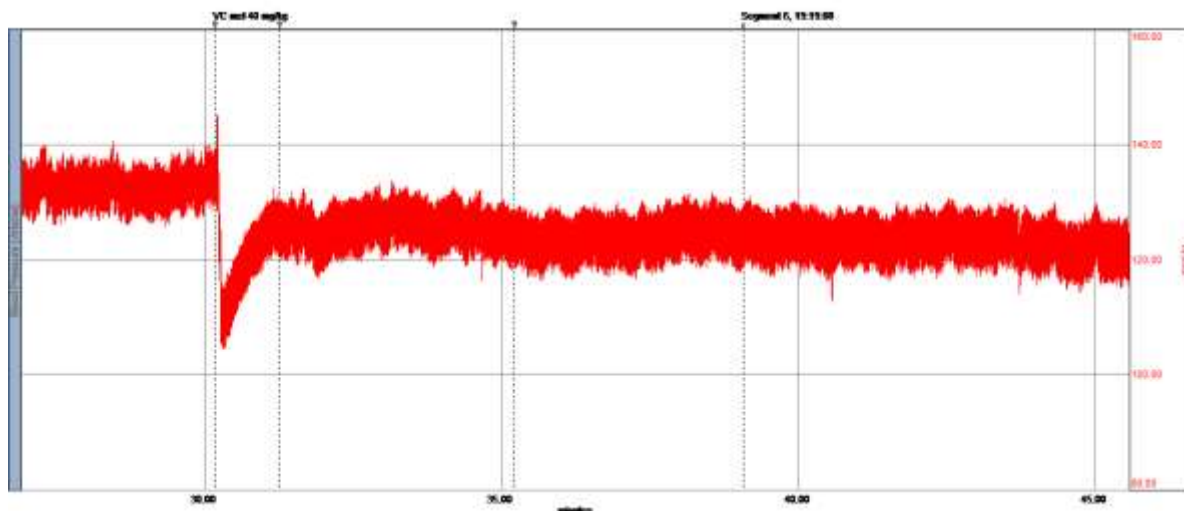


Figure 2 : Enregistrements originaux de la pression artérielle obtenus après injection intraveineuse de l'extrait CH₂Cl₂-MeOH de *V. cienkowskii* aux doses de 10, 20, 30 et 40 mg/kg

Les valeurs sur l'axe des abscisses représentent le temps. Les valeurs de la pression sont relevées avant administration des différents produits, au moment de l'administration, puis chaque 5 minutes après administration, ceci pendant 1 heure de temps. VCMM : extrait CH₂Cl₂-MeOH de *V. cienkowski*.

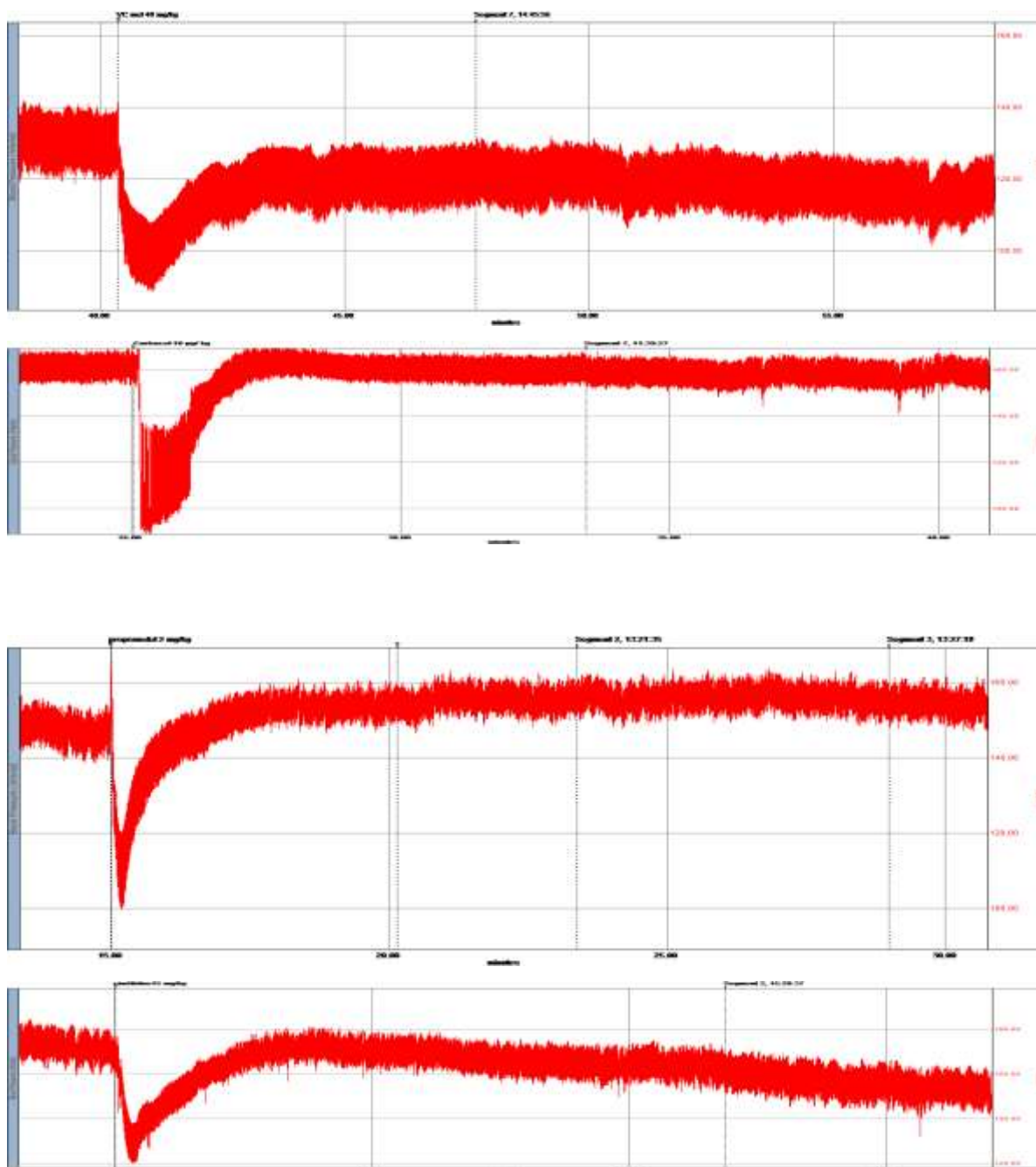


Figure 5 : Enregistrements originaux de la pression artérielle obtenus respectivement après injection intraveineuse de *V. cienkowskii* (40 mg/kg), du carbachol (10 µg/kg), du propranolol (2 mg/kg) et de la cimétidine (15 mg/kg).

Les valeurs sur l'axe des abscisses représentent le temps. Les valeurs de la pression sont relevées avant administration des différents produits, au moment de l'administration, puis chaque 5 minutes après administration, ceci pendant 1 heure de temps. VCMM : extrait au mélange CH₂Cl₂-MeOH de *Vitex cienkowskii*

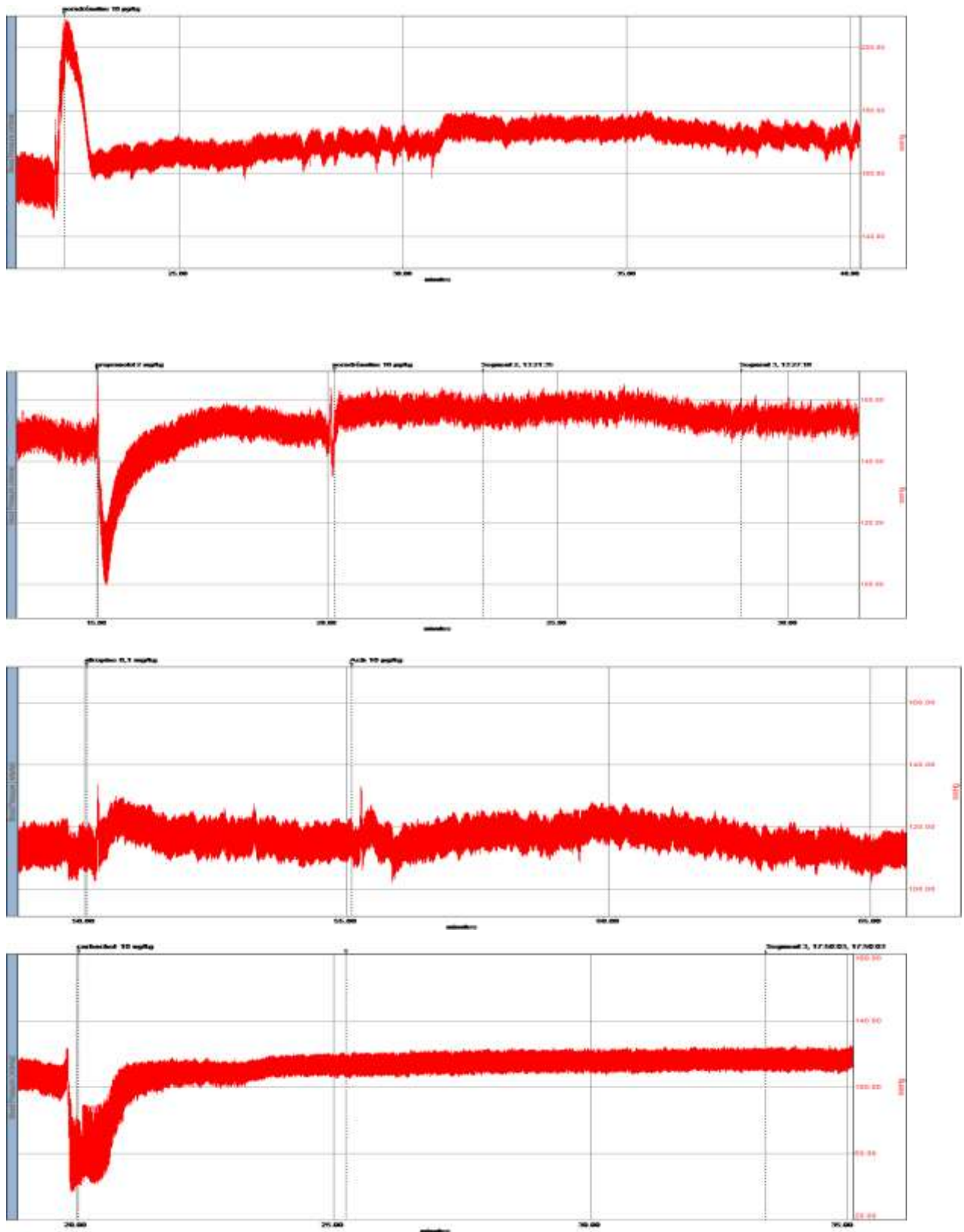


Figure 3 : Tracés originaux de l'effet de la noradrénaline (100 µg/kg) ou du carbachol (10 µg/kg) absence ou en présence de leurs antagonistes respectifs : propranolol (2 mg/kg) et atropine (0,1 mg/kg).

Les valeurs sur l'axe des abscisses représentent le temps. L'antagoniste est administré 5 minutes avant l'agoniste et les valeurs de la pression sont relevées toutes les 5 minutes pendant 1 heure de temps.

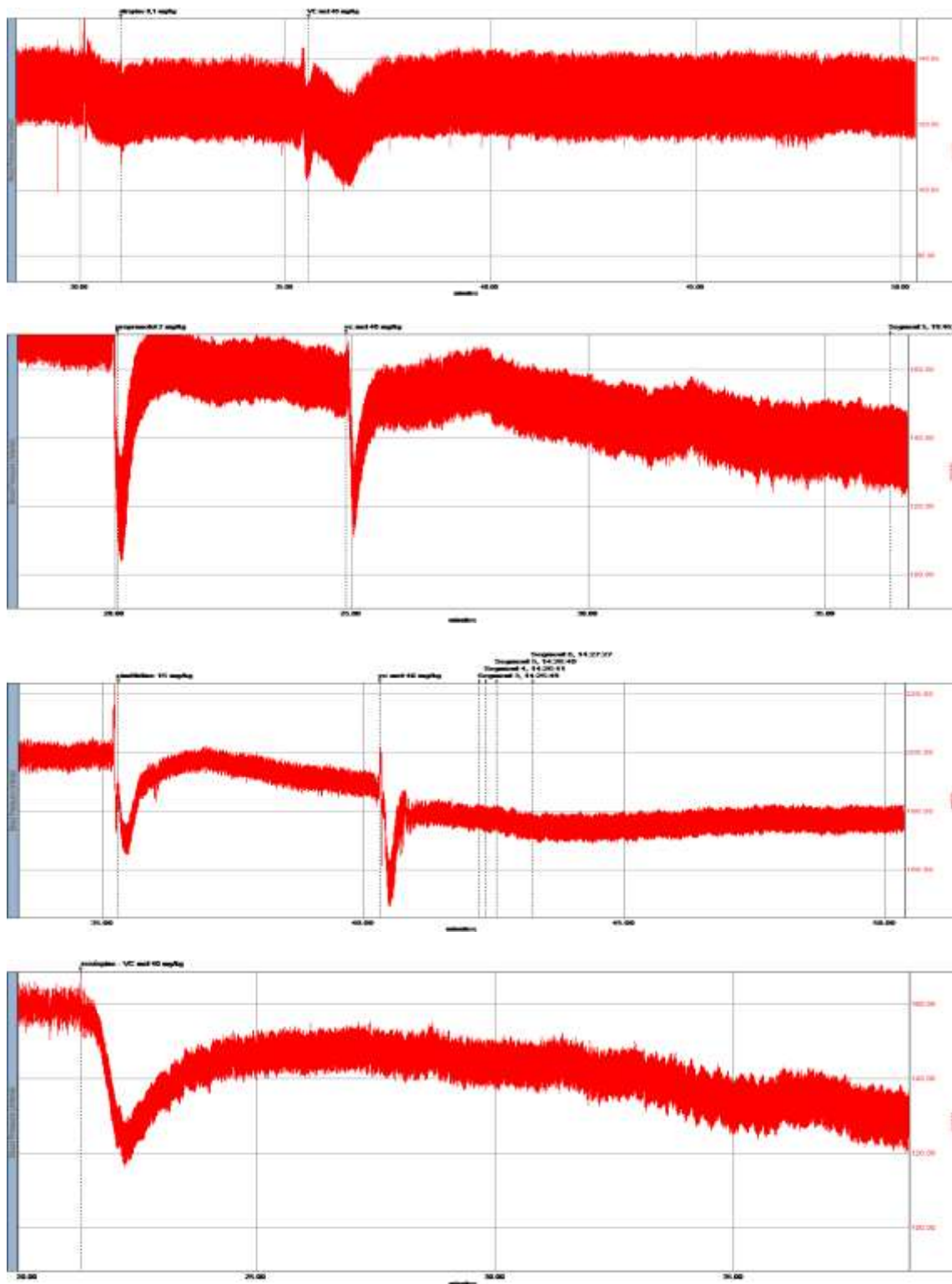


Figure 4: Tracés originaux illustrant l'effet de l'extrait $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ de *Vitex cienkowskii* sur la pression artérielle moyenne en présence de quelques antagonistes pharmacologiques chez les rats anesthésiés.

Les valeurs sur l'axe des abscisses représentent le temps. VCMM : extrait au mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ de *Vitex cienkowskii* (40 mg/kg). L'atropine (0,1 mg/kg), le propranolol (2 mg/kg) et la cimétidine (15 mg/kg) étaient administrée 5 min avant l'extrait de plante (40 mg/kg). La réserpine (5 g/kg) a été administrée quotidiennement pendant 3 jours avant l'administration de la plante.

**LISTE DE PUBLICATIONS ET
COMMUNICATIONS**

Publications

Metchi DFM, Nguemfo E, Nana P, Temdié RJ, E. Tom LNE, Nkeng-Efouet AP, Dongmo AB, Dimo T (2013): Cardioprotective effects of methanol/methylene chloride extract of *Vitex cincinnata* (Verbenaceae) in L-NAME induced hypertension. *European Journal of Integrative Medicine* 6: 519-526.

Dongmo AB, Azebaze AGB, **Metchi DMF**, Dimo T, Nkeng-Efouet AP, Devkota KP, Sontia B, Wagner H, Sewalde N, Vierling W (2010). Pentacyclic triterpenoids and ceramide mediate the vasorelaxant activity of *Vitex cincinnata* via involvement of NO/cGMP pathway in isolated rat aortic rings. *Journal of Ethnopharmacology* 133:204-12.

