



# Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Année universitaire: 2008-2009

N° : .....

## Thèse :

### **ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET DE LA TOXICITE DE QUATRE (04) PLANTES :**

- *Calotropis procera* (Ait.) Ait (Ascl'piadac'ẽ s),
- *Centaurea perrottetii* (Dc.) (Ast'rac'ẽ s),
- *Euphorbia sudanica* A chev (Euphorbiac'ẽ s),
- *Hyptis suaveolens* Poit. (Lamiac'ẽ s)

Présentée et soutenue publiquement le ..... devant la Faculté de Médecine, de  
Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par Monsieur : **PHILIPPE TRAORE**

Pour obtenir le grade de DOCTEUR en **PHARMACIE** (Diplôme d'Etat)

### JURY :

Président : Professeur Boubacar Sidiki CISSE

Membre : Docteur Adiaratou TOGOLA

Co-Directeur : Professeur Drissa DIALLO

Directeur : Professeur Ababacar I. MAÏGA

## INTRODUCTION

Dans les pays en voie de développement, les problèmes de médicaments se posent en terme d'insuffisance quantitative, qualitative et d'inaccessibilité économique. La faiblesse des ressources économiques des populations limite l'achat des produits pharmaceutiques.

D'après l'organisation mondiale de la santé (OMS), environ 80% des populations africaines font recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire leurs besoins en soins de santé primaire. L'étude de la toxicité des plantes doit tenir une place importante car c'est des espèces de haute toxicité comme l'aconit, la digitale, les strophanthus, la noix vomique, les solanacées mydriatiques, le pavot, la cigue..., que l'industrie pharmaceutique a retiré des médicaments de grande valeur.

Les plantes toxiques sont utilisées depuis longtemps, chez tous les peuples, dans le monde entier, elles ont servi à la pêche et à la chasse en rendant mortelles les blessures des flèches, ou à assouvir des desseins criminels ou mystiques.

L'usage de ces drogues a disparu progressivement par suite de la découverte des armes à feu. Seuls les poisons d'épreuve ont persisté. Parmi ceux-ci on peut citer :

- En Afrique occidentale : au premier rang, le téli ou tali (*Erythrophleum guineense*) qui a fait des ravages de la Casamance au Congo, l'Eséré ou fève de Calabar (*Physostigma venenosum*); les poisons strophantiques utilisés pour l'empoisonnement des flèches : kounalé ou kounadié (*Strophanthus hispidus*) (Kerharo et Adams. 1974)
- En Afrique orientale : *Strophantus kombe*
- " Inée " ou " onaye " ou " Nai " (*Strophanthus gratus*) au Gabon.
- L'ouabaio (*Acocanthera ouabaio*) en Ethiopie.

- Le curare des Indiens de l'Amazonie qui a servi par la suite aux expériences de Claude Bernard et a été le prélude à un prodigieux essor de la physiologie appliquée notamment en chirurgie.

- En Asie les Strychnos ont été utilisés; en Malaisie comme dans la plupart des îles océaniques des formules compliquées de poisons de flèche ou d'épreuve ont été employées (Haynes et Coll. 1964).

L'intoxication liée aux plantes se fait généralement par ingestion ou par contact. Dans la majorité des cas l'individu veut utiliser une plante qu'il croit comestible ou qu'il perçoit comme bénéfique pour sa santé.

Au 16<sup>ème</sup> siècle les empoisonnements ont causé de nombreux dégâts comme au moyen âge. C'est au 16<sup>ème</sup> siècle que Paracelse (1493- 1541) attira l'attention sur la notion de dose.

Les informations sur les substances toxiques ont été documentées au cours des civilisations.

Au Mali, le département de la médecine traditionnelle (DMT) participe à la valorisation des plantes médicinales. Ce département qui relève de l'Institut national de la recherche en santé publique (INRSP) a permis de mettre sur le marché sept (7) médicaments traditionnels améliorés (MTA) en vue de l'amélioration de l'état de santé des populations. La mise au point de MTA nécessite des études phytochimiques et pharmacotoxicologiques. C'est dans cette optique que notre travail porte sur l'étude de l'activité antioxydante et de la toxicité de *Calotropis procera*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens* utilisés pour leurs propriétés insecticides et *Centaurea perrottetii* utilisé dans le traitement de la bilharziose.

# MOTIVATIONS

## **MOTIVATION**

En 1978, l'organisation mondiale de la santé (OMS) s'est résolument engagée à revaloriser la pharmacopée traditionnelle afin de pouvoir satisfaire aux besoins des populations.

Notre recherche s'inscrit dans cette perspective et a été motivée par :

- La volonté de promouvoir et de valoriser les plantes médicinales du Mali.
- La nécessité de faciliter l'accès des populations aux médicaments à moindre coût compte tenu du prix élevé des médicaments conventionnels.
- Notre volonté de contribuer au développement et à la production locale de médicaments traditionnels à toxicité déterminée;

Dans cette optique de revalorisation de la pharmacopée traditionnelle afin de pouvoir satisfaire aux besoins de la population la sécurité d'utilisation doit être le critère primordial du choix des plantes médicinales. Les professionnels de la santé et le public doivent recevoir des informations récentes et vérifiées tant sur les effets bénéfiques que nocifs des plantes médicinales.

# OBJECTIFS

## **OBJECTIFS**

### **OBJECTIF GENERAL:**

Etudier l'activité antioxydante et la toxicité de *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Hyptis suaveolens*, et *Euphorbia sudanica* récoltées au Mali.

### **OBJECTIFS SPECIFIQUES:**

1-Déterminer les éléments de contrôle de qualité de *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens*.

2- Identifier les différents groupes chimiques présents dans les extraits de *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens*.

3- Déterminer la toxicité aiguë des extraits de *Calotropis procera*, de *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens*.

4- Déterminer la toxicité sub-aiguë de l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii*

5- Identifier les signes du toxodrome

6-Déterminer l'effet des extraits sur le sang, le poids des souris, la consommation d'aliment et l'eau, les poids des organes.

7- Déterminer l'activité antioxydante des extraits de *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens*.

# TRAVAUX ANTERIEURS

## GENERALITES

### 1/ Rappel sur la toxicité :

Avant d'examiner l'activité thérapeutique d'une drogue ou de ses constituants, il est nécessaire de connaître leur toxicité. L'utilisation des plantes comme médicaments est le plus souvent fondée sur des observations empiriques et des traditions parfois millénaires. Il y a des drogues dont l'administration peut provoquer des phénomènes d'intolérance ou d'allergie.

D'autres plantes exercent leur effet thérapeutique à des doses voisines de celles pour lesquelles on observe des signes d'intoxications; on dit que la marge thérapeutique est réduite comme le cas des digitales, curares, aconit etc. (Paris et Moyse, 1965)

L'intoxication est sévère avec les plantes riches en hétérosides cardiotoniques.

Les saponosides ont des propriétés hémolytiques généralement attribuées à leur interaction avec les stérols de la membrane érythrocytaire.

Toutes les plantes pourraient être toxiques; leur toxicité peut se réaliser par ingestion ou par contact.

Toxicité aiguë (toxicité par administration unique) : C'est l'étude qualitative et quantitative des effets d'intoxication qu'il est possible de rencontrer après administration unique de la ou des substance(s) active(s) contenue(s) dans les médicaments.

Cette étude décrit les manifestations de la toxicité aiguë ou toxidrome, et indique la dose létale ( $DL_{50}$ ) avec ses limites de confiance (95%).

La  $DL_{50}$  est la dose de substance capable de provoquer par la voie d'administration choisie la mortalité cumulée de 50 % des animaux d'une population mise en expérience. Elle s'évalue à partir de lots d'animaux auxquels

correspondent des doses de la substance. L'étude sur l'animal de laboratoire doit être effectuée sur un nombre égal d'animaux mâles et femelles.

La durée de l'observation des animaux est précisée par le protocole. En général elle n'est pas inférieure à une semaine.

#### -Toxicité sub-aigue et toxicité chronique (toxicité par administration répétée)

Ces épreuves ont pour objet de mettre en évidence les altérations fonctionnelles et/ou pathologiques consécutives aux administrations répétées de la substance active examinée; et d'établir les conditions d'apparition de ces altérations en fonction de la posologie.

L'étendue et la durée des essais ainsi que les doses choisies devraient être justifiées. L'expérience doit se faire sur deux espèces de mammifères dont un non rongeur. Une des deux expériences durera 2-4 semaines (toxicité sub-aigue) et l'autre 3-6 mois.

L'administration dépend de la forme et les possibilités d'absorptions.