Communications

Alain Bertrand Dongmo, Flaure Mireille Donfack Metchi, Pepin Alango Nkeng-Efouet, Bruno Sontia, Theophile Dimo. Cardioprotective effects of methanol/ methylene chloride extract of *Vitex cincinnata* in L-NAME hypertensive rat. Communication orale à la 19^{ème} conférence annuelle des Biosciences à l'Université de Yaoundé I (29 Novembre au 1 Décembre 2012)

Flaure Mireille METCHI DONFACK, Alain Bertrand DONGMO, Guy Anatole AZEBAZE, Pepin ALANGO NKENG-EFOUET, Théophile DIMO. Antihypertensive effects of methanol/ methylene chloride extract of *Vitex cincinnata* in spontaneously hypertensive rats and Doca-salt induced hypertension. Communication orale à la 23^{ème} conférence annuelle des Biosciences à l'Université des Montagnes à Banganté (29 Novembre au 3 Décembre 2016)



Original article

Cardioprotective effects of methanol/methylene chloride extract of *Vitex cienkowskii* (Verbeceae) in L-NAME induced hypertension in rats

Flaure M. Donfack Metchi^a, Edwige Nguemfo^b, Paulin Nana^c, Joel R. Temdié^d,
Esther Ngo Lemba Tom^e, Pepin A. Nkeng-Efouet^f, Alain B. Dongmo^{g,*}, Theophile Dimo^a

^a Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaoundé I, P.O. Box 812, Yaoundé, Cameroon

^b Department of Biology Science, Faculty of Medicine and Pharmaceutical Sciences, P.O. Box 2701 Douala, Cameroon

^c School of Wood, Water and Natural Resources, Faculty of Agriculture and Agricultural Science of Dschang, P.O. Box 786, Ebolowa Campus, Cameroon

^d Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science University of Ngaoundere, P.O. Box 454, Ngaoundere, Cameroon

^e Department of Animal Biology Higher Teacher Training College, University of Yaoundé I, P.O. Box 3805, Yaounde, Cameroon

^f Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Dschang, P.O. Box 371, Dschang, Cameroon

^g Department of Animal Biology, Faculty of Science, University of Douala, P.O. Box 24157, Douala, Cameroon

Received 25 March 2013; received in revised form 17 July 2013; accepted 18 July 2013

Abstract

Introduction: *Vitex cienkowskii* Kotschy & Peyritsch (VC) stem bark is commonly used in Cameroonian traditional medicine to treat various metabolic illnesses including cardiovascular diseases. The present study was designed to investigate the mechanisms of hypotensive effects of methanol/methylene chloride extract of *Vitex cienkowskii* and its cardioprotective effects after a subchronic treatment.

Methodology: Hypotensive mechanisms was studied on blood pressure and heart rate of anesthetized normotensive rats, by intravenous administration of VC extract (40 mg/kg) in presence of atropine (0.1 mg/kg), propranolol (2 mg/kg), cimetidine (15 mg/kg), or reserpine (5 mg/kg). Preventive effects were studied after oral administration of extract (200 or 400 mg/kg) or captopril (25 mg/kg) simultaneously with L-NAME (40 mg/kg) in rats for 4 weeks. Body weight and food intake were measured weekly. At the end of treatment, blood pressure and heart rate were recorded. Heart, aorta, kidneys and liver were weighted. Reduced glutathione, malondialdehyde, superoxide dismutase, nitric oxide, catalase and lipid profile were measured.

Results: The hypotensive effect of VC was significantly reduced by atropine. The extract prevented L-NAME hypertension and improved body weight and food intake of rats. VC reduced left ventricular hypertrophy, improved antioxidant status and lipid profile.

Conclusion: The MeOH-CH₂Cl₂ stem bark extract of *Vitex cienkowskii* exerts cardioprotective effect in L-NAME induced hypertension. This effect could be due at least in part by improving endothelial function, lipid profile and oxidative status. These findings justify the traditional use of VC as treatment in cardiovascular disorders.

© 2013 Elsevier GmbH. All rights reserved.

Keywords: *Vitex cienkowskii*; L-NAME; Hypertension; Antioxidant; Cardioprotective

Introduction

In sub-Saharan Africa, it is estimated that 150 million persons will be hypertensive by 2025 [1]. In Cameroon, the prevalence of hypertension in a rural area in the process of urbanization has doubled in ten years [2]. Hypertension is one of the leading

causes of death in adults worldwide. It is one of the main risk factors for serious cardiovascular disease such as coronary heart disease, stroke, heart failure, kidney failure, damage to blood circulation in the legs and some eyes problems [3]. Origins of hypertension are multiple. There are controllable factors such as obesity, poor diet, excessive consumption of salt or alcohol, physical inactivity and stress, and non-controllable factors such as heredity and age. Treatments of hypertension are usually diuretics, beta blockers, alpha blockers, calcium channel blockers, angiotensin II receptors inhibitors, inhibitors of angiotensin-converting enzyme and mimetic nitric oxide. High blood pressure is particularly dangerous because it usually

* Corresponding author at: Laboratory of Animal Physiology, Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Douala, P.O. Box. 24157, Douala, Cameroon. Tel.: +237 76491950.

E-mail address: alainberd@yahoo.fr (A.B. Dongmo).

remains silent, which greatly increases the risk of complications. Patients balk the necessity of treatment in the absence of obvious symptoms, and most importantly, because of the high cost of drugs in modern medicine. Therefore in developing countries such as Cameroon, people resort to traditional medicine by phytotherapy to solve their health problems. They are encouraged by the affordability, efficiency and availability of this medicine [4]. However, scientific investigations are necessary to confirm these therapeutic claims and to regulate the use of these herbal drugs by populations.

The genus *Vitex* belonging to the family of Verbenaceae [5] and has been reported to treat depression, venereal diseases, malaria, asthma, allergy, wounds, skin diseases, snake bite and body pains [6]. *Vitex cienkowskii* Kotschy & Peyritsch is a deciduous tree, commonly used in Cameroon traditional medicine to treat cardiovascular diseases. Some phytochemical work on *Vitex* species revealed the presence of iridoid glycosides [7,8], flavonoids [9–11], diterpenoids [11,12], ecdysteroids [7,13], and essential and fatty oils [14]. Previous studies have shown the vasorelaxant activities of VC on guinea-pig aortic ring [15]. Recently, the hypotensive and endothelium dependent vasorelaxant effects of the methanol/methylene chloride extract from the stem bark of VC in Wistar rats have been reported. These effects could be linked to the presence of flavonoids, pentacyclic triterpenoids (oleanolic acid, maslinic acid, salvinA) and a sphingosine-type (ceramide) [16]. In continuation of these studies, we aimed to study the possible mechanisms involved in the hypotensive effect of methanol/methylene chloride stem bark extract of VC in normotensive rats, and its effects on blood pressure, oxidative stress and lipid profile of N^G -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)-induced hypertensive rats.

Materials and methods

Plant materials and preparation of the extract

VC fresh barks were collected in Foumban, in May (West Region-Cameroon). The plant was identified at the National Herbarium (HNC) of Yaounde-Cameroon, in comparison with the existing Voucher's specimen, deposited under number 32721HNC. The stem barks were dried at room temperature and crushed into powder. The powder (1300 g) was macerated at room temperature, in 4 L of methylene chloride/methanol mixture (1:1), for 72 h and filtered. The filtrate was concentrated in a rotary evaporator at 70 °C under reduced pressure and 38 g of a brown residue was obtained (W/W yield: 2.92%).

Experimental animals

Male Wistar rats of 10–12 weeks of age, weighing 180–200 g were selected for these experiments. The animals were raised in colony cages, in the animal house of the University of Yaounde I, Cameroon, under standard conditions of light (12 h light/dark cycle) and temperature (23–25 °C). They received a standard commercial diet and tap water *ad libitum*. Experimental protocols used in this study was according to the standard ethical guidelines for laboratory animal use and care as described in the

European Community guidelines; EEC Directive 86/609/EEC, of the 24th November 1986 [17].

Blood pressure and heart rate measurements

Blood pressure and heart rate were recorded by direct method. Rats were anaesthetized with intraperitoneal injection of 15% ethyl carbamate (1.5 g/kg). The trachea was exposed and cannulated to facilitate spontaneous respiration. A polyethylene catheter was inserted into the rat carotid artery. This catheter was linked to the transducer connected to the recorder hemodynamic “Biopac Student Lab MP type 35. Another catheter was inserted into the femoral vein and a bolus injection of 10% heparin (0.1 mL/100 g body weight) was immediately administered. The animal was then equilibrated for at least 30 min before the administration of any test substance. After the period of equilibration, test substances were injected through the catheter inserted into the femoral vein.

Mechanisms studies of hypotensive effects of VC

For the study of action mechanism of our extract, 25 normotensive rats were divided in five groups of five rats each. VC was dissolved in Mac Even solution to obtain a final concentration of 40 mg/mL. The extract at the dose of 40 mg/kg (0.1 mL/100 g of body weight) was administered to the first group. In another three groups, three antagonists, atropine (0.1 mg/kg), propranolol (2 mg/kg), or cimetidine (15 mg/kg) were administered respectively 5 min before the intravenous administration of VC (40 mg/kg). The last group was treated orally with reserpine (5 mg/kg) for 3 days before the intravenous administration of VC (40 mg/kg). Arterial pressure and heart rate were recorded 1 h following the extract administration.

Subchronic effects of VC

A total of 31 normotensive rats were randomly divided into five groups. The first group made of 5 rats served as control and received distilled water; the second group made of 7 rats received only L-NAME (40 mg/kg); the third group constituted of 6 rats received concomitantly L-NAME (40 mg/kg) and captopril (25 mg/kg); the fourth group also constituted of 6 rats received concomitantly L-NAME (40 mg/kg) and plant extract (200 mg/kg) and the last group made of 7 rats received concomitantly L-NAME (40 mg/kg) and plant extract (400 mg/kg). All these products were dissolved in water and given daily *per os* to the animals for a period of 28 days. During this period, food consumption and body weight were noted. At the end of treatment, the rats were fasted for 12 h before the registration of arterial pressure and heart rate.

Collection of samples and estimation of biochemical parameters

After recording of cardiovascular parameters, blood samples were collected in dry tubes and let rest for 30 min at room temperature. Serum obtained by centrifugation (3000 × g for

10 min) was stored at -20°C . Heart, aorta, liver and kidneys were removed rapidly, cleaned of adipose tissue and weighed. Left ventricle plus septum and right ventricle were separated from total heart and weighed. Entire heart and aorta were crushed in Mac Even solution while liver and kidneys were crushed in tris buffer solution to obtain homogenates at 20%. After centrifugation ($3000 \times g$ for 30 min), supernatant was collected and stored at -20°C for biochemical analyses. Nitric oxide (NO) assay was performed using the Griess method [18]. Superoxide dismutase (SOD) activity was assayed according the method described by Misra and Fridovich [19], reduced glutathione (GSH) by Ellman [20], catalase by Sinha [21]. Malondialdehyde (MDA) was assayed according to Wilbur et al. [22]. Triglycerides, total cholesterol and HDL-cholesterol were estimated by using specific colorimetric kits (Fortress Diagnostics). LDL-cholesterol was calculated according to Friedwald formula [23]. All these parameters were determined by measurement of the optical density of the reaction products at the corresponding wavelengths with spectrophotometer (Genesys 20, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

Statistical analysis

The results were expressed as means \pm SEM and analyzed with Graph Pad InStat Software. The comparisons within the experimental groups were made using one way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's test. P values less than 0.05 were considered significant.

Results

Mechanisms of hypotensive effects of VC in anaesthetized normotensive rats

The effects of four antagonists, atropine, propranolol, cimetidine and reserpine on hypotensive response of the methanol/methylene chloride extract of VC of anesthetized normal rats are shown in Fig. 1A and B. VC extract (40 mg/kg) caused decrease in the mean arterial pressure (MAP) in rats.

The pretreatment of normotensive rats with atropine has significantly ($P < 0.01$) reduced the hypotensive response of VC (Fig. 1A). Propranolol (2 mg/kg), a non-specific β -adrenergic receptor antagonist, cimetidine (15 mg/kg) a H_2 -receptor and reserpine, inhibitor of vesicular storage of biogenic amines did not significantly modified the hypotensive response of VC. So the decline percentages of mean arterial pressure were 18.02, 40.89, 23.27 and 37.02% respectively in presence of atropine, cimetidine, reserpine and propranolol instead of 36.04% without antagonist. These antagonists did not significantly modify the heart rate response to the plant extract (Fig. 1B).

Subchronic effects of VC

Body weight

As shown in Table 1, the body weight increased in all groups during the treatment, however this increase was low in test groups compared to control. Rats treated with L-NAME

Table 1
Effects of *Vitex ctenkowskii* on body weight and food intake of L-NAME hypertensive rats after 28 days of treatment.

Groups	Body weight variations (%)				Food intake (g/100 g of body weight)			
	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4
Control (5)	7.97 \pm 0.27	12.91 \pm 0.50	18.80 \pm 0.58	22.74 \pm 0.45	72.00 \pm 4.26	95.19 \pm 5.39	106.16 \pm 5.33	111.13 \pm 5.84
L-NAME (7)	3.33 \pm 0.50**	7.03 \pm 0.53**	9.34 \pm 0.33**	12.86 \pm 1.30**	55.88 \pm 2.57**	60.46 \pm 2.82**	64.40 \pm 2.93**	65.40 \pm 3.17**
L-NAME + captopril (6)	6.71 \pm 0.44 ^b	9.71 \pm 0.55 ^b	10.71 \pm 0.58 ^b	13.04 \pm .086 ^b	67.64 \pm 2.92	73.17 \pm 3.17	74.49 \pm 3.48	79.83 \pm 3.94 ^b
L-NAME + VC (200 mg/kg) (6)	7.14 \pm 0.51 ^b	9.43 \pm 0.34 ^b	11.34 \pm 0.53 ^b	13.97 \pm 0.46 ^b	59.14 \pm 5.13 ^b	68.66 \pm 5.38 ^b	73.66 \pm 6.13 ^b	78.25 \pm 6.49 ^b
L-NAME + VC (400 mg/kg) (7)	7.33 \pm 0.50 ^b	10.61 \pm 0.54 ^b	12.76 \pm 0.72 ^b	14.90 \pm 1.70 ^b	68.03 \pm 4.04 ^a	75.82 \pm 4.45 ^a	80.98 \pm 4.72 ^a	86.17 \pm 4.62 ^a

Data represent the mean \pm SEM of each group; g/100 g of body weight; quantity taken in g per animal per week; (): number of animals in each group. VC: *Vitex ctenkowskii*.

** $P < 0.01$, significantly different compared to control.

^a $P < 0.05$, significantly different compared to L-NAME.

^b $P < 0.01$, significantly different compared to L-NAME.

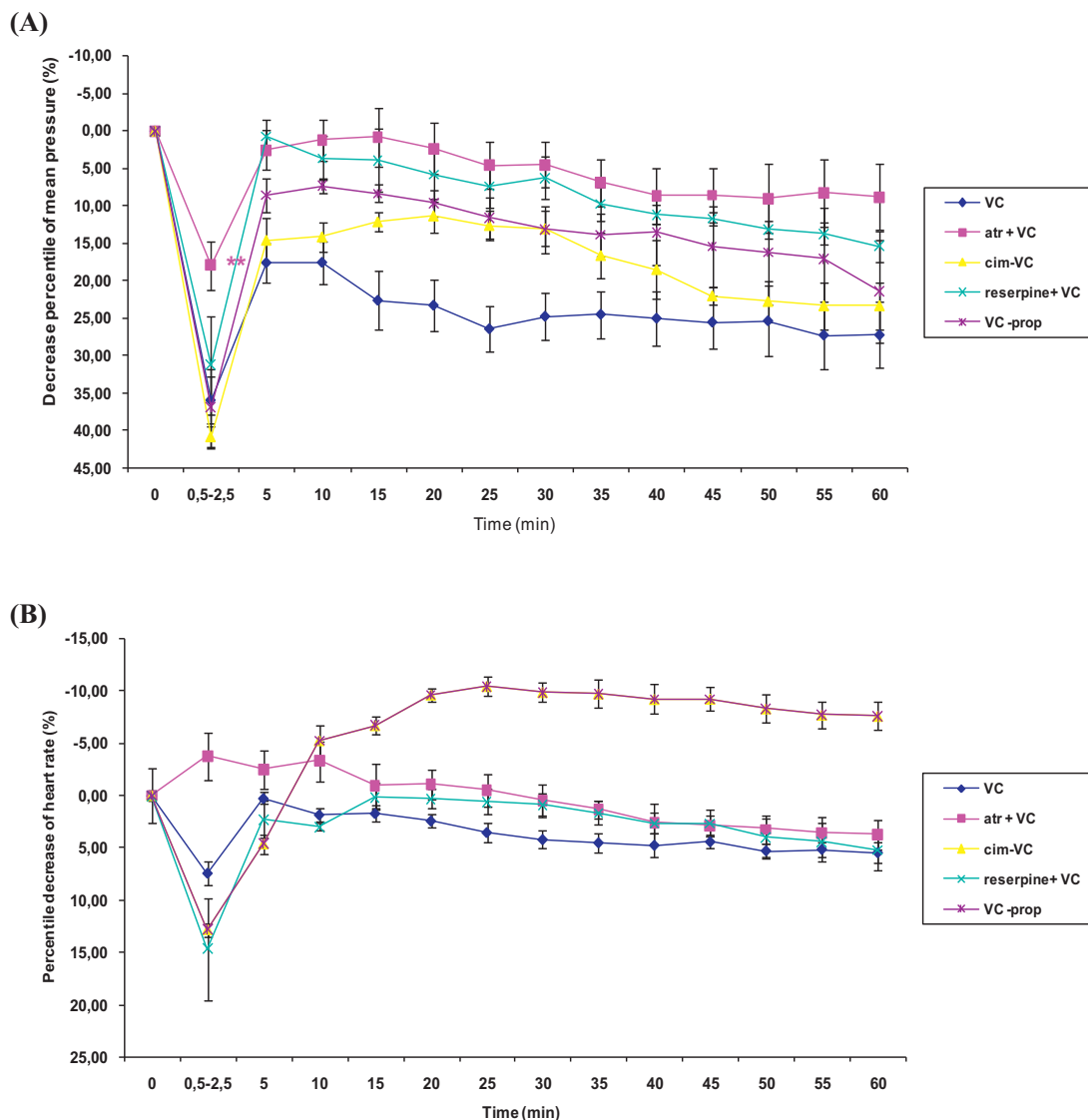


Fig. 1. Changes on arterial pressure (A) and heart rate (B) of anesthetized rats after intravenous administration of VC (*Vitex cienkowskii*: 40 mg/kg) 5 min prior injection of atr (atropine: 0.1 mg/kg) or prop (propranolol: 2 mg/kg) or cim (cimetidine: 15 mg/kg). Reserpine (5 mg/kg) was administered *per os* during 3 days before plant extract. $n = 5$; each bar represents the mean \pm SEM of group; $**P < 0.01$, significantly different compared to control.

were showed the lowest increasing of body weight which was significant ($P < 0.01$) compared to neutral control. Thus the percentages of growth were 56.55, 57.36, 61.42 and 65.55% respectively for L-NAME, captopril, extract at the doses of 200 and 400 mg/kg. In rats treated with plant extract and captopril, the increase of body weight was significantly reduced ($P < 0.01$) from the third week compared to control.

Food consumption

The effects of chronic administration of VC on food are showed in Table 1. Treatment of rats during 4 weeks with L-NAME has induced a significant ($P < 0.01$) drop in food consumption compared to neutral control. Treatment with captopril and plant extract blunted the decrease in food intake observed in hypertensive group. This effect was significantly marked with plant extract at the dose of 400 mg/kg during the treatment. So, the percentages of decrease of food intake at the fourth week

were 41.25, 28.29, 29.71, and 22.60% respectively for L-NAME, captopril, extract at the doses of 200 and 400 mg/kg. The plant extract at the dose of 200 mg/kg significantly ($P < 0.05$) blunt the decrease of food intake the third week.

Sub chronic effect of the extract on blood pressure and heart rate

Four weeks treatment with L-NAME (40 mg/kg) induced a significant increase ($P < 0.01$) in arterial pressure compared to control group. However, VC and captopril prevented the increase of arterial blood pressure when compared to hypertensive control. The increase percentages of arterial pressure at the end of treatment were 57.07, 0.66, 5.26 and -5.73% respectively for L-NAME, captopril, extract at the doses of 200 and 400 mg/kg. All treatments did not alter significantly heart rate (Fig. 2).

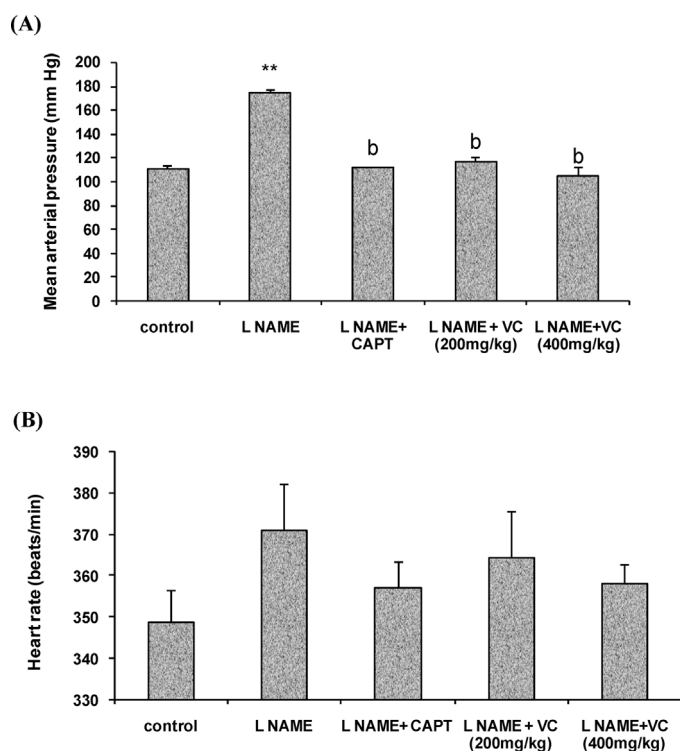


Fig. 2. Effects of *Vitex cincinnoskii* on mean arterial pressure (A) and heart rate (B) of L-NAME hypertensive rats after 28 days of treatment. Each bar represents the mean \pm SEM of group; ** $P < 0.01$, significantly different compared to control; ^b $P < 0.01$, significantly different compared to L-NAME. VC: *Vitex cincinnoskii*.

Subchronic effect of the extract on relative weight of organs

The effects of plant extract on relative organs weight after a treatment of 28 days are summarized in Fig. 3. A significant ($P < 0.01$) increase of relative weight of left ventricle of L-NAME treated rats was observed. However, this hypertrophy of left ventricle was significantly reduced in groups which received captopril and plant extract when compared to hypertensive control. Thus, the increase percentages in weight of left ventricle were 22.66, 17.12, 16.63 and 12.80% respectively for L-NAME, captopril, extract at the dose of 200 and 400 mg/kg. There were no modifications on weight of right ventricle, liver and kidneys compared to controls.

Subchronic effects of the extract on oxidative stress and lipid profile

Oxidative stress

Table 2 summarizes the effects of VC on level of nitric oxide, reduced glutathione, catalase, superoxide dismutase and malondialdehyde after 28 days of treatment.

Treatment with L-NAME during 28 days led to a significant ($P < 0.01$) decrease in nitric oxide levels in aorta, heart, liver and kidneys. The percentages of decrease of nitric oxide respectively for L-NAME, captopril, extract at the doses of 200 and 400 mg/kg were 44.01, 2.97, 18.35 and 9.98 in aorta, and 29.33, 5.70, 7.52 and 4.35% in heart. Plant extract and captopril

significantly ($P < 0.01$) increased nitric oxide levels in aorta, heart, liver and kidneys when compared to L-NAME group

Treatment of rats with L-NAME dropped significantly the glutathione level in aorta, kidneys, liver ($P < 0.01$), and heart ($P < 0.05$) when compared control group. So, the decline percentages in aorta were 63.23, 5.29, 9.69 and -39.63% respectively for L-NAME, captopril, extract at the doses of 200 and 400 mg/kg. Treatment with VC increased significantly the glutathione level in aorta, liver, kidneys ($P < 0.01$) and heart ($P < 0.05$) when compared to control group or L-NAME treated group. Captopril increased significantly the glutathione level in aorta, liver, kidneys and heart ($P < 0.01$) when compared L-NAME treated rats.

The subchronic administration of L-NAME in rats significantly decreased activity of SOD in kidneys, heart ($P < 0.05$), and aorta ($P < 0.01$) when compared to control group. The values of decline percentages in kidneys were 52.47, 10.36, 19.04 and 2.88% respectively for L-NAME, captopril, extract at the doses of 200 and 400 mg/kg. Treatment with VC (400 mg/kg) blunted significantly the decrease in SOD activity in aorta ($P < 0.01$) and kidneys ($P < 0.05$) observed in hypertensive group. Captopril blunted significantly ($P < 0.01$) the decrease of SOD only in aorta. The activity of SOD remained significantly ($P < 0.01$) low in aorta of rats treated with plant extract at the dose of 200 mg/kg.

The level of malondialdehyde (MDA) significantly ($P < 0.01$) increased in aorta, heart, liver and kidneys of rats which received L-NAME compared to control group. So, the increase percentages of malondialdehyde in aorta were 222.33, 18.91, 30.54, and 1.30% respectively for L-NAME, captopril, extract at the doses of 200 and 400 mg/kg. VC (400 mg/kg) and captopril prevented the increase in MDA level in aorta, heart, liver and kidneys compared to L-NAME group. However, the plant extract at the dose of 200 mg/kg could not prevent the increase of malondialdehyde in liver.

All treatments did not modify the catalase activity at the end of treatment.

Lipid profile

Total cholesterol, triglycerides and LDL cholesterol level were significantly ($P < 0.01$) increased whereas HDL cholesterol was significantly ($P < 0.01$) reduced in rats which received L-NAME compared to control group. The increase percentages of LDL cholesterol were 73.13, -2.76 , 4.55, and 3.40% respectively for L-NAME, captopril, extract at the doses of 200 and 400 mg/kg. VC and captopril significantly dropped ($P < 0.01$) total cholesterol, triglycerides and LDL cholesterol and increased the HDL cholesterol when compared to hypertensive control (Table 3).

Discussion

Vitex cincinnoskii is a plant commonly used in Cameroon for the treatment of cardiovascular diseases [16]. The present study investigates the possible mechanisms involved in the hypotensive response after an acute intravenous administration of the methanol/methylene chloride stem bark extract of VC in

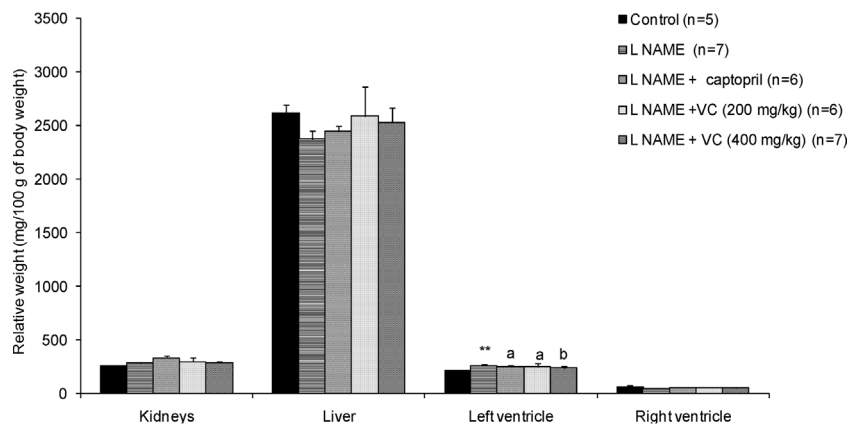


Fig. 3. Effects of *Vitex cincinnensis* on relative weight organs of L-NAME hypertensive rats after 28 days of treatment. Each bar represents the mean \pm SEM of group ** $P < 0.01$, significantly different compared to control; ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, significantly different compared to L-NAME. VC: *Vitex cincinnensis*.

Table 2
Effects of *Vitex cincinnensis* on oxidative stress parameters of L-NAME hypertensive rats after 28 days of treatment.

		Control (5)	L-NAME (7)	L-NAME+		
				Captopril (6)	VC 200 mg/kg (6)	VC 400 mg/kg (7)
NO (mmol/mL)	Aorta	94.39 \pm 3.42	52.85 \pm 5.68**	91.58 \pm 2.78 ^b	77.07 \pm 5.64 ^b	84.97 \pm 2.53 ^b
	Heart	105.89 \pm 3.92	81.18 \pm 4.62**	99.85 \pm 3.75 ^a	97.93 \pm 4.08 ^a	101.28 \pm 4.09 ^b
	Liver	105.34 \pm 5.82	48.92 \pm 6.11**	112.78 \pm 4.03 ^b	81.28 \pm 8.75 ^b	89.48 \pm 6.55 ^b
	Kidneys	127.78 \pm 4.60	90.64 \pm 5.20**	122.78 \pm 4.85 ^b	115.31 \pm 6.38 ^a	117.87 \pm 7.73 ^a
Glutathione (mmol/mg tissue)	Aorta	13.55 \pm 0.68	4.98 \pm 0.96**	12.83 \pm 1.09 ^b	12.24 \pm 1.08 ^b	18.92 \pm 1.46** ^b
	Heart	18.56 \pm 1.72	10.14 \pm 0.89*	20.23 \pm 2.40 ^b	18.00 \pm 1.54 ^a	19.82 \pm 1.90 ^a
	Liver	13.12 \pm 1.05	5.91 \pm 0.90**	12.38 \pm 0.72 ^b	12.52 \pm 1.22 ^b	15.53 \pm 1.98 ^b
	Kidneys	16.26 \pm 2.57	6.78 \pm 0.38**	15.62 \pm 1.47 ^b	14.75 \pm 1.23 ^b	15.62 \pm 2.09 ^b
SOD (U/mg proteins)	Aorta	0.59 \pm 0.07	0.20 \pm 0.03**	0.49 \pm 0.04 ^b	0.33 \pm 0.03**	0.46 \pm 0.03 ^b
	Heart	1.05 \pm 0.06	0.71 \pm 0.05*	1.11 \pm 0.17	0.94 \pm 0.12	1.46 \pm 0.14
	Liver	1.05 \pm 0.16	0.71 \pm .15	1.11 \pm 0.23	0.94 \pm 0.14	1.46 \pm 0.33
	Kidneys	1.35 \pm 0.10	0.64 \pm 0.20*	1.20 \pm 0.16	1.09 \pm 0.19	1.32 \pm 0.20 ^a
Catalase (H ₂ O ₂ destroyed (μ M)/min/mg proteins)	Aorta	2.23 \pm 0.07	1.96 \pm 0.27	2.34 \pm 0.14	2.12 \pm 0.12	2.17 \pm 0.08
	Heart	2.36 \pm 0.16	1.94 \pm 0.31	2.14 \pm 0.27	2.09 \pm 0.11	2.12 \pm 0.15
	Liver	2.13 \pm 0.11	1.89 \pm 0.06	2.19 \pm 0.13	2.35 \pm 0.17	2.39 \pm 0.20
	Kidneys	1.92 \pm 0.22	1.59 \pm 0.22	1.79 \pm 0.11	1.61 \pm 0.10	1.84 \pm 0.18
Malondiadehyde (nmol/mg proteins)	Aorta	14.22 \pm 1.34	47.26 \pm 5.43**	16.91 \pm 3.29 ^b	18.56 \pm 2.45 ^b	14.41 \pm 1.00 ^b
	Heart	39.42 \pm 1.85	77.85 \pm 6.57**	54.34 \pm 5.81 ^b	56.75 \pm 3.94 ^a	51.54 \pm 1.88 ^b
	Liver	24.00 \pm 3.08	59.76 \pm 7.28**	24.53 \pm 2.41 ^b	44.00 \pm 4.08*	37.82 \pm 2.92 ^b
	Kidneys	40.12 \pm 4.32	54.74 \pm 4.25	36.85 \pm 4.99 ^a	33.63 \pm 4.73 ^a	34.08 \pm 4.18 ^a

Data represent the mean \pm SEM of each group; (n): number of animals in each group. NO: nitric oxide; SOD: super oxide dismutase; VC: *Vitex cincinnensis*.