Il est utile de choisir la dose la plus élevée de la façon à faire apparaître des effets nocifs, la dose thérapeutique (dose utilisée pour le traitement) et la dose inférieure à la dose thérapeutique permet alors de situer la marge de tolérance du nouveau produit chez l'animal.

L'évaluation des effets toxiques est faite sur la base du comportement, la variation de masse de l'animal, de la formule sanguine et éventuellement sur la base des comptes rendus nécrosiques avec des examens histologiques...

## **2/ LES ANTIOXYDANTS**

### **2.1/ LES RADICAUX LIBRES**

L'oxygène moléculaire présente dans l'atmosphère est indispensable à la vie des êtres vivants ou des organismes dits aérobie. En effet, elle constitue une source d'énergie pour ces organismes qui l'utilisent dans les réactions d'oxydo-réduction (chimiotrophes) reposant sur des interactions entre donneurs d'électrons (réducteurs) et des accepteurs d'électrons (oxydants).

L'oxygène, en tant que récepteur final d'électrons dans l'organisme, se transforme en molécule d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette réaction est importante puisqu'elle est associée avec la production de 38 molécules d'adénosine triphosphate (ATP) à haut potentiel énergétique contre 2 molécules dans un processus anaérobie.

Le processus de réduction de l'oxygène en eau n'est pas total car 2 à 3 % de l'oxygène sont transformés en espèces réactives de l'oxygène (ERO).

Dans une première étape, le radical libre anion superoxyde  $O_2^-$  est formé, ce qui conduit par la suite à la production d'autres ERO comme le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , l'oxygène singulet  $O_2$ , le radical hydroxyle OH, les peroxydes alkyles (ROOH) l'acide hypochloreux HClO, des dérivés nitrés. Ces ERO sont utilisées par les cellules phagocytaires de l'organisme (les macrophages) pour combattre les agents infectieux tels que les bactéries ou les virus.

Pourtant, la présence dans l'organisme de ces ERO n'est pas sans conséquence car de très nombreuses études épidémiologiques et cliniques ont plus que suggéré leur rôle dans le développement de nombreux processus pathologiques comme l'asthme, l'athérosclérose et la cancérogenèse (Müller, 1992; Harman, 1992).

## **Mécanisme de l'inhibition des radicaux libres**

La migration des leucocytes et la phagocytose amorcée sur les sites de l'inflammation sont accompagnées comme nous l'avons dit plus haut, de changements d'activité métabolique et en particulier de la formation d'anion superoxydes ( $O_2^-$ ), de radicaux libres (OH), d'hydroperoxydes ( $H_2O_2$ ).

Ces molécules très réactives et cytotoxiques (également dotées, après transformation, d'activité bactéricide) sont les substrats de diverses enzymes intracellulaires : superoxyde dismutase, peroxydase, glutathion peroxydase et catalase. Lorsque ces enzymes sont saturées (en particulier la glutathion peroxydase), ces intermédiaires sont engagés dans les voies métaboliques de l'acide arachidonique et favorisent ainsi la synthèse de prostaglandines inflammatoires. En conséquence, plus l'infiltration des neutrophiles est prononcée, plus le système dépendant du glutathion est saturé et le risque d'accumulation d'acides éicosaénoïques élevé. Il est donc plausible d'envisager que les AINS puissent capter et désactiver ces radicaux libres et cette action a été partiellement démontrée, *in vitro*, pour les salicylates (Schorderet, 1998).

## **2.2 / Les substance à activité antioxydante**

Un antioxydant est une substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat.

Pour se protéger des effets toxiques de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense antioxydants composés:

- d'enzymes : superoxyde dismutases (SODs), catalase, glutathion peroxydases (GPx's), hème oxygénase, peroxyrédoxine...
- de molécules antioxydantes de petite taille (caroténoïdes, vitamines c et E, glutathion, acide urique, acide lipoïque, ubiquinone...)

- de protéines (transferrine, ferritine, céruléoplasmine)

Ces composés maintiennent les métaux dans un état inactif pour éviter la formation d'ERO (Espèces Réactives de l'Oxygène).

Certains oligo-éléments comme la cuivre, le zinc, le sélénium sont indispensables pour l'activité des enzymes antioxydantes (Cu, Zn-SOD, MnSOD, SeGPx).

Le zinc est également un inducteur des métallothionéines, protéines à activité antioxydante et un inhibiteur des réactions de protection d'ERO induite par le cuivre.

Toutes ces défenses peuvent être renforcées par des rapports exogènes en antioxydants naturels. Ces antioxydants naturels se retrouvent dans toutes les parties des plantes supérieures et sont en majeure partie constitués de composés phénoliques tels que :

- les flavonoïdes (quercétine, rutine, resvératrol...) qui se retrouvent en grande quantité dans le vin rouge, le thé vert, les légumes et les extraits *de Ginkgo biloba*, de myrtille et d'algues marines.

- les coumarines

- les caroténoïdes présents dans les plantes alimentaires tels que la carotte

- les tanins sont actuellement recherchés pour leur activité antioxydante.

Tout bilan antioxydant normal résulterait d'une alimentation équilibrée en fruits et légumes.

Méthode d'étude : la méthode utilisée pour la détermination de l'activité antioxydante est la chromatographie sur couche mince (CCM) par le Diphényl picryl hydrazyl (DPPH) (Bossokpi, 2002)

Principe : il consiste de la réduction des radicaux libres fournis par le DPPH sur des plaques CCM (TAKAO et al, 1994).

### Quelques plantes à activité antioxydante

Le tableau I présente quelques plantes à activité antioxydante selon (Pousset, 2004)

Tableau I : Quelques plantes à activité antioxydante

Nom scientifique	Famille	Parties utilisées
<i>Mitracarpus scaber</i>	Rubiacées	Feuilles
<i>Parkia biglobosa</i>	Mimosacées	Ecorces de tronc
<i>Cassia alata</i>	Fabacées	Feuilles fraîches

### **3- MONOGRAPHIE DES PLANTES:**

#### **3.1/ *Calotropis procera* (Ait). Ait (Asclépiadacées)**



Figure N°1 : Photo d'un rameau fleuri et fruit de *Calotropis procera*

##### **3.1.1/ Botanique :**

Nom vulgaire : Arbre à soie, pomme de Sodome

Nom bambara : popopogolo

Habitat :

Il est très irrégulièrement reparti. C'est une plante répandue dans toute l'Afrique intertropicale, surtout dans les régions sèches (GRIPT, 2001).

C'est un arbuste à latex, à cime irrégulière, de 3 à 5 m de haut, parfois sans branche jusqu'à 2 m. L'écorce est épaisse, liègeuse, crevassée, grise à beige clair, avec la branche jaune.

Le latex est blanc.

Les rameaux sont finement pubescents et glauques.

Les feuilles sont opposées, sessiles, plus ou moins succulentes, vert-glaucue sur le dessus et gris vert en-dessous, largement obovales ou oblongues de

15-30x7-15 cm, à sommet arrondi ou en coin court, à base cordée.

Le limbe comporte des nervures plus ou moins palmées à la base, une nervure centrale épaisse et 8-10 paires de nervures secondaires peu saillantes se raccordant vers le sommet.

Les florescences sont à cyme ombelliforme de 10 cm de large, disposée à l'aisselle des feuilles.

Les fleurs sont de couleur blanche-verte et violettées, de 2 à 3 cm de diamètre, à 5 pétales. Les fruits se présentent sous forme de gros follicules renflés, ovoïdes, de la taille d'une mangue, verts, mous et remplis d'air (Arbonnier, 2002).

La graine est aplatie, surmontée à un bout d'une touffe de soies blanches.

La floraison se fait toute l'année, aussi bien en saison sèche qu'en saison des pluies. La reproduction se fait par les graines (Nacoulma, 1996).

### **3.1.2/ Systématique :**

Règne ----- Végétal  
Embranchement -----Magnoliophyta  
Sous embranchement -----Angiospermes  
Classe -----Magnoliopsida  
Sous classe -----Asteridae  
Ordre -----Gentianales  
Famille -----Asclépiadacées  
Genre -----*Calotropis*  
Espèce -----*procera*

### 313/ Utilisations traditionnelles :

#### -Racines :

La poudre des écorces de racines est utilisée, en Afrique de l'Ouest, comme stomachique et contre la colique. Elle est recommandée pour une bonne lactation et soigne des mammites. Les racines pilées, mélangées dans une bouillie provoquent l'avortement. D'après Sebire (1899), les racines sont toxiques mais elles peuvent être utilisées à faible dose comme purgative par les lépreux pour compléter leur traitement. Les racines peuvent être également utilisées contre les éruptions cutanées, la syphilis, la lèpre, les ulcères nauséabonds. En Inde également, l'écorce est employée pour combattre la lèpre, l'éléphantiasis et la dysenterie. Au Sénégal comme en Haïti, la racine est considérée comme aphrodisiaque. En Afrique et aux Caraïbes, on guérit l'arthrite du genou à l'aide d'une décoction chaude de racines. Les racines servent aussi dans certains traitements des états anxieux et de la folie. Mélangées avec d'autres drogues comme *Parkia biglobosa* Jacq.Benth.(Mimosacée) et *Leptadenia hastata* Decne (Asclépiadacée), elles constituent un remède contre les empoisonnements. Au Niger, la poudre de racine sert à traiter la drépanocytose. Les écorces des racines ont été utilisées dans les algies rhumatismales, dans la fièvre. (G.R.I.P.T, 2001)

#### - Tiges :

La poudre des tiges sèches est considérée comme stomachique et anti-diarrhéique; cette poudre mélangée à une solution de tamarin est considérée par les Bobos de Burkina Faso comme violemment diurétique. Au Niger, les tiges ou les rameaux entrent dans la préparation des pommades destinées au traitement local des lépromes. Les oreillons sont traités à l'aide de charbon pilé pétri de beurre animal. (G.R.I.P.T, 2001)

## Feuilles :

Les feuilles, à cause de leur richesse en latex, sont très recherchées. Au Niger, on soigne les teignes avec du latex foliaire. En Asie, les feuilles sont employées en cataplasme contre les maladies de la peau. On fait sortir la filaire de Médine entièrement en appliquant localement des feuilles chauffées sous un bandage. Le macéré des feuilles fournit un excellent vermifuge. Certains guérisseurs Mossi font boire aux malades atteints par le ver de guinée de la poudre de feuilles fraîches délayées dans du lait; durant l'extraction, on peut verser sur la plaie une goutte de latex. Au Nigeria, le latex est appliqué localement sur la morsure de scorpion; il peut être utilisé à titre préventif par des personnes manipulant le scorpion. On soigne le rhumatisme par massage à l'aide d'un bout de laine trempé du latex; mais une poudre des feuilles brûlées appliquée localement peut aussi servir. Les Haoussas emploient la plante comme remède contre l'asthme et la toux; ils font des fumigations des feuilles séchées et des tiges; elles peuvent aussi être introduites directement dans une pipe et fumées comme du tabac. Ces fumigations combattent également les ulcérations nasales. Dans le cas de syphilis nasale, on introduit dans les narines goutte à goutte le liquide recueilli en tordant des feuilles chaude après une décoction ceci provoque un soulagement par éternuement. Cette décoction est utilisée aussi pour guérir les conjonctivites. En cas de grippe et de maux de tête persistants une inhalation de feuilles vertes placées sur un gros caillou fortement chauffé peut entraîner la guérison. Une bouillie claire faite de grain de *Sorghum gambicum* et de feuilles de *Calotropis procera* soigne l'amibiase. Au Bénin, pendant l'épidémie de variole, on faisait manger à toute la maisonnée du ~~misa~~ (ou une autre céréale) cuit dans une macération de feuilles de *Calotropis procera*. Au Niger, les feuilles sèches sont utilisées contre les règles douloureuses; En Haïti, on guérit le fibrome de l'utérus par absorption d'un mélange de poudre de feuilles de *Calotropis procera* et de maïs grillé (en petite quantité) dans un bouillon de

viande. Les feuilles soignent également l'aménorrhée, mais provoquent aussi l'avortement. (G.R.I.P.T, 2001)

Fleurs :

Au Caraïbes, la poudre de fleurs déployée dans de l'eau tiède, prise comme boisson, est censée provoquer une bonne lactation. (G.R.I.P.T, 2001)

Graine :

Les graines concassées et fumées dans une pipe soignent les toux. (G.R.I.P.T, 2001)

**3.1.4/ Chimie :**

*Calotropis procera*, est une plante à hétérosides stéroïdiques, cardénolides et allocardénolides.

Constituants chimiques du latex :

Hesse et al (1941); Bruschweiler (1969) ont isolés du latex des hétérosides , des alcaloïdes, un nouvel enzyme protéolytique (la calotrapaïne), des triterpènes, de la beta-amyrine et des traces de glutathion (Kerharo et Adams 1974).

Tableau II : constituants chimiques isolés du latex (Neuwinger, 1990)

Groupe de substances	Substances isolées
Stérols	Taraxastérol ( $\alpha$ - lactucérol)  $\beta$ - sitostérol stigmastérol  taraxastérol o-acéthyl-taraxastérol
Acides triterpéniques	acide isovalériaue acides pyrotérébiques acide methylréductique

Hétérosides cardénolides	calotropine calotropagénine calotoxine calactine
Alcaloïdes	uscharine uscharidine voruscharidine
Triterpènes pentacycliques	calotoxine calactine
Alcaloïdes	$\alpha$ –amyrine et $\beta$ –amyrine
Protéase	choline
Enzyme protéolytique	calotropaine

Constituants chimiques des racines :

Tableau III : constituants chimiques isolés des racines ( Neuwinger ,1990)

Groupe de substances	Substances isolées
Glycosides	Mudarine  Calotoxine Calactine  Glycoside C21-stérolique  Benzoyllinéolone Benzoylisolinéolone
Digitanols	Rutine 1,66% (quercétine-3-ramnose)
triterpène	$\alpha$ –amyrine

Constituants chimiques des écorces :

Les écorces de *Calotropis procera* avec celles de *Calotropis gigantea* de l'Inde étaient autrefois connues sous le nom d'écorces de Mudar. Elles contiennent une serine amère, la mudarine formée d'esters valérianique et acétique et de deux resinols isomères.

Chandler et Coll en 1974 ont isolé dans l'espèce d'Australie deux digitanols, la benzoyllineolone et la benzoylisolineolone (Kerharo et Adams, 1974)

Constituants chimiques des fruits :

Tableau IV : constituants chimiques isolés du fruit  
(Neuwinger, 1990)

Groupe de substances	Substances isolées
cardénolides	Coroglaucigénine 1% Uzarigénine 0,17% Calactine 0,17% Calotropine 0,08% Calotropagénine 0,08%

Ils contiennent essentiellement de cardenolides (Kerharo et Adams, 1974)

Constituants chimiques des fleurs :

Les fleurs contiennent des flavonoïdes et des stérols (Kerharo et Adams, 1974)

Tableau V : constituants des isolées des fleurs

Flavonoïde	Rutine 7,63%
Anthocyanine	Cyanidine-3- rhamnoglucoside
Sterol	Progestérol

Constituants chimiques des graines :

Les dérivés de la calotropagine n'ont pas été trouvés dans les graines ni même à l'état de traces.

Des glycosides (d'un autre type de cardenolides) ont été mis en évidence par Rajagopalan et al. (Kerharo et Adams, 1974)

Autres organes :

Les feuilles et les tiges, riches en latex, contiennent aussi les mêmes substances et particulièrement la calotropine (hétéroside).