* $P < 0.05$, significantly different compared to control.

** $P < 0.01$, significantly different compared to control.

^a $P < 0.05$, significantly different compared to L-NAME.

^b $P < 0.01$, significantly different compared to L-NAME.

Table 3
Effects of *Vitex cincinnensis* on lipid profile of L-NAME hypertensive rats after 28 days of treatment.

	Control (5)	L-NAME (7)	L-NAME+		
			Captopril (6)	VC 200 mg/kg (6)	VC 400 mg/kg (7)
Total cholesterol (mg/dL)	120.82 \pm 2.13	140.76 \pm 3.21**	120.12 \pm 4.24 ^b	122.39 \pm 3.01 ^b	121.29 \pm 2.84 ^b
Triglycerides (mg/dL)	138.89 \pm 5.61	172.22 \pm 7.71**	142.78 \pm 3.58 ^b	153.06 \pm 3.79	145.56 \pm 5.46 ^b
HDL cholesterol (mg/dL)	56.30 \pm 2.60	42.35 \pm 1.80**	55.84 \pm 1.73 ^b	53.37 \pm 2.49 ^b	54.19 \pm 2.53 ^b
LDL cholesterol (mg/dL)	36.74 \pm 3.28	63.97 \pm 1.30**	35.73 \pm 4.91 ^b	38.41 \pm 1.32 ^b	37.99 \pm 3.95 ^b

Data represent the mean \pm SEM of each group; (n) number of animals in each group; HDL cholesterol: high density lipoproteins cholesterol, LDL cholesterol: low density lipoproteins cholesterol; VC: *Vitex cincinnensis*.

** $P < 0.01$, significantly different compared to control.

^b $P < 0.01$, significantly different compared to L-NAME.

normotensive anesthetized rat, and its effects in arterial hypertension associated with chronic deficiency of nitric oxide.

The hypotensive mechanisms were evaluated in normotensive rat response of intravenous administration of VC (40 mg/kg). A unique dose (40 mg/kg) of VC was used in this study, since it induced a higher hypotensive effect in preliminary studies [16]. The hypotensive effect of VC was significantly blunted by atropine, an antagonist of muscarinic receptor. This means that, as acetylcholine, VC induces vasorelaxation by stimulating the production of endothelial NO/GMPc. These findings are in accordance with previous study which showed that, the vasorelaxant effect of our extract was significantly reduced by L-NAME and by ODO, a guanylyl cyclase inhibitor [16]. The fact that hypotensive response of extract is not reduced by propranolol, cimetidine or reserpine means that VC did not exert its effects through beta receptors or histaminic receptors or orthosympathic nervous system.

Oral administration of VC or captopril during 28 days prevented the rise of blood pressure, in rats treated concomitantly with L-NAME. In addition, this extract significantly increased the level of nitric oxide in aorta, heart, liver and kidneys of rats. L-NAME is an L-arginine analog which blocks nitric oxide production in endothelial cells resulting in elevation of blood pressure [24,25]. VC and captopril significantly prevented development of hypertension in rats. Captopril, an angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor blocks the production of angiotensin II and reduces blood pressure [26]. VC could prevent hypertension by NO/GMP_c releasing as shown in a previous study [16]. However, the possible hypotensive effect of the extract through ACE system could be explored.

In the current study, treatment with extract did not modify the heart rate, meaning that the reduction of blood pressure would be due to decrease in peripheral resistance.

The plant extract or captopril significantly reduced the weight of left ventricle which was greater in L-NAME treated rats. As our findings, Afkir et al. [27] showed that treatment of rats with L-NAME (40 mg/kg/days) during four weeks lead in ventricular hypertrophy. Ventricular hypertrophy is a compensatory response to chronic overloading in pressure or volume. This is due to the growth of cardiomyocytes and synthesis of collagen after elevation of angiotensin [28,29]. Thus, treatment which would act by inhibiting the ACE or angiotensin II could induce a net regression of ventricular hypertrophy. As mentioned by Gasparotto, the ACE inhibitory effects of flavonoids contained in VC could be responsible of regression of hypertrophy observed [30].

VC and captopril improved the decrease of body weight observed in hypertensive rat. This could be related to food intake which is proportional to NO level as described by several studies [31,32].

Arterial hypertension is associated with elevation of reactive oxygen species (ROS) which impairs the bioavailability of NO [33,34]. Thus, drugs which improve the oxidative status would be able to lower arterial blood pressure. In this study, the oxidative status was impaired in L-NAME treated group. Previous works showed that our extract possessed a free radical scavenging activity *in vitro* [16]. Subchronic treatment of animals with VC or captopril prevented decrease of glutathione,

SOD and elevation of MDA observed in L-NAME treated rats. Glutathione plays an excellent role in protecting cell from oxidative damage. It is shown that decrease of reduced glutathione in hypertensive rat, could be due to its conversion in oxidized glutathione for the purpose of scavenging reactive oxygen species (ROS) [35]. Likewise, SOD scavenges superoxide radical (O²⁻) by catalyzing its conversion into hydrogen peroxide (H₂O₂) and molecular oxygen [36]. The decrease in SOD activity in hypertensive rats might indicate its use further to increase in O₂. MDA, a marker of lipid peroxidation, plays an important role in development of atherosclerosis. The reduction of malondialdehyde level by our extract might be attributed to its compound, maslinic acid, a triterpenoid which acts as scavenger of free radicals or copper chelator to prevent LDL oxidation [37]. In addition, flavonoids contained in this extract would be able to inhibit LDL oxidation [38]. The antihypertensive effect observed in L-NAME-induced hypertension could be related in part to these antioxidative effects.

The blockage of nitric oxide synthase by L-NAME seems to be involved in dyslipidemia which plays an important role in the pathogenesis of hypertension [39–41]. Our extract and captopril have improved the lipid profile of hypertensive rat by increasing nitric oxide. Likewise, flavonoids present in our plant extract would have an inhibitory effect on the activity of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase (HMG CoA), that participates to the synthesis and absorption of cholesterol from intestine [42,43]. This might suggest that *Vitex cincinnensis* could prevent development of atherosclerosis.

Conclusion

In conclusion, this work shows that the methanol/methylene chloride extract of *Vitex cincinnensis* possesses antioxidant activity, protective effects on the vessels by improving the NO bioavailability. This helps in prevention of hypertension induced by L-NAME. Overall data justified the empirical uses of this plant in the treatment of cardiovascular disorders and indicates a beneficial effect of our extract in treatment of arterial hypertension associated with NO deficiency.

Conflict of interest statement

No conflict of interest declared.

Acknowledgment

We wish to express our sincere thanks to the International Foundation of Science for his financial support (*via* research grant F/4633-2).

References

- [1] Fourcade L, Touze J-E. Particularités et modalités de la prise en charge de l'hypertension artérielle dans les pays d'Afrique subsaharienne. Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine 2011;195:1269–83.
- [2] Fezeu L, Kengne AP, Balkau B, Awah PK, Mbanya JC. Ten-year change in blood pressure levels and prevalence of hypertension in urban

- and rural Cameroon. *Journal of Epidemiology and Community Health* 2010;64:360–5.
- [3] Bertrand E. Hypertension artérielle des populations originaires d'Afrique noire. Paris: Ed. Pradel; 1995. p. 6–7.
- [4] OMS (Organisation Mondiale de la Santé). *Médecine traditionnelle. Aide mémoire No 134*. Geneva: WHO; 2003, 4 pp.
- [5] Correa MP. *Dicionário das Plantas úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas P*, vol. IV. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional; 1926. p. 208.
- [6] Neuwinger HD. *African Traditional Medicine: A Dictionary of Plant Use and Applications*. Medical pharmaceutical. Stuttgart: Scientific Publishers; 2000. p. 589.
- [7] Nkeng-Efouet P. Contribution à l'étude des plantes médicinales du Cameroun: Les ecdysones et les irridoides des *Vitex*. Cameroun: Faculté des Sciences, Université de Yaoundé; 1987. Thèse de doctorat 3e cycle en chimie organique.
- [8] Kuruüzüm-Uz A, Ströck K, Demirezer LÖ, Zeeck A. Glucosides from *Vitex agnus-castus*. *Phytochemistry* 2003;63:959–64.
- [9] Wollenweber E, Mann K. Flavonols from fruits of *Vitex agnus-castus*. *Planta Medica* 1983;47:126–7.
- [10] Hirobe C, Qiao ZS, Takeya K, Itokawa H. Cytotoxic flavonoids from *Vitex agnus-castus*. *Phytochemistry* 1997;46:521–6.
- [11] Hajdú Z, Hohmann J, Forgo P, Martinek T, Dervarics M, Zupkó I, et al. Diterpenoids and flavonoids from the fruits of *Vitex agnus-castus* and antioxidant activity of the fruit extracts and their constituents. *Phytotherapy Research* 2007;21:391–4.
- [12] Hoberg E, Orjala J, Meier B, Sticher O. Diterpenoids from the fruits of *Vitex agnus-castus*. *Phytochemistry* 1999;52:1555–8.
- [13] Ramazanov NS. Ecdysteroids and irridoidal glycosides from *Vitex agnus-castus*. *Chemistry of Natural Compounds* 2004;40:299.
- [14] Sorensen JM, Katsiotis ST. Parameters influencing the yield and composition of the essential oil from Cretan *Vitex agnus-castus* fruits. *Planta Medica* 2000;66:245–50.
- [15] Sontia Influence of plant extracts (*Vitex cienkowskii* and *Danellia oliveri*) and physiological ions on vascular smooth muscles and electrophysiological properties of the heart muscle. Munich, Germany: Ludwig-Maximilians-Universität; 2005. Doctorate thesis.
- [16] Dongmo AB, Azebaze AGB, Metchi DMF, Dimo T, Nkeng-Efouet AP, Devkota KP, et al. Pentacyclic triterpenoids and ceramide mediate the vasorelaxant activity of *Vitex cienkowskii* via involvement of NO/cGMP pathway in isolated rat aortic rings. *Journal of Ethnopharmacology* 2010;133:204–12.
- [17] EEC: Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *Official Journal of the European Communities* 1986;L358:1–29.
- [18] Grand F, Guitton J, Goudable J. Optimisation des paramètres du dosage des nitrites et nitrates sériques par la technique de Griess. *Annales de Biologie Clinique* 2001;5:559–65.
- [19] Misra H, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine to adrenochrome and a simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry* 1972;247:3170–5.
- [20] Ellman GL. Tissue sulphydryl group. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1959;82:70–7.
- [21] Sinha AK. Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry* 1972;47:389–94.
- [22] Wilbur KM, Bernheim F, Shapiro OW. Determination of lipid peroxidation. *Archives of Biochemistry* 1949;24:305–10.
- [23] Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry* 1972;18:499–502.
- [24] Tsuchiya K, Shuhei T, Keisuke I, Shinji A, Yasumasa I, Yoshitaka K, et al. Dietary nitrite ameliorates renal injury in L-NAME-induced hypertensive rats. *Nitric Oxide* 2009;22:98–103.
- [25] Kang DG, Hur TY, Lee GM, Oh H, Kwon TO, Sohn EJ, et al. Effects of *Cudrania tricuspidata* water extract on blood pressure and renal functions in NO-dependent hypertension. *Life Sciences* 2002;70:2599–609.
- [26] Miguel-Carrasco JL, Monserrat MT, Mate A, Vázquez CM. Comparative effects of captopril and L-carnitine on blood pressure and antioxidant enzyme gene expression in the heart of spontaneously hypertensive rats. *European Journal of Pharmacology* 2010;632:65–72.
- [27] Afkir S, Nguetefack TB, Aziz M, Zoheir J, Cuisinaud G, Bnouham M, et al. *Arbutus unedo* prevents cardiovascular and morphological alterations in L-NAME-induced hypertensive rats. Part I: Cardiovascular and renal hemodynamic effects of *Arbutus unedo* in L-NAME-induced hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2008;116:288–95.
- [28] Choukroun G, Force T, Hajjar R. Mécanismes moléculaires de l'hypertrophie ventriculaire gauche. *Flammarion Médecine-Sciences* 2002;221–36.
- [29] Czech DA, Klosterman AE, Le Sueur KT. NG-nitro-arginine methyl ester reduces stress-related feeding in the rat tail-pinch model. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1998;19:91–6.
- [30] Gasparotto AJ, Gasparotto FM, Louren ELB, Crestani S, Stefanello MEA, Salvador MJ, et al. Antihypertensive effects of isoquercitrin and extracts from *Tropaeolum majus* L.: evidence for the inhibition of angiotensin converting enzyme. *Journal of Ethnopharmacology* 2010;134:363–72.
- [31] Czech AD, Kazel MR, Harris J. A nitric oxide synthase inhibitor, NG-nitro-L-arginine methyl ester, attenuates lipoprivic feeding in mice. *Physiology and Behavior* 2003;80:75–9.
- [32] Farr SA, Banks WA, Kumar VB, Morley JE. Orexin-A-induced feeding is dependent on nitric oxide. *Peptides* 2005;26:759–65.
- [33] Yeh C-T, Huang W-H, Yen G-C. Antihypertensive effects of Hsian-tsao and its active compound in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2009;20:866–75.
- [34] Ford RJ, Graham DA, Denniss SG, Quadrilatero J, James WE. Glutathione depletion in vivo enhances contraction and attenuates endothelium-dependent relaxation of isolated rat aorta. *Rare Free Radical Biology and Medicine* 2006;40:670–8.
- [35] Amani C, Aristatile B, Pushpavalli G, Pugalendi KV. Effects of *Melothria maderaspatana* leaf extract on antioxidant status in sham-operated and uninephrectomized DOCA-salt hypertensive rats. *Saudi Journal of Biological Sciences* 2011;18:99–105.
- [36] Jia J, Zhang X, Hua Y, Wua Y, Wang Q, Li N, et al. Evaluation of in vivo antioxidant activities of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in STZ-diabetic rats. *Food Chemistry* 2009;115:32–6.
- [37] Allouche Y, Beltrán G, Gaforio JJ, Uceda M, Mesa MD. Antioxidant and antiatherogenic activities of pentacyclic triterpenic diols and acids. *Food and Chemical Toxicology* 2010;48:2885–90.
- [38] Velayutham P, Anandh B, Dongmin L. Green tea catechins and cardiovascular health: an update. *Current Medicinal Chemistry* 2008;15(18):1840–50.
- [39] Cayatte AJ, Palacino JJ, Horten K. Chronic inhibition of nitric oxide production accelerates neointima formation and impairs endothelial function in hypercholesterolemic rabbits. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1994;14:753–9.
- [40] Naruse K, Shimizu K, Muramatsu M. Long-term inhibition of NO synthesis promotes atherosclerosis in the hypercholesterolemic rabbit thoracic aorta, PGH₂ does not contribute to impaired endothelium-dependent relaxation. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1994;14:746–52.
- [41] Saravanakumar M, Raja B. Effect of veratric acid on the cardiovascular risk of L-NAME-induced hypertensive rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 2012;59:553–62.
- [42] Sharma B, Balomajumder C, Roy B. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology* 2008;46:2376–83.
- [43] Feng L, Yu C, Ying K, Hua J, Dai X. Hypolipidemic and antioxidant effects of total flavonoids of *Perilla frutescens* leaves. *Food Research International* 2010;44:404–9.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Ethnopharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jethpharm

Pentacyclic triterpenoids and ceramide mediate the vasorelaxant activity of *Vitex cienkowskii* via involvement of NO/cGMP pathway in isolated rat aortic rings

Alain Bertrand Dongmo^{a,f,*}, Anatole Guy Blaise Azebaze^b, Flaire Metchi Donfack^c,
Théophile Dimo^c, Pepin Alango Nkeng-Efouet^d, Krishna Prasad Devkota^{e,i},
Bruno Sontia^f, Hildebert Wagner^g, Norbert Sewald^e, Wolfgang Vierling^f

^a Department of Animal Biology, Faculty of Science, University of Douala, P.O. Box 24157, Douala, Cameroon

^b Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Douala, P.O. Box 24157, Douala, Cameroon

^c Department of Animal Biology, Faculty of Science, University of Yaoundé I, P.O. Box 812, Yaounde, Cameroon

^d Department of Chemistry, University of Dschang, P.O. Box 371, Dschang, Cameroon

^e Chemistry Department, Organic and Bioorganic Chemistry, Bielefeld University, P.O. Box 100131, 33501 Bielefeld, Germany

^f Institute of Pharmacology and Toxicology, Technical University of Munich, Biedersteinerstr. 29, 80802 Munich, Germany

^g Institute of Pharmaceutical Biology, Butenandtstr. 5-13, 81377 Munich, Germany

ⁱ Institute of Forestry, Tribhuvan University Pokhara Campus, P.O. Box 43, Pokhara, Nepal

ARTICLE INFO

Article history:

Received 2 July 2010

Received in revised form 6 September 2010

Accepted 9 September 2010

Keywords:

Vitex cienkowskii

Pentacyclic triterpenoids

Relaxation

Aortic smooth muscle

Nitric oxide

cGMP

ABSTRACT

Ethnopharmacological relevance: *Vitex cienkowskii* Kotschy & Peyritsch is a deciduous tree, prescribed by Cameroonian traditional healers as one of the most popular plant widely used in many disorders including cardiovascular diseases. The preliminary pharmacological studies carried out on *Vitex cienkowskii* showed its vasorelaxant activities on guinea-pig aortic rings.