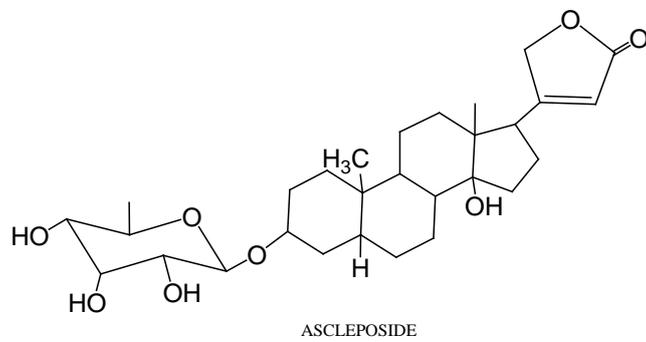
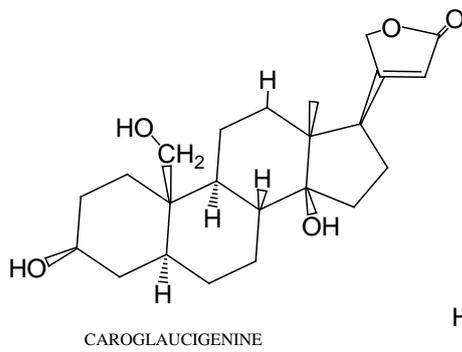
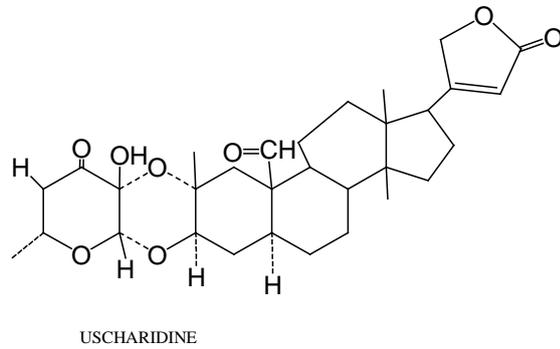
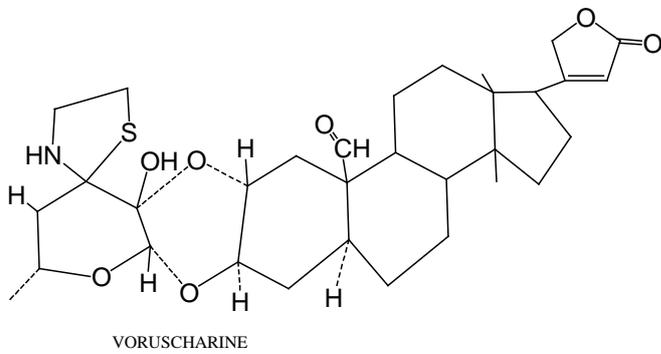
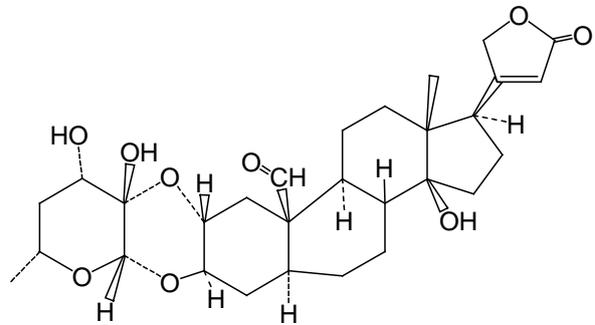
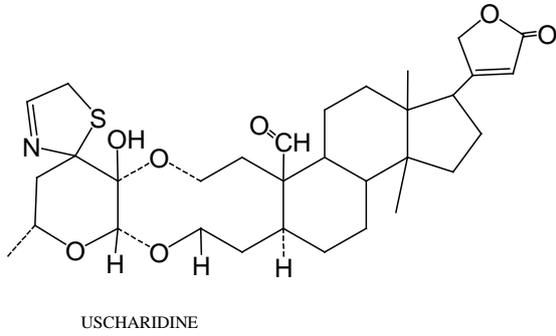
La présence d'alcaloïdes a été notée dans l'extrait aqueux de tige d'origine Pakistanaise (Kerharo et Adams, 1974)

Tableau VI : Constituants chimiques isolés des feuilles :

Groupe de substances	Substances isolées
Cardenolides	Calotropine Calotropagénine Uscharine Uscharidine Calotropine Uzarigénine Acide-19-calotropine Proceroside
polysaccharide	D-glucose +D-arabinose + D-glucosamine + L-rhamnose

Tableau VII : Constituants chimiques isolées des tiges

Groupe de substances	Substances isolées
Glycosides cardiotoniques	Uscharidine Calotropine Proceroside Calotoxine
cardénolides	Calactine Ascléposide Uzarigénine Calotropagénine Coroglaucigénine



Quelques structures chimiques des composés de *Calotropis procera*

### **3.1.5/ PHARMACOLOGIE :**

Latex :

La toxicité du latex, ancien ingrédient de flèche est bien connue et persiste même après coagulation sous l'action de la chaleur qui le transforme en une masse résineuse. Selon Dalziel (1974), quand le latex est appliqué sur les conjonctives, il provoque d'abord une congestion et une anesthésie locale puis des effets plus profonds dus à son absorption.

En 2005 des chercheurs ont testé une préparation à base de latex séché de *Calotropis procera* sur des souris pour étudier son potentiel dans la prévention et le traitement du cancer. Cette préparation se serait révélée efficace dans la protection contre la division désorganisée des cellules et n'aurait pas entraîné d'effets secondaires (Kerharo et Adams, 1974).

Il possède des propriétés bactériolytiques vis-à-vis de *Micrococcus lysodeikticus* (Shakla et al 1989), et des propriétés anti-inflammatoires (Kumar et al 1994).

Feuilles et tiges :

Les extraits de feuilles possèdent un puissant pouvoir insecticide (Kerharo et Adams, 1974).

Les extraits éthanoliques de feuilles et des fleurs possèdent de propriétés anti-inflammatoires, analgésique, anti-pyrétique, anti-microbiennes (Mascollo et al 1988, 1991).

Le macéré aqueux par ailleurs montre une activité anti-inflammatoire qui est maximale 4h après administration de la carragénine.

Les pourcentages d'inhibition maximum de l'oedème sont de 55.04 % et de 54.6% respectivement aux doses de 170 et 85mg /kg de poids corporel pour l'extrait de plante. La drogue est également inhibitrice de l'activité contractile de duodénum, isolé de rat. (Ouédraogo, 2005.)

Les racines :

Les extraits aqueux et alcoolique de racine ne sont pas toxique administrés oralement à des rats pesant 140- 240g à des doses de 100mg, 1g et 2g/kg.

Ces extraits révèlent une action stimulante sur la respiration et la pression sanguine du chien. Ils sont spasmogéniques pour les muscles involontaires du lapin et du rat ainsi que pour l'utérus de rat vierge.

Derasari et Shah, qui ont trouvé en outre que ces extraits étaient vermicides pour les vers ronds, concluent en définitive qu'ils sont atoxiques et caractérisés par une action musculotropique, mais non neurotropicque.

L'extrait chloroformique, inhibe des ulcères gastriques provoqués par l'aspirine, l'indométacine, l'éthanol ou par les stress ; il inhibe par ailleurs le métabolisme de l'acide arachidonique. Il a un effet hépatoprotecteur chez la souris et le rat (Kerharo et Adams, 1974).

L'extrait aqueux des écorces de racines présente des propriétés anti-inflammatoires (Ouédraogo, 2001).

Au Faso le macéré aqueux des écorces de racine présentent des propriétés analgésique- antipyrétique, puis une activité anti-falcemiente (Ouattara, 1991).

L'extrait éthanolique des écorces de racines brutes, le fruit séché et les autres composantes qui étaient utilisés en inhalation pour le traitement de l'asthme, ont montré qu'ils entraînaient à la longue une insuffisance rénale aigue (Lengani A et Goussou I.P, 1997).

- Graines :

Des extraits de graines (échantillons du Nigeria) testés par Patel et Rowson pour leur activité cardiaque sur le cœur isolé de *Bufo regularis* ont donné des réponses négatives pour la cardiotoxicité et positives pour la cardioactivité (Kerharo et Adams, 1974).

Les principes actifs à action digitalique :

Hesse et al. En 1941 ont trouvé que les doses toxiques des principes actifs étaient pour la grenouille en mcg/g : calotropine 0,5 ; calotoxine 0,7 ; uscharine 0,5 ; uscharidine 1,4.

Pour le chat en mg/kg : calotropine 0,12 ; calotoxine 0,11 ; uscharine 0,15.

Khan et al. en 1989 ont particulièrement étudié l'activité cardiaque de calotropine, calotoxine et uscharine par rapport à d'autres principes digitaliques : antiarine, convallotoxine, cymarine, ouabaine, etc. Vis à vis de ouabaine la puissance cardiaque s'ordonne comme suite pour le chat : ouabaine 121/mn, calotropine 100/mn, calotoxine 92/mn et uscharine 69/mn.

Pour la grenouille : ouabaine 144/mn, calotropine 100/mn, calotoxine 76/mn et uscharine 42/mn (Kerharo et Adams, 1974).

### **TOXICITÉ :**

*Calotropis procera* est employé comme poisons de flèches ou d'épreuves dans certains pays, il doit sa toxicité à des cardénolides.

Le latex renferme plusieurs hétérosides cardiotoniques : calotoxine, calotropine, uscharidine.

Du latex, on a séparé un enzyme protéolytique, la calotropaine, qui serait plus active que la papaine (Bruneton J. 1993).

L'extrait aqueux de rameaux feuillés d'origine Jamaïcaine sont mortels pour la souris à une dose correspondant à 0,5g d'organe frais administrée par voie intra péritonéale (IP).

Chez le chien de 8-16kg, l'injection IV de doses inférieures à 0,1g provoque hypotension.

La toxicité aigue recherchée avec des extraits de même origine sur les souris par injection IP de 10ml/kg a montré positive dans les 24 et 72h.

Par ailleurs, avec l'intestin isolé de cobaye, à la dose de 0,007mg/ml de bain, l'extrait aqueux a provoqué des contractions équivalentes à 25 % de celles

produites par l'acétylcholine; sur le duodénum de lapin à la dose de 0,002mg/ml il provoque une augmentation graduelle du tonus suivie d'un spasme irréversible.