Aim of the study: The present work evaluated the vasorelaxant activity of extract and isolated compounds from *Vitex cienkowskii*.

Materials and methods: Rat aortic rings were used to evaluate the *in vitro* vascular effect of the extract. The antioxidant activity was determined by measuring the reduction of the free radical 1,1-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH).

Results: *Vitex cienkowskii* induced significant relaxation in a concentration- and endothelium-dependent manner ($EC_{50} = 12.12 \mu\text{g/ml}$, $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$, 1:1) and did not produce a vasorelaxant effect on contraction evoked by KCl (60 mM). In order to determine its mode of action, *Vitex cienkowskii*-induced relaxant effect was evaluated in the presence of indomethacin (10 μM), L-NAME (100 μM), ODQ (1 μM) and SQ22356 (100 μM). Relaxation was significantly blocked by L-NAME and ODQ. These results indicate that *Vitex cienkowskii*-mediated relaxation is endothelium dependent, probably due to NO release, and the consequent activation of vascular smooth muscle soluble guanylate cyclase (sGC), a signal transduction enzyme that forms the second messenger cGMP. Bio-guided study of *Vitex cienkowskii* allowed the isolation of the known pentacyclic triterpenoids and a ceramide. It is the first report of salvin A, maslinic acid and a ceramide from *Vitex cienkowskii*. The activity induced by these compounds indicated that they may be partly responsible for the vasorelaxant effect of the plant extract.

A dose of 40 mg/kg of $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ (1:1) extract administered intravenously induced a decrease of mean arterial pressure but did not affect the heart rate. Moreover the plant extracts were found to be highly active in the DPPH radical scavenging assay.

Conclusion: *Vitex cienkowskii* extract possesses antioxidant property, vasorelaxing, and hypotensive effect linked to the endothelium related factors, where nitric oxide is involved.

© 2010 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

Abbreviations: NO, nitric oxide; L-NAME, N^G -nitro-L-arginine-methyl ester; DPPH, 1,1-diphenyl-1-picryl-hydrazyl; TLC, thin-layer chromatography; ODQ, 1-H-[1,2,4]-oxadiazolo-[4,3a]-quinoxalin-1-one; SQ22356, 9-(tetrahydro-2-furanyl)-9H-purine-6-amine.

* Corresponding author at: Department of Animal Biology, Faculty of Science, University of Douala, P.O. Box 24157, Douala, Cameroon. Tel.: +237 76 49 19 50; fax: +237 337 59 21.

E-mail address: alainberd@yahoo.fr (A.B. Dongmo).

0378-8741/\$ – see front matter © 2010 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

doi:10.1016/j.jep.2010.09.033

1. Introduction

The genus *Vitex* belonging to the family of Verbenaceae approximately includes 250 known species of trees and shrubs within tropical and sub-tropical regions, although few species may be found in temperate zones (Correa, 1926). *Vitex* species has been reported to be used in traditional medicine to treat a wide range of ailments, such as depression, venereal diseases, malaria, asthma, allergy, wounds, skin diseases, snake bite and body pains (Neuwing, 2000). *Vitex cienkowskii* Kotschy & Peyritsch is a deciduous tree, prescribed by Cameroonian traditional healers as one of the most popular plant widely used in many disorders including cardiovascular diseases.

Previous pharmacological studies carried out on various *Vitex* species have illustrated its safety and efficacy to treat different diseases (Samy et al., 1998; You et al., 1998; Gupta et al., 1999; Hernandez et al., 1999; Taiwo et al., 1999; Berger et al., 2000; Hossain et al., 2001; Alam and Gomes, 2003; Dharmasiri et al., 2003), which has made *Vitex* a popular subject in ethnobotanical and phytochemical research.

Previous phytochemical work on *Vitex* species revealed the presence of iridoid glycosides (Nkeng-Efouet, 1987; Kuruüzüm-Uz et al., 2003), flavonoids (Wollenweber and Mann, 1983; Hirobe et al., 1997; Hajdú et al., 2007), diterpenoids (Hoberg et al., 1999; Ono et al., 2000, 2001; Hajdú et al., 2007), ecdysteroids (Nkeng-Efouet, 1987; Ramazanov, 2004), and essential and fatty oils (Sorensen and Katsiotis, 2000).

Hypertension is a major risk factor for stroke, myocardial infarction, heart and kidney failure. The prevalence of hypertension in Cameroon is estimated at about 19.1% in the urban area and 15.4% for the rural area (Fourcade et al., 2007). In another report published by the WHO (2005), the estimation of the prevalence rise reaching 25% for hypertension and 30% for cardiovascular diseases. The cardiovascular diseases such as hypertension remains inadequately managed everywhere (Mancia et al., 2002), and in spite of the large number of antihypertensive drugs and combinations, most people in developing countries have poor access to modern health care. Therefore, pharmacological validation of medicinal plants or ethnomedical treatment methods could greatly benefit populations with poor economic resources.

Vitex cienkowskii is one of the plants used in Cameroon to cure cardiovascular disorders (Nkeng-Efouet, 1987). The preliminary pharmacological studies carried out on *Vitex cienkowskii* showed its vasorelaxant activities on guinea-pig aortic rings (Sontia, 2005). In continuation of the previous study, the present work describes the isolation of the known pentacyclic triterpenoids and a ceramide compounds among which some are reported on the first time on *Vitex cienkowskii*, as well as antioxidant followed from a vasorelaxant bioassay-guided fractionation of the methylene chloride–methanol (1:1) extract of the stem bark of *Vitex cienkowskii*.

2. Materials and methods

2.1. Plant material

The stem bark of *Vitex cienkowskii* was collected in Fouban, Cameroon, in May 2007 and identified at the National Herbarium, Yaoundé Cameroon, where a voucher specimen number 32721 HNC is deposited for future reference.

2.2. Extraction and isolation

The air dried stem bark of *Vitex cienkowskii* was reduced to a fine powder. A part of the dried ground stem bark powder (200 g)

of *Vitex cienkowskii* was macerated in 500 ml distilled water for 24 h. The mixture was then filtered and the filtrate was evaporated in a rotary evaporator at 40–50 °C under reduced pressure, yielding 4 g of aqueous extract.

Another part of the dried ground stem bark powder (2.5 kg) was extracted by maceration at room temperature in 4 L, CH₂Cl₂–MeOH (1:1), for 48 h yielding 27.54 g of a brown residue. The remaining residual was extracted also by maceration with MeOH (4 L) for 48 h yielding 18 g of a brown residue.

In order to identify the main chemical groups, the MeOH and CH₂Cl₂–MeOH (1:1) extracts were chromatographed on TLC (silica gel plates 60 F₂₅₄) using CHCl₃–MeOH–H₂O (65:35:10; lower phase) or CHCl₃–MeOH (9:1) as the mobile phase. TLC was observed under UV_{254nm} before and under VIS after spraying with Komarowsky reagent. The Komarowsky reagent allowed the characterisation of terpenoid class compound. Another TLC (silica gel) was performed on the extracts using AcOEt–HCOOH–CH₃COOH–H₂O (100:11:11:26), as the mobile phase and sprayed with natural products reagent (NP/PEG). The natural products reagent allowed the characterisation of flavonoids. After treatment with Komarowski reagent, the TLC revealed the violet and a number of blue zones characteristic of terpenoids. In another plate after spraying by NP/PEG reagent, large yellow zones were observed indicating the presence of flavonoids.

Since CH₂Cl₂–MeOH and MeOH extracts showed almost the same efficacy on pharmacological activities and similar TLC profile after development in different solvent systems, we decided to put the two fractions together and elucidate its active principles. A portion of 25 g of the extract was subjected to column chromatography using silica gel (0.063–0.200 mm). The column was eluted using the following solvent systems: hexane–EtOAc (1:0 → 0:1) followed by MeOH–EtOAc (0:1 → 1:0). Hundred and eighty fractions (200 ml each) were collected and combined to produce nineteen pooled fractions (F-I to F-XIX) based on their TLC profiles. According to the initial vasorelaxant test, only fractions F-VI, F-VII, F-VIII, F-X and F-XV were active (about 30% of inhibition), inhibiting NA-precontracted rat aorta when tested.

The active fraction VI (F-VI) obtained from hexane–EtOAc (8:2) was finally submitted to column chromatography on silica gel (0.063–0.200 mm) and eluted with hexane–EtOAc (9:1 → 8.5:2.5) to give 4 subfractions (f1–f4). The subfractions 2 (50 ml) and 3 (50 ml) were concentrated to give the pure compound **1** (50 mg). F-VII (hexane–EtOAc, 7:3) was submitted to column chromatography on silica gel (0.063–0.200 mm) and eluted with hexane–EtOAc (7.5:2.5 → 6:4) to give 9 subfractions (f5–f13). The concentration of subfraction 5 (50 ml) resulted to compound **2** (20 mg). Rechromatography of fraction F-VIII (hexane–EtOAc, 5:5) on silica gel column and eluted with hexane–EtOAc (5:5) gave a mixture of 2 compounds **3** and **4** (25 mg) (almost in 1:1). From the active fractions F-X (hexane–EtOAc, 2.5:7.5) and F-XV (MeOH–EtOAc, 7:3), compound **5** (10 mg) and compound **6** (50 mg) were spontaneously obtained by precipitation respectively.

2.3. Preparation of rat aortic rings

Rats weighing from 150 to 200 g from Charles river, Kisslegg, Germany were used. The experimental procedure was approved by the institutional ethic committee. The animals were killed by exposure to ether followed by decapitation. The thoracic aorta was quickly removed, freed of connective tissue and cut into 2–3 mm ring segments. These rings were placed in a bath chamber of borosilicate glass with a capacity of 5 ml, from TSE, Bad Homburg, Germany, and mounted on two small hooks, one of which was connected to the organ bath and the other to a force transducer (Q11, 10p, Hottinger Baldwin Messtechnik, Darmstadt, Germany). The bath contained modified Krebs–Henseleit solution of the fol-

lowing composition (mM): NaCl, 115; KCl, 4.7; CaCl₂, 2; NaHCO₃, 25; KH₂PO₄, 1.2; MgCl₂, 1.2; glucose, 11.5, which was stirred continuously and aerated with 95% O₂ and 5% CO₂. The temperature was maintained thermostatically at 35 °C. The measurement signals could be observed on an oscilloscope (Tektronix, Beaverton, Oregon, USA). They were digitalised using an analogue-digital transformer (Type DT 9812–2.5 V, Bietigheim-Bissingen, Germany) and then stored and analysed with a computer program (Measure Foundry 3.0, Data translation, Germany).

The resting force of the samples after mounting on the hooks was first set to 9.8 mN with a micromanipulator. The muscles were then equilibrated for 1 h with continuous changing of the bath solution until a constant base force was established, which was somewhat lower than the set resting force. Aortic contraction was elicited by adding 60 mM KCl to check the functional integrity. Afterwards, the bath solution was changed until the resting tone was recovered (Vierling et al., 2003).

2.4. Effect of extract, fraction and isolated compounds on isolated rat aortic rings

The first experiments examined the effects of the aqueous, MeOH and CH₂Cl₂–MeOH (1:1) extracts, some fractions and compounds isolated from *Vitex cienkowskii* on contractions of aortic rings induced by noradrenaline (NA, 1 μM) or KCl (60 mM). When the contractile response became stable, the extract was added in a cumulative manner to the organ bath solution.

To test the involvement of endothelium in the dilator response, the aortic rings were subjected to mechanical removal of the endothelium by rubbing the artery lumen. Cumulative concentration–response curves of *Vitex cienkowskii* extracts were then constructed and compared with the results obtained from other rat aortic rings with intact endothelium. Additionally the aortic rings were subjected to pre-treatment with one of the following agents 10 min before pre-contraction induced by 1 μM noradrenaline (Wang et al., 2007): N-ω-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, 50 and 100 μM), a nitric oxide synthase inhibitor and indomethacin (10 μM), a cyclooxygenase inhibitor.

For further elucidation of the mechanism of action, artery rings were subjected to pretreatment with one of the following agents 10 min before pre-contraction induced by NA (1 μM): ¹H-[1,2,4] oxadiazolo[4,3-α]-quinoxalin-1-one (ODQ, 10 μM), a guanylyl cyclase inhibitor, and 9-(tetrahydro-2-furanyl)-9H-purine-6-amine (SQ22536, 100 μM), an adenylyl cyclase inhibitor.

2.5. Measurement of blood pressure and heart rate

Rats were anesthetized by intraperitoneal administration of 15% urethane (Sigma) at a dose of 1.5 mg/kg body weight. The femoral vein and carotid artery were clearly defined and cannulated. The former was used for the extract administration while the latter was used for recording changes in blood pressure measurement. Soon after the femoral vein was cannulated, 500 I.U./kg of heparin was injected to prevent intravascular blood clotting.

Mean arterial pressure (MAP) was recorded with a pressure transducer connected to the arterial cannula. The signal from the transducer was electronically damped and registered by a BIOPAC physiological recorder (Model MP 35, Goleta, USA). Heart rate (HR) was simultaneously recorded through another channel of the BIOPAC physiological recorder. After a 15 min stabilization period, the methylene chloride–methanol extract (20, 40 mg/kg) was injected i.v. as a bolus.

2.6. Antioxidant test (evaluation of radical scavenging activity)

2.6.1. Qualitative determination by thin-layer chromatography (TLC)

The antioxidant activity of the extracts was evaluated by measuring the reduction of the free radical 1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Samples (0.4 mg in 10 μl) were applied on a TLC plate (Silica gel 60 F₂₅₄, 0.2 mm thickness, Merck) developed in CHCl₂–MeOH (9:1) and sprayed with an ethanolic solution of DPPH at a concentration sufficient to give a violet colour to the plate (approximately 0.4 mg/ml). Samples containing radical scavengers were identified as yellow spots on the plate (Xiong et al., 1996).

2.6.2. Quantitative determination

A stock solution (5 mg/ml) of the crude extract was prepared in ethanol. Serial dilutions were carried out to obtain concentrations of 1, 5, 10, 50, 100 and 500 μg/ml. Diluted solutions (1 ml each) were mixed with an ethanolic solution of DPPH (0.004%, 1 ml) and allowed to stand at room temperature for 30 min. The UV absorbance of the resulting solutions was recorded at λ = 517 nm (Yan et al., 1998). The experiment was performed in triplicate and the average absorption was noted for each concentration.

Ascorbic acid was used as the positive control. The free radical-scavenging activity was calculated as a percentage inhibition of the DPPH radical by a sample or ascorbic acid according to the formula:

$$\% \text{Inhibition} = \frac{[AC(o) - AA(t)]}{AC(o)} \times 100$$

where AC(o) is the absorbance of the background control at $t = 0$ min and AA(t) is the absorbance of the solution containing the antioxidant at a particular concentration at $t = 30$ min. The IC₅₀ value which is the concentration of the sample required to scavenge 50% DPPH was determined by GraphPad prism 4.0 software.

2.7. Data analysis

Tension generated by the isolated aortic muscle is expressed in percentage of contraction induced by noradrenaline (1 μM) or KCl (60 mM) induced contraction. Results are expressed as mean ± S.E.M., $n = 6$. GraphPad Prism 4.0 software was used to determine the E_{\max} and EC₅₀ values from the concentration–response curves. The significance of differences was evaluated by means of one way Anova (analysis of variance) followed by Dunnet. p -Values lower than 0.05 were considered significant.