Il a été également constaté que ces extraits ont un effet significatif sur le temps de sommeil barbiturique des souris.

Des études menées à Dakar ont montré que le latex est particulièrement toxique pour le rein alors que les écorces des tiges débarrassées de leur suber et les feuilles fraîches séchées étaient atoxiques (Kerharo et Adams, 1974).

L'essai d'alimentation à base de cette plante chez la souris de laboratoire montre que le taux d'avortement est significativement plus élevé dans les lots ayant reçu une ration comprenant 10-20% de *Calotropis* que dans le lot témoin. La plante agit à faible dose puisqu'une ration contenant seulement 10% de *Calotropis* fait avorter près de 90% des souris gestantes. Le taux de mortalité néonatale est significativement plus élevé chez les souris recevant du *Calotropis*. (Faye, 1985)

*Calotropis procera* toutes ces parties sont toxiques :

La calotropine dangereux cardiotoxique était autre fois utilisée pour la confection de flèches empoisonnées.

L'effet coagulateur de *Calotropis procera* est du à l'enzyme calotropaine contenue dans la sève laiteuse de cette plante et qui fait cailler le lait.

En effet la sève de *Calotropis* contient diverses glycosides de haute toxicité et de haute efficacité et sont similaires à la digitale qui à des effets toxiques sur le cœur (Cyriaque H, 2003).

La toxicité générale aigue du macéré aqueux de la poudre a été évaluée par la détermination de la DL<sub>50</sub> par voie intrapéritonéale la DL<sub>50</sub> chez des souris mâles est de 973mg kg de poids corporel classant ainsi la drogue comme étant faiblement toxique.

Les extraits aqueux de rameaux feuilles sont mortels pour la souris à une dose correspondant à 0,5g d'organes frais administrée par voie I.P. (Dolo, 1990)

### **3.2/ *Centaurea perrottetii* Dc. Astéracées**

#### **3.2.1/ Botanique :**

Syn. : *Centaurea calcitrapa* L. (de FTA et de A. Chev)

*Centaurea alexandrina* Del. (De FWTA).

*Centaurea sparmannii* DC.

Vernaculaire : homhom ; xomxom.

Nom bambara : Nyamengoni

#### **Caractères remarquables**

Herbe vivace, prostrée ou érigée; atteignant 50 cm de haut, mais souvent moins, avec sur les feuilles des poils tantôt raides, tantôt scabres.

Feuilles oblancéolées, pennatilobées avec des dents prolongées par des pointes épineuses. Capitules sessiles ou courtement pédonculés de fleurs mauves entourées de bractées longuement épineuses avec deux paires d'épines latérales à la base. C'est une herbe longue de 2 à 4 mm, akènes sans pappus.



Figure N°2 : Photo de la plante entière de *Centaurea perrottetii* Dc. (Astéracées)

Habitat :

Il est surtout commun sur le littoral.

Herbe annuelle soudano sahélienne s'étendant à la Mauritanie et au Sahara (Kerharo et Adams.1974).

### **3.2.2/ Systématique :**

Règne-----	Végétal
Embranchement -----	Spermaphytes
Sous embranchement -----	Angiospermes
Classe -----	Dicotylédones
Sous classe -----	Gamopétales
Ordre -----	Astérales
Famille -----	Astéracées
Genre -----	<i>Centaurea</i>
Espèce -----	<i>perrottetii</i>

### **3.2.3/ Utilisations traditionnelles :**

Cette *Centaurea* jouit d'une bonne réputation médicinale

Elle est recommandée par voie interne, mais toujours en association avec d'autres drogues, pour la blennorragie, la syphilis et les états fébriles.

Par voie externe les feuilles sont utilisées comme des pansements appliqués sur les plaies ulcéreuses ou consécutives à l'extraction des myases, larbiches, vers de guinée; la plante entière pilée, et quelques fois après léger chauffage, est disposée autour du cou pour le traitement des oreillons (Kerharo et Adams, 1974).

La plante entière est indiquée dans le traitement des bilarshozes urinaire et intestinale.

*Centaurea alexandrina* est utilisé contre l'ictère, les mauvais sorts.

Effets secondaires : douleurs abdominales, nausées, souvent vomissement.

Antidote : prendre la poudre de racines de *Cochlospermum tinctorium* + miel. (Fane, 2002)

*Centaurea calcitrapa* a les mêmes propriétés thérapeutiques que Chardon béni. Lalaurie (1955) a montré que la cnicine est douée de propriétés antibiotiques sur tout vis à vis de bactéries à gram négatif : *Brucella*, *Shigella*, *Escherichia coli*. Selon Vanhaelen- Fastré (1968), à côté de la cnicine particulièrement active sur les *Brucella*, des composés polyacétyléniques interviendraient dans des propriétés antimicrobiennes. Elle est utilisée comme antirhumatismal, diurétique, digestif et fébrifuge (réputé notamment contre la fièvre de Malte). (Pari et Moyses, 1971)

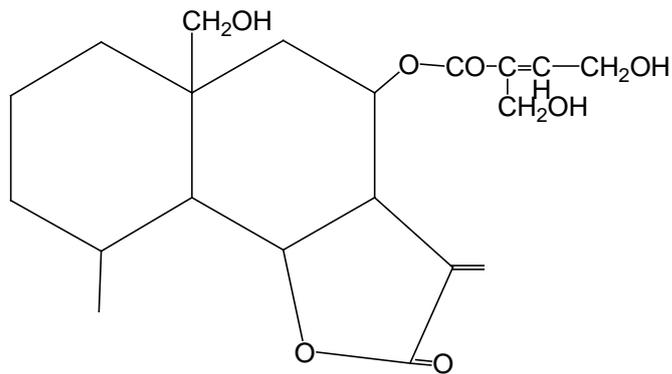
#### **2.2.4 / CHIMIE:**

Etudiée sous le nom de *Centaurea calcitrapa* L, cette espèce d'après Wehmer renferme un principe amer la calcitrapine qui serait l'acide calcitrapique (ou cnicine ou cynicine) et contiendrait en outre la centaurine.

Les fleurs renfermeraient des pectines, une substance colorante bleue, peut être de l'inuline et le cichorium glucoside ou cichoriine (dihydroxy-coumarine glucoside) dont la genine est l'esculétine.

Un enzyme comparable à la présure est présent dans tous les organes sauf les feuilles (Kerharo et Adams 1975).

Cette plante contient : les huiles essentielles, des lactones sesquiterpènes, des dérivées polyphénoliques (surtout acide caféique, acides-phénols et leurs esters), Flavonoïdes, coumarines, anthocyanes, tanins sont rares et peu abondantes, des substances azotées, des alcaloïdes à faible quantité, des mucilages, des composés acétylénique ou polyènes (polyènes) présents en faible quantité (Bruneton, 1993).



CNICINE

La structure de la CNICINE (Sorm et al. 1960)

### **2.2.5/ PHARMACOLOGIE :**

Des extraits de *Centaurea calcitrapa* étudiés par Spencer ont donné des résultats positifs pour la recherche de l'activité antipaludique (Kerharo et Adams, 1974).

Le ou les principes amers semblent bien constituer l'élément actif de la drogue.

La cnicine est utilisée comme un antibiotique et dans l'homéopathie (Paris et Moyse, 1971).

Grâce aux polyiines la plante est douée de propriétés bactériostatiques, fongicides, nematocides et insecticides (Bruneton, 1993).

## TOXICITE :

Beaucoup d'Asteraceae sont des « mauvaises herbes » et nombre encore plus grand sont des espèces ornementales.

Les Asteraceae toxiques, ou dangereuses, sont assez nombreuses. Leur toxicité est liée à des structures variées :

Le métabolisme terpénique est généralement intense chez les Asteraceae qui élaborent une grande variété de structures mono- ; sesqui- ; di- ; et tri terpéniques. Si les tri terpènes semblent rarement impliqués dans les accidents provoqués par les plantes de cette famille, les autres terpènes le sont plus fréquemment.

Des lactones sesquiterpéniques, ces lactones sont à l'origine chez l'Homme de dermatites de contact allergiques. Un pourcentage non négligeable d'individus est sensible à ces lactones (Paulsen et al.1993) : les manifestations cutanées induites sont surtout observées chez des professionnels (des personnes qui travaillent avec cette plante) .

Des huiles essentielles contenant certaines sesquiterpènes sont convulsivants, du fait d'une inhibition du métabolisme oxydatif au niveau cérébral. Dans le cas de *Centaurea solstitialis*, deux pistes sont possibles : la répine, l'une des lactones présente dans la plante et toxique *in vitro* sur des neurones et *in vivo* chez le rat. Ce qui pourrait l'impliquer comme agent causal des lésions cérébrales provoquées par la plante chez les chevaux.

D'un autre côté, des travaux ont montré que des fractions hydrosolubles donnant une réaction positive à la nihydrine sont neurotoxiques sur du tissu cérébral de souris en culture.

Les diterpènes peuvent également être impliqués dans la toxicité de la plante (Bruneton, 1993).

### 3.3/ *Euphorbia sudanica* A chev. (Euphorbiacées)

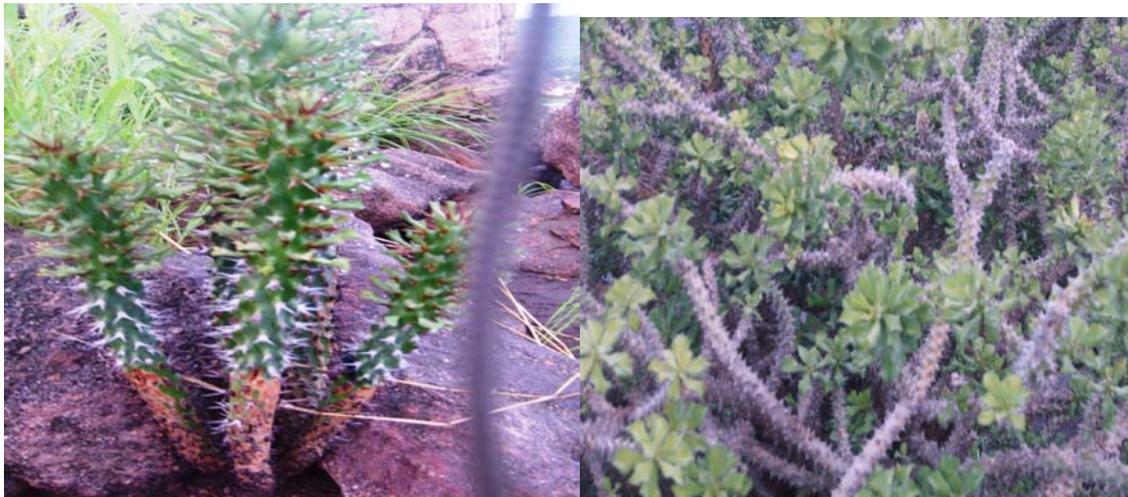


Figure N°3: Photo de la plante jeune d'*Euphorbia sudanica* A chev. (Euphorbiacées)

#### **2.3.1/ Botanique :**

Syn. *Euphorbia trapaeifolia* A chev

*Euphorbia tellieri* A chev. :

Français : *Euphorbia cactiforme* ou *Euphorbia de soudan*. (Berhaut)

Mending- Maninka: bamo-hamo, homo-homo; pamo

Soninké Sarakolé : Fama

Dogon : Tendié

Fula-Pulaar : Guonno

Bambara : Gwana ou Yiri fama

Habitat :

*Euphorbia sudanica* est généralement présent dans des endroits rocheux, des savanes sèches de Sénégal, Niger et sur le long de certaines routes. Il est assez cultivé dans les jardins botaniques.

### **2.3.2/ Systématique :**

Règne -----	Végétal
Embranchement -----	Spermaphytes
Sous-embranchement -----	Angiospermes
Classe -----	Dicotylédones
Sous-classe -----	Gamopétales
Ordre -----	Euphorbiales
Famille -----	Euphorbiacées
Genre -----	<i>Euphorbia</i>
Espèce -----	<i>sudanica</i>

### **2.3.3/ Utilisations traditionnelles**

Assez souvent utilisées dans les systèmes traditionnels de médecine, les Euphorbiacées ne fournissent aucune molécule actuellement utilisée en thérapeutique; certaines espèces présentent toute fois des potentialités intéressantes (Bruneton, 1993).

Généralement *Euphorbia sudanica* est utilisé en agri horticulture

Le latex est toxique ou repoussant. Il est signalé couramment comme poison oculaire accidentel ou criminel.

La plante avec *Sarcocephalus latifolius* (Rubitacées) est utilisée dans le traitement de la lèpre au Sénégal (Burkill, 1991).

Les activités biologiques de la plante incluant l'irritation de la peau, tumorigène et inflammatoire sont attribuées à la présence des classes spécifiques de macro et polycycliques diterpènes (Burkill, 1991).

Certaines espèces d'*Euphorbia* sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des maladies de la peau, gonorrhées, migraine, des parasites intestinaux et comme anti-inflammatoire en Inde (Gustavson et al., 1992).

## **TOXICITE :**

Un grand nombre d'espèces de cette famille sont dangereuses.

Certaines sont urticantes, d'autres très toxiques comme majoritairement des Crotonoidées et surtout des Euphorbioidées. Chez toutes ces espèces, la toxicité est le fait d'esters diterpéniques de structure complexe (tiglianes, daphnanes, ingénanes). Très irritants au niveau de la peau et des muqueuses ce sont, pour la plupart, des inducteurs de tumeurs. Tous sont irritants pour les muqueuses et leur toxicité par voie orale est importante chez les animaux mais aussi chez l'homme.

L'homme a, très tôt, exploité la toxicité des Euphorbiacées :

Il les a incorporé dans des poisons de flèche en Afrique, dans les Caraïbes, aussi bien qu'en Malaisie; il utilisait ainsi la toxicité intrinsèque des latex et leur pouvoir adhésif. Il y eut aussi recours pour des ordalies (Bruneton, 1993; 1999).

De nombreuses espèces ont un latex irritant, caustique, les principes actifs sont rattachés aux diterpènes tétra cycliques (esters du phorbol, de l'ingénol, etc.).

Le latex desséché figurait à la pharmacopée française 1949 sous le nom de « gomme résine d'euphorbe », employée dans la pommade vésicante vétérinaire.

Le latex s'écoule par incisions, opération dangereuse pour les yeux et les muqueuses des manipulateurs, étant donné ses propriétés vésicantes.

L'odeur est légèrement aromatique, la saveur acre et brûlante, la poussière sternutatoire. (Paris et Moyse, 1971)

### 3.4 / *Hyptis suaveolens* Poit. (Lamiacées)



Figure N°4 : Photo des branches feuillées d'*Hyptis suaveolens* Poit. (Lamiacées)

#### **2.4.1/ Botanique :**

Nom vernaculaire : ngugum

Français : gros Baume, Hyptis à odeur

Caractères remarquables :

Plante à fort parfum poivro-menthé de 1,50 m de haut, longuement pubescente, suffrutescente, buissonnante, à nombreuses ramifications annuelles ou parfois vivace en repartant de la base qui est lignifiée.

Feuilles opposées, ovales, dentées, pubescentes, de 6 sur 4 cm, avec des pétioles de 2 cm en moyenne. Cymes courtes terminales ou axillaires, avec des feuilles à la base. Fleurs bleuâtres à calice de 8 mm avec 10 côtés et 5 lobes pointus.

Habitat :

Espèce originaire de l'Amérique tropicale, mais devenue pantropicale.

Très commun surtout dans la région soudanienne où elle envahit parfois les bas-côtés des routes, le pourtour des villages et les cultures pendant les premières années des jachères (Kerharo, Adams. 1974).

#### **2.4.2/ Systématique :**

Règne -----	Végétal
Embranchement -----	Spermaphytes
Sous embranchement -----	Angiospermes
Classe -----	Dicotylédones
Sous classe -----	Gamopétales
Ordre -----	Lamiales
Famille -----	Lamiacées
Genre -----	<i>Hyptis</i>
Espèce -----	<i>suaveolens</i>

#### **2.4.3/ Utilisations traditionnelles :**

*Hyptis suaveolens* a les mêmes utilisations que *Hyptis spicigera*.

La plante entière est utilisée en médecine pour traiter la dysentérie et les mamittes. Les feuilles fraîches seraient efficaces contre les piqûres des serpents vénimeux (Henty et Pritchard. 1973).