3. Results

The isolated rat aortic rings were pre-contracted by 1 μM noradrenaline (NA) to produce a sustained contractile response. As shown in Fig. 1, methylene chloride–methanol and methanol extract caused a concentration-dependent relaxation in rat aortic rings with endothelium. Table 1 shows that the cumulative dosing of extract resulted in an EC₅₀ value of 12.12 μg/ml (E_{\max} value of $95.9 \pm 3.30\%$, $p < 0.05$) and 6.59 μg/ml (E_{\max} value of $98.11 \pm 3.40\%$, $p < 0.05$) respectively for the methanol extract and methylene chloride–methanol extract, while the aqueous extract showed no important effect (E_{\max} value of 39.07%) on the NA-induced pre-contraction response. As shown in Fig. 2, MeOH, CH₂Cl₂–MeOH (1:1) extract and aqueous extract did not show any inhibition on KCl (60 mM) induced a sustained contractile response over the course of the experiment on isolated rat aorta rings.

Since the activity CH₂Cl₂–MeOH extract was the most important, our further pharmacology investigations were carried out on this former extract. Removal of endothelium significantly

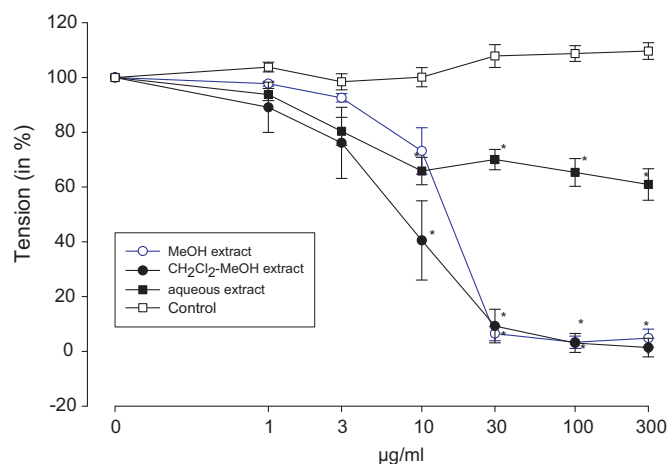


Fig. 1. Concentration–response curves for relaxation induced by methylene chloride–methanol, methanol and aqueous extract of *Vitex ctenkowskii* on isolated rat aorta precontracted with noradrenaline (NA, 1 μM). The responses are expressed as % of initial values (= 100%) without application of the extracts. Values are mean ± S.E.M., n = 6 (*p < 0.05 vs. control) by one way Anova followed by Dunnett.

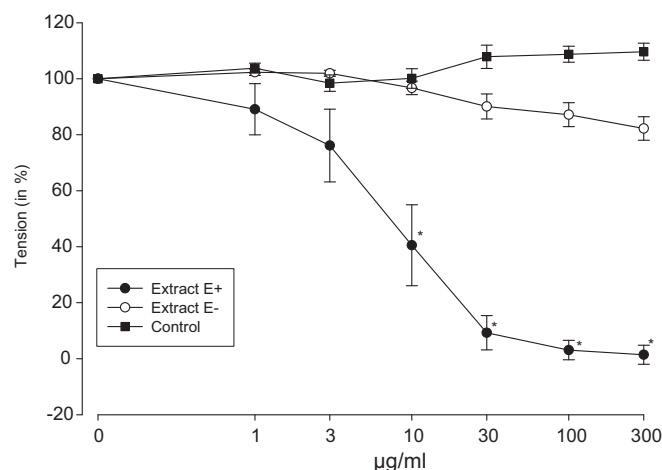


Fig. 3. Effect of methylene chloride–methanol extract of *Vitex ctenkowskii* on isolated rat aorta precontracted with noradrenaline (NA, 1 μM) in presence or in absence of endothelium with DMSO as the vehicle blank. The responses are expressed as % of initial values (= 100%) without application of the extracts. Values are mean ± S.E.M., n = 6. [*p < 0.05 compare the relaxant effect on the endothelium (+E) vs. (–E)] by one way Anova followed by Dunnett.

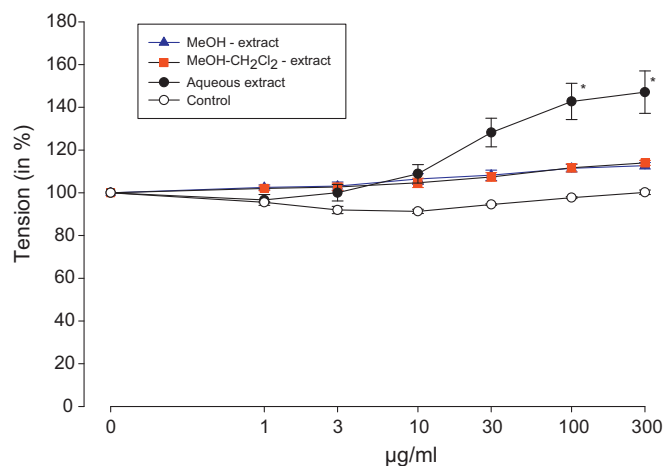


Fig. 2. Effect of extracts of *Vitex ctenkowskii* on isolated rat aorta precontracted with KCl (60 mM). The responses are expressed as % of initial values (100%) without application of the extract. Values are mean ± S.E.M., n = 6 (*p < 0.05 vs. control) by one way Anova followed by Dunnett.

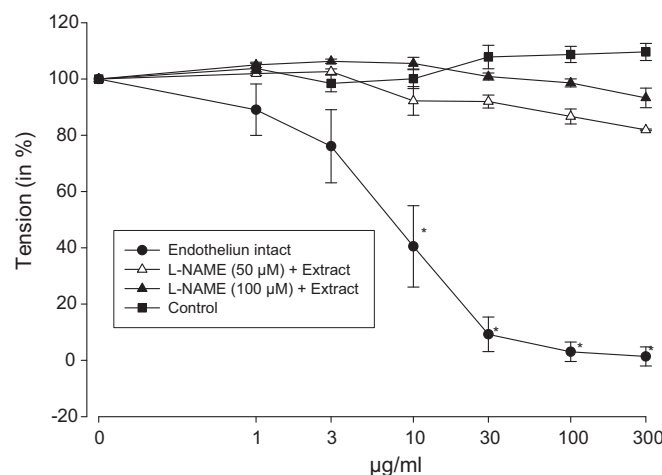


Fig. 4. Effect of 50 and 100 μM L-NAME on methylene chloride–methanol extract induced relaxation on isolated rat aorta precontracted with noradrenaline (NA, 1 μM). Values are mean ± S.E.M., n = 6 (*p < 0.05 vs. control) by one way Anova followed by Dunnett.

affected the vasodilator potencies since the E_{max} value of methylene chloride–methanol extract was now reduced, exhibiting only 17% inhibition at a concentration of 300 μg/ml (Fig. 3).

To further determine the significance of the endothelium-dependent mechanisms in the vasorelaxant activity of the extract,

the rat aortic rings were pre-treated with a nitric oxide synthase (NOS) inhibitor, N-ω-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), and a cyclooxygenase inhibitor, indomethacin (10 μM). As shown in Fig. 4, L-NAME (100 μM) produced inhibition to methylene

Table 1

Maximal relaxation effect induced by some fractions of *Vitex ctenkowskii* on the rat aortic rings precontracted with noradrenaline.

<i>Vitex ctenkowskii</i> extracts or fractions	n	% Relaxation ^a	Concentration at maximal effect (μg/ml)	EC ₅₀ (μg/ml) ^b
Extract				
CH ₂ Cl ₂ –MeOH (1:1)	6	98.61 ± 3.40	300	6.59
MeOH	6	95.19 ± 3.30	300	12.12
Fractions				
Hexane–EtOAc (8:2)	6	25.74 ± 1.01	300	5.73
Hexane–EtOAc (7:3)	6	38.78 ± 3.46	10	–
Hexane–EtOAc (5:5)	6	28.42 ± 3.56	300	–
Hexane–EtOAc (2.5:7.5)	6	32.66 ± 6.08	300	7.38
MeOH–EtOAc (7:3)	6	40.73 ± 5.50	100	1.27

^a Values are mean ± S.E.M., n = 6, and are expressed as percentage inhibition compared to control.

^b The EC₅₀ value was determined by linear regression analysis using GraphPad Prism 4.0 Software.

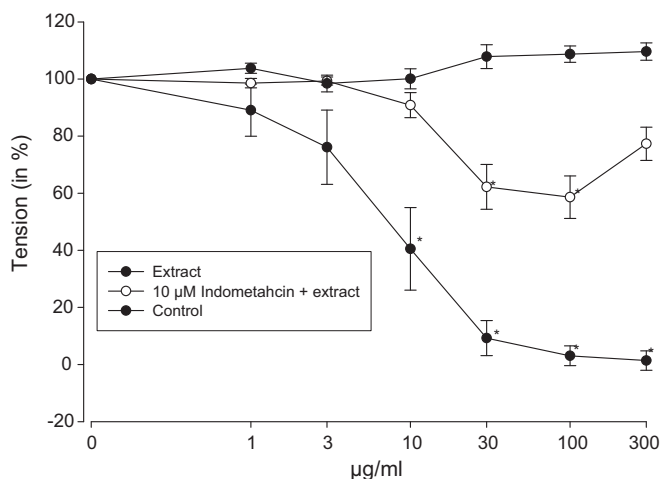


Fig. 5. Effect of 10 µM indomethacin on methylene chloride–methanol extract induced relaxation on isolated rat aorta precontracted with noradrenaline (NA, 1 µM). The responses are expressed as % of initial values (= 100%) without application of the extracts. Values are mean ± S.E.M., n = 6 (*p < 0.05 vs. control) by one way Anova followed by Dunnett.

chloride–MeOH extract by changing the E_{max} value reduction by $6.68 \pm 3.48\%$, compared to the control value reduction by $98.61 \pm 3.40\%$ ($p < 0.05$) at a concentration of 300 µg/ml. On the other hand, indomethacin (10 µM) produced inhibition to methylene chloride–MeOH extract (Fig. 5) by changing the E_{max} value reduction by $41.36 \pm 7.45\%$, compared to the control value reduction by $98.61 \pm 3.40\%$ ($p < 0.05$) at a concentration of 300 µg/ml as well as giving an EC_{50} value of 8 µg/ml, compared to the control of 6.59 µg/ml (Table 2).

In another set of rat aortic rings, an adenylyl cyclase (AC) inhibitor SQ22536 and a guanylyl cyclase (GC) inhibitor ODQ were used to test the involvement of AC- and GC-dependent pathways in the *Vitex ctenocarpa* induced response. The dilatatory effect of *Vitex ctenocarpa* was slightly affected by AC inhibitor SQ22536 (Table 3) but was significantly inhibited by GC inhibitor ODQ (Figs. 6 and 7). Thus, SQ22536 (100 µM) resulted in an EC_{50} value of 6.46 µg/ml (control 6.59 µg/ml) and E_{max} value of $57.55 \pm 4.35\%$ (control $96.94 \pm 3.45\%$) at 100 µg/ml, $p < 0.05$. For ODQ (10 µM), the E_{max} value of 21.32 ± 3.47 was observed (Table 2).

Since the activity of the aqueous extract was the least important, our chemical investigations were carried out on CH₂Cl₂–MeOH and MeOH extracts. Moreover both former extracts showed almost the

Table 2
Effect of various treatments on the relaxant effect of extract on noradrenalin precontracted rat aortic rings.

<i>Vitex ctenocarpa</i> extracts or fractions	n	% Relaxation ^a	Concentration at maximal effect (µg/ml)	EC_{50} (µg/ml) ^b
CH ₂ Cl ₂ –MeOH (1:1)	6	98.61 ± 3.40	300	6.59
Endothelium denuded	6	17.78 ± 4.20	300	–
L-NAME (50 µM)	6	18.05 ± 0.28	300	–
L-NAME (100 µM)	6	6.68 ± 3.48	300	–
Indomethacin	6	41.36 ± 7.45	100	8.00
ODQ	6	21.32 ± 3.47	300	–
SQ22536	6	57.55 ± 4.35	300	6.46

^a Values are mean ± S.E.M., n = 6, and are expressed as percentage inhibition compared to control.

^b The EC_{50} value was determined by linear regression analysis using GraphPad Prism 4.0 Software.

Table 3
In vitro scavenger activity of *Vitex ctenocarpa* stem bark and ascorbic acid.

<i>Vitex ctenocarpa</i> extract	IC_{50} (µg/ml)
CH ₂ Cl ₂ –MeOH (1:1)	10.19
MeOH	09.87
Ascorbic acid	0.004

The IC_{50} value (concentration of the sample required to scavenge 50% DPPH) was determined by linear regression analysis using GraphPad Prism 4.0 Software.

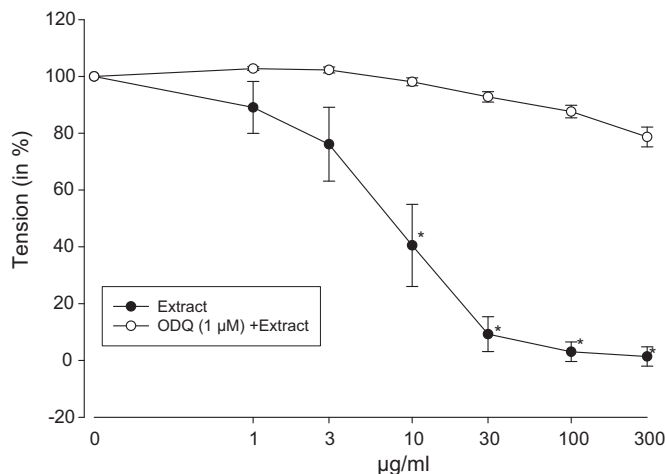


Fig. 6. Effect of 1 µM ODQ on methylene chloride–methanol extract induced relaxation on isolated rat aorta precontracted with noradrenaline (NA, 1 µM). The responses are expressed as % of initial values (= 100%) without application of the extracts. Values are mean ± S.E.M., n = 6 (*p < 0.05 compare the relaxant effect on the presence vs. absence of ODQ) by one way Anova followed by Dunnett.

same efficacy on pharmacological activities and similar TLC profile after development in different solvent systems. We decided to put them together and elucidate their active principles. Bioguided fractionation of this extract of *Vitex ctenocarpa* produced nineteen main fractions among which 6 were active. The fractions that showed interesting bioactivity (25–40% relaxation) forced us to elucidate active principle(s). Some fractions caused concentration-dependent relaxation on rat aortic rings pre-contracted with noradrenaline (1 µM) (Fig. 8). The maximal relaxant effect from

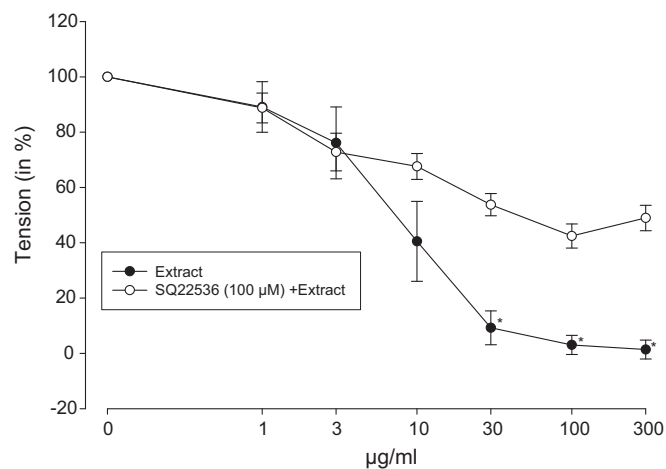


Fig. 7. Effect of 100 µM SQ22536 on methylene chloride–methanol extract induced relaxation on isolated rat aorta precontracted with noradrenaline (NA, 1 µM). The responses are expressed as % of initial values (= 100%) without application of the extracts. Values are mean ± S.E.M., n = 6 (*p < 0.05 compare the relaxant effect on the presence vs. absence of SQ22536) by one way Anova followed by Dunnett.

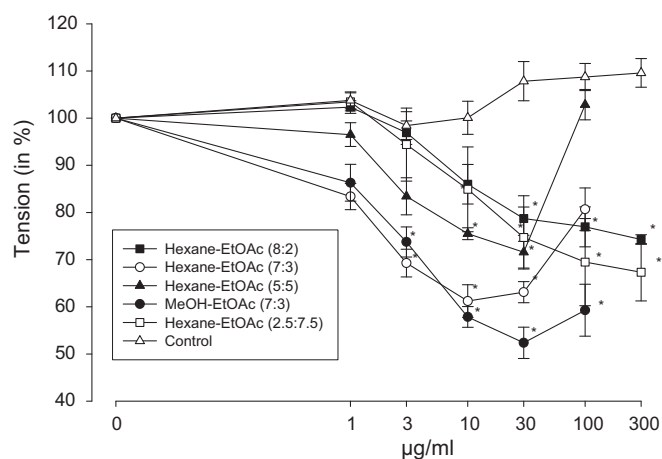


Fig. 8. Relaxation effect of some fractions of *Vitex ctenkowskii* on isolated rat aorta precontracted with noradrenaline (NA, 1 μM). The responses are expressed as % of initial values (= 100%) without application of the extracts. Values are mean ± S.E.M., n = 6 (*p < 0.05 vs. control) by one way Anova followed by Dunnett.

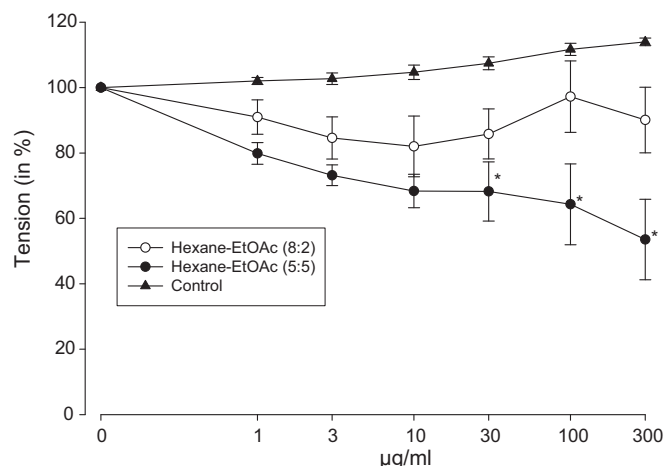


Fig. 9. Effect fractions of *Vitex ctenkowskii* on isolated rat aorta precontracted with KCl (60 mM). The responses are expressed as % of initial values (100%) without application of the fractions. Values are mean ± S.E.M., n = 6 (*p < 0.05 vs. control) by one way Anova followed by Dunnett.

these fractions was 25.74 ± 1.01 and $32.66 \pm 7.38\%$ respectively for the hexane–EtOAc (8:2) and hexane–EtOAc (2.5:7.5) fraction at a concentration of 300 mg/l (Table 4). This relaxant effect was more important for the hexane–EtOAc (7:3), (M–EtOAc, 7:3) fractions produced a maximal relaxation reaching 38.78 ± 3.46 ($p < 0.05$) and $40.73 \pm 5.5\%$ ($p < 0.05$), respectively at a dose of 10 and 30 μg/ml (Table 4). Only the hexane–EtOAc (5:5) fraction exhibited an important relaxation on contraction induced by KCl (60 mM) reaching 46.4% at a dose of 300 μg/ml (Fig. 9).

Extensive column chromatographies of these fractions of the stem bark of *Vitex ctenkowskii* led to the isolation and characterisation of six known triterpenoids (1, 2, 3, 4, 6) and one ceramide (5).

The structural elucidation was carried out by analysis or comparison of experimental values from IR, NMR¹H, ¹³C. Compounds (1), (2) were identified as β-sitosterol and oleanoic acid respectively by comparison of the spectral data literature values (Mahato and Kundu, 1994). Compounds (3) and (4) in mixture were identified as salvin A (2α,3β,5α-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid; colourless amorphous solid, C₃₀H₄₈O₅) and maslinic acid (2α,3β-dihydroxyolean-12-en-28-oic; white powder, C₃₀H₄₈O₄) based on comparisons with published data (Yamagishi et al., 1988; Taniguchi et al., 2002; Mehmood et al., 2006; Xiangjiu and Rui, 2007). This is the first report of salvin A and maslinic acid from *Vitex ctenkowskii*. Compound (5) was obtained as a white powder and showed the molecular ion peak in HREIMS at *m/z* 663.61 corresponding to molecular formula C₁₂H₈₁NO₄ and identified as (2S,2'R,3R,3'E,4E)-N-[2'-hydroxy-3'-henicosenoyl]-2-amino-4-henicosene-1, 3-diol; tanacetamide (Ahmad et al., 2004) (Fig. 10). This is the first report of

a ceramide from *Vitex ctenkowskii*. The compound (6) was identified as β-sitosterol-glycoside (Pei-Wu et al., 1988; Goad and Akihisa, 1997).

The compounds isolated from *Vitex ctenkowskii* produced on aortic rings pre-contracted by NA (1 μM) produced a significant vasorelaxing response (Fig. 11) with an $E_{max} = 63.57 \pm 9.53\%$ ($p < 0.05$) (mixture compounds 3 and 4), $E_{max} = 81.05 \pm 6.68\%$ ($p < 0.05$) (5), $E_{max} = 52.43 \pm 10.89\%$ ($p < 0.05$) for (6) all at concentration of 100 μg/ml. The IC₅₀ values were 1.999; 4.256 and 1.178 μg/ml for (3 and 4), (5) and (6) respectively (Table 4).

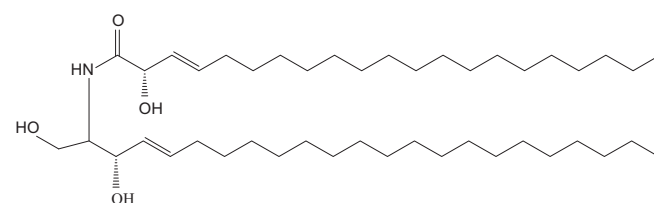


Fig. 10. Structure of a ceramide (tanacetamide, 5) isolated on *Vitex ctenkowskii*.

Table 4
Maximal relaxation effect and EC₅₀ value on relaxant effect induced by isolated compounds *Vitex ctenkowskii* on rat aortic rings precontracted with noradrenalin.

Isolated compounds <i>Vitex ctenkowskii</i>	n	% Relaxation ^a	Concentration at maximal effect (μg/ml)	EC ₅₀ (mg/l) ^b
(3) and (4)	6	63.57 ± 9.53	100	1.999
(5)	6	81.05 ± 6.68	100	4.256
(6)	6	52.43 ± 10.89	100	1.178

^a Values are mean ± S.E.M., n = 6, and are expressed as percentage inhibition compared to control.

^b The EC₅₀ value was determined by linear regression analysis using GraphPad Prism 4.0 Software.

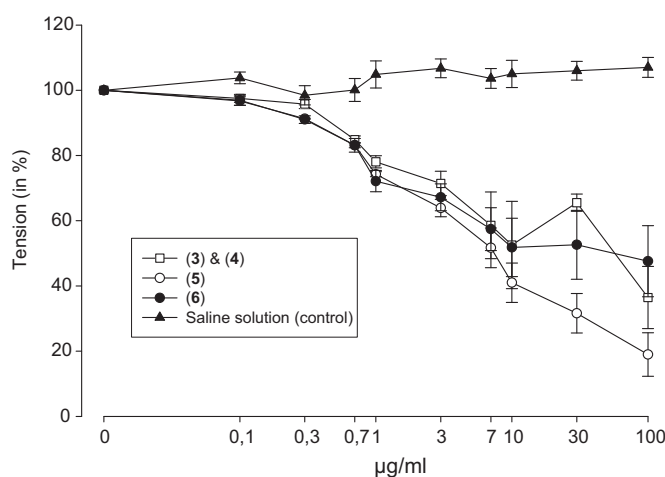


Fig. 11. Relaxant effect of isolated compounds of *Vitex ctenkowskii* on isolated rat aorta precontracted with noradrenaline (NA, 1 μM). The responses are expressed as % of initial values (= 100%) without application of the substances. Value are mean ± S.E.M., n = 6 (*p < 0.05 vs. control) by one way Anova followed by Dunnett.

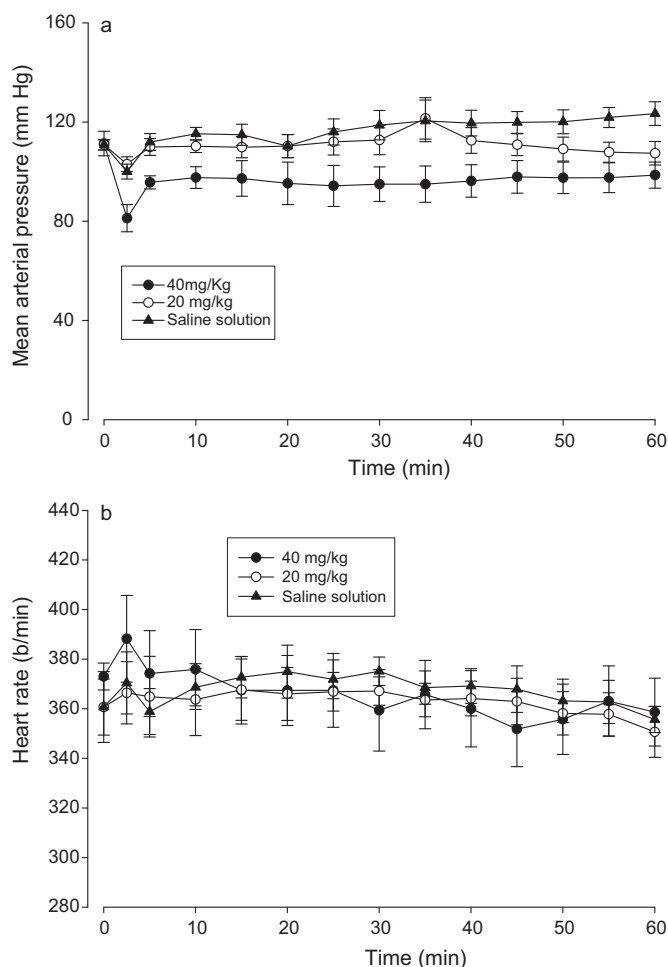


Fig. 12. (a) Effect of MeOH-CH₂Cl₂ extract of *Vitex cenkowskii* on mean arterial pressure in anesthetized normotensive rats. The symbols represent the mean \pm S.E.M., $n = 5$. No significant differences among heart rate values compared with saline group value by Anova one way followed by Dunnett. (b) Effect of MeOH-CH₂Cl₂ extract of *Vitex cenkowskii* on mean heart rate in anesthetized normotensive rats. The symbols represent the mean \pm S.E.M., $n = 5$. No significant differences among heart rate values compared with saline group value by Anova one way followed by Dunnett.

A dose of 40 mg/kg administered iv diminished MAP during the whole experiment but the dose of 20 mg/kg produced only a transitory decrease for five minutes. On the other hand, there was no significant variation of HR values on the treated animal during the experiment (Fig. 12a and b).

In the TLC-based qualitative antioxidant assay using DPPH spray, *Vitex cenkowskii* stem bark extracts showed considerable free radical scavenging properties indicated by the presence of a yellow/white spot on a purple background on the TLC plates.

The extracts showed a concentration-dependent radical scavenging activity by inhibiting DPPH with an IC₅₀ value of about 10 μ g/ml for the CH₂Cl₂-MeOH (1:1) and MeOH extract. Ascorbic acid, used as the positive control in this test, had an IC₅₀ value of 0.004 μ g/ml (Table 1).

4. Discussion

The *Vitex* species which belongs to the family of Verbenaceae is commonly used by Cameroonian traditional healers particularly. *Vitex cenkowskii* is applied to cure diseases such as cardiovascular disorders, e.g. like cardiac arrhythmias. In this work, the effects of extracts of *Vitex cenkowskii* were studied in several pharmacological experiments. This paper presents the cardiovascular and

the antioxidant effects of the extracts, fractions and isolated compounds of *Vitex cenkowskii*.

Vascular tone is regulated by a number of receptor- and ion channel-mediated processes, and the contribution of an intact vascular endothelium is considered important. Modulation of vascular tone by endothelium is regulated by the synthesis and release of vasorelaxing factors such as nitric oxide and prostacyclin as well as by vasoconstricting factors such as endothelin and angiotensin II (Rubanyi, 1993). Removal of the endothelium in the present study led to a reduction of the relaxant activity of extract of *Vitex cenkowskii*, suggesting that an endothelium-dependent mechanism is involved.

The inhibiting effect of L-NAME on the *Vitex cenkowskii* extract vasorelaxant activity indicated that nitric oxide was involved in the *Vitex cenkowskii* extract-mediated vasorelaxant effect.

The significant role of the NO-cGMP system in the vasorelaxant effect of *Vitex cenkowskii* was, further confirmed by the fact that ODQ also strongly inhibited the vasorelaxant effects of the extract while SQ22536 showed a lower effect.

Adenylyl cyclase (AC) and guanylyl cyclase (GC) are two important enzymes of signal transduction pathways that lead to relaxation of vascular smooth muscles. AC catalyzes the conversion of ATP to cAMP, and in turn, activates cAMP-dependent protein kinase (PKA). PKA then stimulates the extrusion of Ca²⁺ through activation of Ca²⁺-pumping ATPases and Na⁺/Ca²⁺ exchange in the plasma membrane, decreasing the sensitivity of contractile apparatus to Ca²⁺ leading to relaxation of the smooth muscle cells (Parkington et al., 2004). PKA may also induce hyperpolarisation of smooth muscle cells by activating the K_{ATP} channel (Jackson et al., 1993; Chericoni et al., 2003). On the other hand, GC catalyzes the conversion of GTP to cyclic GMP (cGMP), which in turn activates the cGMP-dependent protein kinase (PKG). The activated PKG then phosphorylates several important target proteins including ion channels, ion pumps, receptors, and enzymes, leading to a decrease in intracellular Ca²⁺ and relaxation of the smooth muscle cells (Friebe and Koesling, 2003).

These two inhibitors, SQ22536 and ODQ, were used to explore the involvement of AC/cAMP- and GC/cGMP-dependent pathways in the relaxant effect of *Vitex cenkowskii* extract on rat aortic rings. The vasodilator activity of *Vitex cenkowskii* was slightly modulated by SQ22536 and it can be concluded that the AC/cAMP-dependent pathways is little involved since SQ22536 did not modify the EC₅₀ value but only slightly reduced the maximum relaxation effect. The NO-cGMP system which is a major signal transduction pathway in a wide range of blood vessels seemed to be involved since ODQ had significantly affected the *Vitex cenkowskii* extract induced relaxation in the rat aorta ring with intact endothelial cells.

In addition to nitric oxide, prostaglandins (PGs) such as prostacyclin constitute another group of EDRFs. However, indomethacin (a COX inhibitor) also somewhat affect the vasodilator response induced by *Vitex cenkowskii* extract, suggesting that the production of prostanoids by the endothelial cells may be of some additional relevance to the action of the extract.

Vitex cenkowskii extract lowered the blood pressure by decreasing the MAP in anesthetized rats without modifying the HR. The blood pressure lowering effect produced in anesthetized rats indicates that the hypotensive effect of the extract was not blocked by urethane anesthesia.

This hypotensive effect has already been reported by Ladeji et al. (1996) on a sample collected in Nigeria. According to all what has been said above, this result suggests that the blood pressure decrease effect of *Vitex cenkowskii* is due to an active vasodilatation, which is mediated, at least partially, by NO release from the vascular endothelium.

The extracts of *Vitex cenkowskii* did not show any inhibition on KCl-induced contraction in isolated rat aorta rings while these

extracts provoked an important relaxation of NA-induced contraction. On the other hand some fractions obtained from methylene chloride–methanol induced relaxation both KCl and NA-induced contraction although in variable proportion. Preliminary chemical analysis demonstrated that the MeOH and CH₂Cl₂–MeOH (1:1) extracts and fraction of *Vitex cienkowskii* contained a number of terpenoids and some flavonoids. These classes of compounds may be responsible for the activities observed since it has been demonstrated that phenolic compounds and triterpenoids possess vasodilator properties (Kim et al., 1994; Tanner et al., 1999; Rodríguez et al., 2004). Further chemical analysis led to the isolation of pentacyclic triterpenoids and a ceramide. Compounds **1**, **2**, **3**, **4**, **5** and **6** were isolated from active fraction F-VI, F-VII, FVIII, FXI and F-XV respectively.