En Java, elles constituent la nourriture du bétail. En Inde la plante est utilisée comme engrais vert. En Afrique de l'Ouest, les feuilles de la plante sont acceptées comme substituant en infusion du thé. Elle est réputée pour son efficacité contre les atteintes douloureuses bénignes. En infusion elle est utilisée contre la fièvre. Au Congo (Brazzaville), la plante est mise dans le bain pour laver les enfants contre la fièvre. En Côte d'Ivoire et au Sénégal, la tisane est donnée pour lutter contre la toux, les troubles bronchiques. Les Ashanti et Agni en Côte d'Ivoire utilisent la sève des feuilles dans la nourriture des enfants pour lutter contre les douleurs gastro-intestinales. La sève des feuilles ajoutée à du jus de citron est prise en Sierra Léone contre les maux de ventre. Les feuilles sont utilisées pour chasser les vers de terre. En Amérique, le cataplasme des feuilles

est appliqué contre le cancer et les tumeurs. Au Sénégal, une infusion des plantes matures en fruit est prise par les Nyominka pour leur produire un sentiment de bien-être tout comme en Côte d'Ivoire. En Inde, les feuilles sèches sont renflées pour stopper le saignement du nez. Dans les villages obstétriques au Ghana, la plante joue un rôle très important dans le traitement de l'anémie durant la grossesse et les sages-femmes la prescrivent pour induire ou provoquer et faciliter le travail de la femme enceinte pendant l'accouchement. En Inde, elle est utilisée pour le traitement des affections de l'utérus. En Indonésie et en Inde, elle est réputée comme ayant des propriétés galactogènes.

La très mauvaise odeur de la plante a permis son utilisation comme insectifuge. Les feuilles sont utilisées en Sierra Léone pour repousser les insectes (moustiques) loin des maisons. Au Sénégal, les inflorescences de la plante sont mises dans les matelas pour les garder ou les épargner des insectes venimeux piqueurs nuisibles tout comme aux Philippines où les inflorescences sont mises sous le lit ou sous les chaises. Les fruits avec leurs calices épineux sont utilisés comme répulsifs pour les moustiques au Tanganyika.

En Côte d'Ivoire, les Tagwana utilisent cette plante dans la nourriture des chiens pour les préparer à la lutte. En Tanga, au Tanganyika, l'eau bouillit des racines est utilisée contre les maux de ventre. La décoction des racines est utilisée comme apéritive en Inde. La mauvaise odeur de la plante a servi à la protection des peuples en Côte d'Ivoire contre les mauvais esprits. Au Sénégal, elle est frottée au corps des cadavres pour les embaumer. Au Congo (Brazzaville), elle est utilisée contre les maladies provoquées par les personnes sales spécialement les maladies causées par les récentes dérives sexuelles. (Burkill, 1995)

#### **2.4.4 / CHIMIE :**

La plante contient des huiles essentielles qui renferment du menthol, limonène et sesquiterpène.

Les recherches de l'amidon, des alcaloïdes et des tanins ont été négatives.

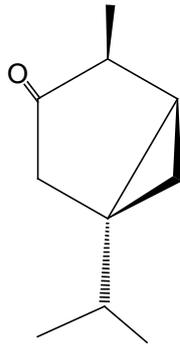
(Kerharo et Adams 1974)

Les feuilles de la plante sont riches en huiles essentielles isolées par hydrodistillation. Ces huiles essentielles analysées par chromatographie en phase gazeuse et par spectrométrie de masse ont permis d'identifier 36 constituants au Campus of Lagos State University (LASU) tandis que 33 constituants ont été identifiés à Obafémi Awolowo University (OAU). Les principaux constituants sont  $\alpha$ -Pinène (13,6%), Sabinène (13,2%), p-Cymène (11,7%), Terpinène-4-ol (9,8%), Terpinolène (6,3%) sont les monoterpènes majeurs isolés de l'échantillon de LASU tandis que Sabinène (30,0%), Terpinène-4-ol (11,4%), Terpinolène (5,4%), 1,8-Cinéole (5,2%),  $\beta$ -pinène (4,4%) et  $\alpha$ -Terpinène (4,2%) sont les constituants majeurs de l'échantillon de l'OAU.

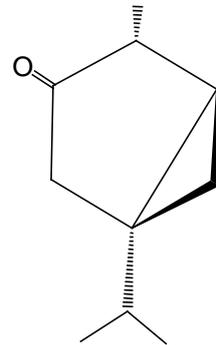
$\beta$ -caryophyllène (5,1-5,9%) et trans- $\alpha$ -bergamotène (1,6-5,2%) représentent les sesquiterpènes majeurs des deux échantillons.

La plante contient une huile éthérique de couleur vert jaune avec une relative présence de menthol. La concentration d'huile est de 0,06% au Sénégal et en Inde. Autres proportions sont de 0,0135% et 0,025% dans les feuilles. L'acide hydrocyanique est contenu dans les racines, les écorces et les feuilles. Le matériel Nigérian a montré des traces d'alcaloïdes.

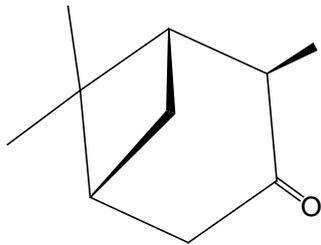
La présence d'un alcaloïde est indiquée dans la graine, d'une huile fixe ou matière grasse à 19-30% et protéines à 22%. Les huiles sont constituées d'acide linoléique (77%), acide oléique (6%) et acide saturé (12%). (Burkill, 1995)



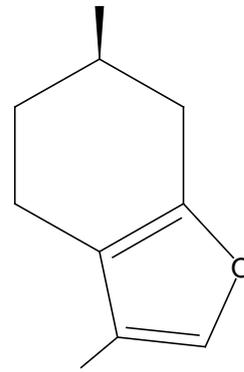
(+) -3 - THUYONE



(-) -3 - ISOTHUYONE



PINOCAMPHONE (= 3 - PINANONE)



5-<sup>o</sup> - MENTHOFURANE

Structure de quelques composés isolés des huiles essentielles *d'Hyptis suaveolens*

#### **2.4.5/ PHARMACOLOGIE :**

La plante possède les activités pharmacologiques tumorigène, infertile, mycotoxique et phototoxique et récemment insecticide.

Elle est stimulante, carminative, sudorifique, lactogène, anticatarrhale et antiparasitaire cutanée (Burkill, 1995)

La fumée dégagée par la combustion de la plante entière constitue un excellent insectifuge, aussi emploie-t-on des extraits de *Hyptis suaveolens* dans la préparation des « mosquitos » (bâtons fumigènes contre les moustiques) (Kerharo et Adams, 1974).

#### **TOXICITE :**

Feng (1974) a trouvé que l'extrait aqueux avait une certaine toxicité pour la souris à la dose de 1mg par injection I P et provoquait un effet de spasme sur l'intestin isolé de cobaye à la même dose.

L'extrait alcoolique ne se montre pas toxique pour la souris dans des conditions expérimentales analogues, mais réagit semblablement sur l'intestin isolé de cobaye et, de plus, augmente le débit sanguin de la patte postérieure du rat, ce que ne fait pas l'extrait aqueux.

Les deux extraits n'ont pas d'action marquée sur l'utérus, la rate, sur le cœur et le duodénum de lapin, ni sur la pression sanguine du chien. (Kerharo et Adams, 1974)

Les huiles essentielles peuvent se révéler dangereuses lorsqu'elles sont ingérées à forte dose. Les intoxications décrites sont généralement consécutives à une absorption excessive des huiles essentielles (ex : 5ml).

La symptomatologie de ce type d'intoxication est marquée par des épisodes de convulsions de type épileptiques et hyporéflexiques; elle peut aussi comporter une perte de conscience. L'un des cas les plus récemment publiés révèle que 12 gouttes peuvent suffire pour induire une sensation de malaise rapidement suivie d'un épisode de convulsions tonico-cloniques généralisées. La lipophilie de ces

huiles essentielles explique que leur toxicité puisse être manifestée aussi bien par voie rectale ou transcutanée (ex : avec des préparations pour bains).

Le menthol lui même n'est pas sans danger: la dose létale pour l'homme est estimée à 2 g par une simple administration de solutés pour instillation nasale ou d'autres produits à base de menthol à de jeunes enfants peut déclencher un spasme fatal de la glotte (Bruneton, 1993).

# TRAVAUX PERSONNELS

## **TRAVAUX PERSONNELS**

### **1- Lieu d'étude**

Tous les travaux (études phytochimique et pharmacologique) ont été réalisés au Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) de février 2008 à septembre 2008.

### **2- Etudes expérimentales**

La partie expérimentale comprend les informations sur le matériel végétal, le contrôle de qualité des drogues par les dosages de teneur en eau et en cendres; les études phytochimiques par la mise en évidence des groupes chimiques caractéristiques présents des drogues et les tests biologiques (toxicités et activité antioxydante).

#### **2.1- Matériels de l'étude**

##### **2.1.1- Matériel végétal :**

Il a été constitué par les parties aériennes de *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens* et des rameaux de *Calotropis procera*.