The vasorelaxant properties induced by these compounds clearly show that they are at least partly responsible for the activities observed. These compounds were able to relax, in a concentration-dependent fashion, the contractions induced by noradrenaline in rat aortic rings with functional endothelium. However, these responses were less marked in arteries precontracted by KCl and in endothelium-denuded arteries (results not shown). High KCl concentrations cause contractions in vascular smooth muscle by depolarising cell membranes and by increasing the influx of Ca²⁺ through long-lasting voltage dependent channels (Godfraind et al., 1986). In this way, the absence of relaxation in KCl (60 mM) evoked contractions might probably remove either the influence of membrane hyperpolarisation is an indication that the blockage of Ca entry through voltage-stimulated Ca²⁺ channels relaxant responses to extracts, pentacyclic triterpenoids, and ceramide. It has been previously reported in a well-established in vitro model of vasomotion that triterpenoid-related compounds, commonly found in plant species, elicit vasorelaxation through the direct release of NO from vascular endothelium (Kim et al., 1994; Tanner et al., 1999). In this way, it was expected that oleanolic acid and β-sitosterol (β-sitosterol relaxed noradrenaline precontracted endothelium intact rings slightly but not significantly) would have vasoactive effects related to NO derived from endothelium. On the other hand ceramide induced vasorelaxation. Another study demonstrated that cellular and molecular mechanisms underlying the relaxant actions of ceramide remain to be established but a reduction in intracellular Ca²⁺ is a key factor in causing relaxation (Zheng et al., 1998).

There is increasing evidence to suggest that many degenerative diseases, such as brain dysfunction, cancer, heart diseases and immune system defects, could be the result of cellular damage caused by free radicals. Antioxidants present in human diet may play an important role in disease prevention (Steinmetz and Potter, 1996; Aruoma, 1998). For this reason, the evaluation of antioxidant activity of the *Vitex cienkowskii* has initially been evaluated.

In this study, the antioxidant capacities of the aqueous, methanol and methylene chloride–methanol (1:1) extracts of *Vitex cienkowskii* were tested using the DPPH assay. Ethanol solution of the stable 1,1-diphenyl-1-picryl-hydrazyl radical (DPPH) radical strongly absorbs at 517 nm, showing a deep purple colour. This solution in the presence of test substance with free radical scavenging (antioxidant) activity can be 'decolourised', resulting in bleaching on the TLC plate and a reduction in absorbance measured spectrophotometrically. Methanol and methylene chloride–methanol (1:1) extracts of *Vitex cienkowskii* showed DPPH free radical scavenging activity in a concentration-dependent manner with an IC₅₀ value of about 10 μg/ml. Many pharmacological studies have demonstrated the ability of the medicinal plants to exhibit antioxidant activity. Among these plants we can cite for example *Turraeanthus africanus* and *Hypericum scabroides*. Extracts of both plants were found to be highly active in the DPPH radical scavenging assay with an IC₅₀ of 29.2 and

33.8 μg/ml, respectively (Kızıl et al., 2008; Dongmo et al., 2009). These antioxidant properties of constituents of human diet or plant extracts are generally associated with the phenolic compounds such as protocatechuic acid, ferulic acid, quercetin and guavin B (Thaipong et al., 2005) but can also be attributed to the presence of other compounds such as triterpenoids (Gao et al., 2006; Backhouse et al., 2008).

In conclusion, the results of the present study reported that *V. cienkowskii* induce vasorelaxant activity. This vasorelaxant property is due to the presence of pentacyclic triterpenoids such as oleanolic acid, maslinic acid, salvin A and a sphingosine-type (ceramide). These preliminary results suggest that the mechanism of relaxation seems to be mainly mediated by the endothelial production of NO, however, other mechanisms cannot be excluded. Bearing in mind the pharmacological effects showed earlier, it can be concluded that pentacyclic triterpenoids and ceramide may have an interesting therapeutic potential as new vasodilator drugs, thus protecting the cardiovascular system. Therefore, the intake *Vitex cienkowskii* extract, as a source of these compounds, might be beneficial in this regard. Additional experimentation is in progress in order to provide new data for clarifying the precise mechanism by which these compounds and others isolated compounds from *Vitex cienkowskii* produce their characteristic in vitro vasorelaxant effects.

Acknowledgments

We wish to express our sincere thanks to the Alexander von Humboldt Foundation, for its award of Georg Forster Research Fellowship to one of the authors and are also indebted to the International Foundation of Science for his financial support (via research grant F/4633-1).

References

- Ahmad, U.V., Hussain, J., Hussain, H., Farooq, U., Akber, E., Nawaz, S.A., Choudhary, M.I., 2004. Two Ceramides from *Tanacetum artemesioiodes*. *Zeitschrift für Naturforschung B* 59, 329–333.
- Alam, M.I., Gomes, A., 2003. Snake venom neutralization by Indian medicinal plants (*Vitex negundo* and *Emblia officinalis*) root extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 86, 75–80.
- Aruoma, O.I., 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 75, 199–212.
- Backhouse, N., Rosales, L., Apablaza, C., Göity, L., Erazo, S., Negrete, R., Theodolu, C., Rodriguez, J., Delporte, C., 2008. Analgesic, anti-inflammatory and antioxidant properties of *Buddleja globosa*, *Buddlejaceae*. *Journal of Ethnopharmacology* 116, 263–269.
- Berger, D., Schaffner, W., Schrader, E., Meier, B., Brattström, A., 2000. Efficacy of *Vitex agnus-castus* L. extract Ze 440 in patients with pre-menstrual syndrome (PMS). *Archives of Gynaecology and Obstetrics* 264, 150–153.
- Chericoni, S., Testai, L., Calderone, V., Flamini, G., Nieri, P., Morelli, I., Martinotti, E., 2003. The xanthones Gentiacaulein and Gentiakochianin are responsible for the vasodilator action of the roots of *Gentiana kochiana*. *Planta Medica* 69, 770–772.
- Correa, M.P., 1926. *Dicionário das Plantas úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, vol. IV, p. 208.
- Dongmo, A.B., Dzikouk, D.G., Massoma, L.D., Nguielefak, T.B., Vardamides, C., Kamanyi, A., Vierling, W., 2009. Antioxidant and vasorelaxant activities of the antioxidant and vasorelaxant activities of the *Turraeanthus africanus* methanol extract. *Pharmaceutical Biology* 47, 1123–1129.
- Dharmasiri, M.G., Jayakody, J.R.A.C., Galhena, G., Liyanage, S.S.P., Ratnasooriya, W.D., 2003. Anti-inflammatory and analgesic activities of mature fresh leaves of *Vitex negundo*. *Journal of Ethnopharmacology* 87, 199–206.
- Fourcade, I., Paule, P., Mafart, B., 2007. Hypertension artérielle en Afrique saharienne actualité et perspectives. *Medecine Tropicale* 67, 559–567.
- Friebe, A., Koesling, D., 2003. Regulation of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase. *Circulation Research* 93, 96–105.
- Gao, J., Chen, J., Tang, X., Pan, L., Xu, L., Zhao, L., Xu, Q., 2006. Mechanism underlying mitochondrial protection of asiatic acid against hepatotoxicity in mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 58, 227–233.
- Goad, L.J., Akihisa, Y., 1997. *Analysis of Sterols*, first edition. Blackie Academic & Professional, Weinheim, pp. 378–380.
- Godfraind, T., Miller, R., Wibo, M., 1986. Calcium antagonism and calcium entry blockage. *Pharmacological Reviews* 38, 321–416.
- Gupta, M., Mazumder, U.K., Bhawal, S.R., 1999. CNS activity of *Vitex negundo* Linn. in mice. *Indian Journal of Experimental Biology* 37, 143–146.

- Hajdú, Z., Hohmann, J., Forgo, P., Martinek, T., Dervarics, M., Zupkó, I., Falkay, G., Cossuta, D., Imre, M., 2007. Diterpenoids and flavonoids from the fruits of *Vitex agnus-castus* and antioxidant activity of the fruit extracts and their constituents. *Phytotherapy Research* 21, 391–394.
- Hernandez, M.M., Heraso, C., Villarreal, M.L., Vargas-Arispuro, I., Aranda, E., 1999. Biological activities of crude plant extracts from *Vitex trifolia* L. (Verbenaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 67, 37–44.
- Hirobe, C., Qiao, Z.S., Takeya, K., Itokawa, H., 1997. Cytotoxic flavonoids from *Vitex agnus-castus*. *Phytochemistry* 46, 521–524.
- Hoberg, E., Orjala, J., Meier, B., Sticher, O., 1999. Diterpenoids from the fruits of *Vitex agnus-castus*. *Phytochemistry* 52, 1555–1558.
- Hossain, M.M., Paul, N., Sohrab, M.H., Rahman, E., Rashid, M.A., 2001. Antibacterial activity of *Vitex trifolia*. *Fitoterapia* 72, 695–697.
- Jackson, W.F., König, A., Dambacher, T., 1993. Prostacyclin-induced vasodilation in rabbit heart is mediated by ATP-sensitive potassium channels. *American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology* 264, H238–H243.
- Kim, N.D., Kang, S.Y., Schini, V.B., 1994. Gingenosides evoke endothelium-dependent vascular relaxation in rat aorta. *General Pharmacology* 25, 1071–1077.
- Kızıl, G., Kızıl, M., Yavuz, M., Emen, S., Hakimoglu, F., 2008. Antioxidant activities of ethanol extracts of *Hypericum triquetrifolium* and *Hypericum scabroides*. *Pharmaceutical Biology* 46, 231–242.
- Kuruüzüm-Uz, A., Ströck, K., Demirezer, L.Ö., Zeeck, A., 2003. Glucosides from *Vitex agnus-castus*. *Phytochemistry* 63, 959–964.
- Ladeji, O., Okoye, Z.S.C., Uddoh, F., 1996. Effects of *Vitex doniana* stem bark extract on blood pressure. *Phytotherapy Research* 10, 245–247.
- Mahato, S.B., Kundu, A.P., 1994. ¹³C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids—a compilation and some salient features. *Phytochemistry* 37, 1517–1575.
- Mancia, G., Bombelli, M., Lanzarotti, A., Grassi, G., Cesana, G., Zanchetti, A., Sega, R., 2002. Systolic vs. diastolic blood pressure control in the hypertensive patients of the PAMELA population. *Archives of Internal Medicine* 162, 582–586.
- Mehmood, S., Riaz, N., Nawaz, S.A., Afza, N., Maliki, A., Choudhary, M.I., 2006. New butyrylcholinesterase inhibitory triterpenes from *Salvia santolinifolia*. *Archives of Pharmaceutical Research* 29, 195–198.
- Neuwinger, H.D., 2000. African Traditional Medicine: A Dictionary of Plant Use and Applications. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart.
- Nkeng-Efouet, P., 1987. Contribution à l'étude des plantes médicinales du Cameroun: Les ecdysones et les irridoides des *Vitex*. Thèse de doctorat 3^e cycle en chimie organique, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé, Cameroun.
- Ono, M., Sawamura, H., Ito, Y., Mizuki, K., Nohara, T., 2000. Diterpenoids from the fruits of *Vitex trifolia*. *Phytochemistry* 55, 873–877.
- Ono, M., Yamamoto, M., Yanaka, T., Ito, Y., Nohara, T., 2001. Ten new labdane-type diterpenes from the fruit of *Vitex rotundifolia*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 49, 82–86.
- Pei-Wu, G., Fukuyama, Y., Rei, W., Jinxian, B., Nakagawa, K., 1988. An acylated sitosterol glucoside from *Alisma plantago-aquatica*. *Phytochemistry* 27, 1895–1896.
- Parkington, H., Coleman, H.A., Tare, M., 2004. Prostacyclin and endothelium-dependent hyperpolarization. *Pharmacological Research* 49, 509–514.
- Ramazanov, N.S., 2004. Ecdysteroids and iridoidal glycosides from *Vitex agnus-castus*. *Chemical and Natural Products* 40, 299.
- Rodríguez-Rodríguez, R., Herrera, M.D., Perona, J.S., Ruiz-Gutiérrez, V., 2004. Potential vasorelaxant effects of oleanolic acid and erythrodiol, two triterpenoids contained in 'orujo' olive oil, on rat aorta. *British Journal of Nutrition* 92, 635–642.
- Rubanyi, G.M., 1993. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 22, S1–S14.
- Samy, R.P., Ignacimuthu, S., Sen, A., 1998. Screening of 34 Indian medicinal plants for antibacterial properties. *Journal of Ethnopharmacology* 62, 173–182.
- Sontia, B., 2005. Einfluss von Pflanzen-Extrakten (*Vitex cienkowskii* und *Daniella oliveri*) und physiologischen Ionen auf die glatte Gefäßmuskulatur und elektrophysiologische Eigenschaften des Herzmuskels. Dissertation an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München.
- Sorensen, J.M., Katsiotis, S.T., 2000. Parameters influencing the yield and composition of the essential oil from Cretan *Vitex agnus-castus* fruits. *Planta Medica* 66, 245–250.
- Steinmetz, K.A., Potter, J.D., 1996. Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *Journal of the American Dietetic Association* 96, 1027–1039.
- Taniguchi, S., Imayoshi, Y., Kobayashi, E., Takamatsu, Y., Ito, H., Hatano, T., Sakagami, H., Tokuda, H., Nishino, H., Sugita, D., Shimura, S., Yoshida, T., 2002. Production of bioactive triterpenes by *Eriobotrya japonica* calli. *Phytochemistry* 59, 315–323.
- Tanner, M.A., Bu, X., Steimle, J.A., Myers, P.R., 1999. The direct release of nitric oxide by gypenosides derived from the herb *Gynostemma pentaphyllum*. *Nitric Oxide* 3, 359–365.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Cisneros-Zevallos, L., Byrne, D.H., 2005. Hydrophilic and lipophilic antioxidant activities of guava fruits. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health* 36, 254–257.
- Taiwo, O., Xu, H.X., Lee, S.F., 1999. Antimicrobial activities of extracts from Nigerian chewing sticks. *Phytotherapy Research* 13, 675–679.
- Vierling, W., Brand, N., Gaedcke, F., Sensch, K.H., Schneider, E., Scholz, M., 2003. Investigation of the pharmaceutical and pharmacological equivalence of different Hawthorn extracts. *Phytomedicine* 10, 8–16.
- Wang, Y., Jian-Gong, S., Wang, M.Z., Chun-Tao, C., John, H.K., 2007. Mechanisms of the vasorelaxant effect of 1-hydroxy-2, 3,5-trimethoxy-xanthone, isolated from a Tibetan herb, *Halenia elliptica*, on rat coronary artery. *Life Sciences* 81, 1016–1023.
- WHO, 2005. Les maladies cardio-vasculaires dans la région africaine: situation actuelle et perspectives, AFR/RC55/12, pp. 1–9.
- Wollenweber, E., Mann, K., 1983. Flavonols from fruits of *Vitex agnus-castus*. *Planta Medica* 47, 126–127.
- Xiangjiu, H., Rui, H.L., 2007. Triterpenoids isolated from apple peels have potent antiproliferative activity and may be partially responsible for apple's anticancer activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 4366–4370.
- Xiong, Q., Kadota, S., Tani, T., Namba, T., 1996. Antioxidative effects of phenylethanoids from *Cistanche deserticola*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 19, 1580–1585.
- Yamagishi, T., Zhang, D., Chang, J., Mcphail, D., Mcphail, A.T., Lees, K.H., 1988. The cytotoxic principles of *Hyptis capitata* and the structures of the new triterpenes hyptatic acid-A and -B. *Phytochemistry* 27, 3213–3216.
- Yan, X., Nagata, T., Fa, X., 1998. Antioxidative activities in some common seaweeds. *Plant Foods for Human Nutrition* 52, 253–262.
- You, K.M., Son, K.H., Chang, H.W., Kang, S.S., Kim, H.P., 1998. Vitexicarpin, a flavonoid from the fruits of *Vitex rotundifolia*, inhibits mouse lymphocyte proliferation and growth of cell lines *in vitro*. *Planta Medica* 64, 546–550.
- Zheng, T., Wenyan, L., Altur, B.T., Altura, B.M., 1998. C₂-ceramide attenuates prostaglandin F_{2α}-induced vasoconstriction and elevation of [Ca²⁺]_i in canine cerebral vascular smooth muscle. *Neuroscience Letters* 256, 113–116.