Ces plantes ont été récoltées dans l'enceinte du DMT pour *Calotropis procera* et *Hyptis suaveolens*, à Sangarébourgou pour *Euphorbia sudanica* et à Badiangara pour *Centaurea perrottetii*.

Le séchage des drogues a été réalisé au DMT sur une claie à la température du laboratoire. Elles ont été pulvérisées avec un broyeur Resch type SM2000 OSI /1430 upm pour l'obtention d'une poudre fine.

### **2.1.2- Matériel animal**

Les animaux utilisés sont des souris mâles et femelles de souches OF1 (Oncins France Souche 1) couramment utilisées au laboratoire, de masses comprises entre 22-36g. Ces animaux ont été fournis par le Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie (CNAM). Ils ont été élevés à une température ambiante de 23-25°C avec 58% d'humidité au laboratoire de DMT à Darsalam. Ils ont été nourris aux granulés à base de céréales (voir annexes) et à l'eau du robinet. Ils subissent un rythme d'éclairage 12h de lumière (jour) et 12h d'obscurité (nuit). Les animaux ont été choisis au hasard, marqués pour permettre une identification individuelle.



Figure N°5 : Les souris blanches du laboratoire.

### **2.1.3- Matériel d'étude phytochimique**

- Balance de précision type Sartorius
- Eprouvettes graduées
- Rotavapor type Buchi-200/205
- Bain- marie Waterbath Bm 480
- Pompe à vide de marque Edward
- Lyophilisateur Drywinner type Heto
- Congélateur marque Zanker
- Ballons
- Entonnoir en verre
- Coton
- Plaque en aluminium avec support du silicagel 60 FG<sub>254</sub> Merck ;
- Cuves avec couvercles ;
- Crayon de papier et règle graduée ;
- Eprouvette graduée de 20ml ;
- Micropipettes de 10µl ;
- Pulvérisateur ;
- Règle graduée ;
- Séchoir type Solis ;
- Lampe UV type Desaga.
- Bêchers, spatule,
- Ballon de concentration, creusets, agitateur magnétique, baguettes magnétiques,
- Agitateurs simples, cuillère à café, thermomètre, alcoomètre.
- Tubes à essai, éprouvette
- Papier filtre
- Pipettes, erlenmeyer, poire
- Ampoule à décanter
- Des flacons

- Révélateurs comme Godin, FeCl<sub>3</sub>, AlCl<sub>3</sub> et DPPH
- Solvants comme butanol, acetate d'éthyl, chloroforme, eau methanol

#### **2.1.4- Matériel d'étude pour la pharmacologie experimentale**

- Une balance électronique de marque sartorius (de sensibilité 0,1 mg)
- Des seringues à insuline
- De l'eau distillée
- D'un thermomètre
- Des pinces
- Ciseaux
- Lames de bistouris
- Tubes à essai
- Des éprouvettes graduées
- Une calculatrice
- Un plateau en verre
- Des solvants de conservations

## **2.2- METHODES D'ETUDE**

### **2.2.1- Contrôle de qualité des drogues**

Nous avons procédé par les dosages de la teneur en eau et en cendres totales, cendres insolubles dans les acides chlorhydriques et cendres sulfuriques.

C'est pour savoir si les drogues peuvent être bien conservées (teneur en eau à l'état sec) et sa pureté (teneur en cendres) constituent des facteurs importants dans la détermination de sa composition chimique et de son intérêt pharmaceutique.

#### **-- Dosage de la teneur en eau de la poudre d'extraction**

##### **► Méthode gravimétrique**

**Principe :** il consiste à déterminer la perte en masse d'une quantité connue de poudre par dessiccation à l'étuve à la température de  $103^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$  pendant 24 heures.

**Mode opératoire :** nous avons introduit 5 prises d'essai (3 g) respectivement dans 5 verres de montre préalablement tarés ( $T_1$  à  $T_5$ ). Les masses des prises d'essai plus les tares ont été notées  $P_1$  à  $P_5$ . Après 24 heures de séjour à l'étuve à la température de  $103^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$ , nous les avons pesés de nouveau et noté  $P'_1$  à  $P'_5$ . Les prises d'essai ont été placées à l'étuve jusqu'à masse constante.

La masse d'eau contenue dans la poudre de chaque verre de montre notée M est donnée par la formule :

$$M = P - P'$$

La masse de la prise d'essai est :

$$M_{PE} = P - T$$

Le pourcentage d'eau contenue dans la poudre est :

$$\% \text{ eau} = \frac{M \text{ (masse)}}{\text{MPE}} \times 100$$

M PE : Masse de la prise d'essai.

Nous avons d'abord déterminé la moyenne des pourcentages d'eau des 5 verres de montre dans les mêmes conditions.

### ► Méthode de l'entraînement azéotropique

#### **Principe :**

Il consiste à entraîner l'eau contenue dans une prise d'essai de la poudre par distillation avec un solvant non miscible.

#### **Mode opératoire :**

Dans un ballon de 500 ml, nous avons introduit 100 ml de toluène et 1 ml d'eau distillée et porté l'ensemble à ébullition pendant une heure sous réfrigérant. Après 30 mn de repos, nous avons lu le niveau d'eau ( $V_i$ ). Ensuite, nous avons introduit 5 g de poudre dans le contenu du ballon et engagé une ébullition d'une heure. Après 30 mn de refroidissement, nous avons lu le niveau d'eau ( $V_f$ ). Le volume d'eau contenue dans la prise d'essai est calculé selon la formule :

$$V = V_f - V_i$$

Le pourcentage d'eau est calculé selon la formule :

$$\% \text{ d'eau dans la drogue} = 100 \times \frac{(V_f - V_i)}{\text{PE}}$$

**PE** : masse de la prise d'essai.

## **-- Dosage des cendres**

### **► Cendres totales**

**Principe :** il repose sur la détermination des substances résiduelles non volatiles contenus dans une drogue lorsque cette dernière est calcinée.

**Mode opératoire :** nous avons pesé une prise d'essai de la poudre (M) dans un creuset en fer préalablement taré (T). Après incinération au four à une température d'environ 600°C pendant 6 heures puis refroidissement dans un dessiccateur, la masse du creuset contenant la prise d'essai a été déterminée et notée M'.

La masse des cendres totales (mCt) contenue dans le creuset est donnée par la formule :

$$mCt = M - M'$$

La masse de la prise d'essai (PE) est donnée par la formule :

$$MPE = M - T$$

Le pourcentage des cendres totales (% Ct) est donné par la formule :

$$\% Ct = 100 \times \frac{mCt}{MPE}$$

Nous avons réalisé 3 essais de la même manière afin de déterminer la moyenne

### **► Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 %**

La détermination de ces cendres se fait sur les cendres totales.

Nous avons introduit les cendres totales des cinq essais dans un erlenmeyer et ajouté 20 ml de HCl à 10 %. L'ensemble est porté à ébullition pendant 15 mn au bain-marie bouillant. Après refroidissement, nous avons recueilli et lavé la matière non soluble sur un papier filtre sans cendre, et le filtre a été transféré dans un creuset sec préalablement taré (T). Le creuset contenant le papier filtre a

ensuite été séché à l'étuve pendant 24 heures (M) et calciné pendant 6 heures au four à la température de 600°C. Après refroidissement dans un dessiccateur, nous avons pesé le creuset contenant le papier filtre calciné (M').

La masse des cendres chlorhydriques (mCc) est donnée par la formule :

$$mCc = M' - T$$

Le pourcentage des cendres chlorhydriques (% Cc) est donné par la formule :

$$\% Cc = 100 \times \frac{mCc \text{ (masse cendre chlorhydrique)}}{\sum PE}$$

$\sum PE$  étant la somme des masses de poudre utilisées pour la détermination des cendres totales.

### **► Cendres sulfuriques**

Ces cendres sont les substances résiduelles non volatilisées recueillies lorsque l'échantillon de drogue est calciné avec de l'acide sulfurique. Ces cendres déterminent la quantité de substances inorganiques contenues dans la drogue.

Dans un creuset en quartz sec préalablement taré (T), nous avons introduit une prise d'essai de la poudre et pesé l'ensemble (M). La poudre a ensuite été humectée avec H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 50% et laissée à l'étuve pendant 24 heures à la température de 100°C, le creuset a été porté à la calcination dans un four à la température de 600°C pendant 6 heures et pesé ensuite après refroidissement (M'). La masse des cendres sulfuriques (m Cs) est donnée par la formule :

$$m Cs = M' - T$$

La masse de la prise d'essai :  $M PE = M - T$

Le pourcentage des cendres sulfuriques (% Cs) est donné par :

$$\% Cs = 100 \times \frac{mCs}{MPE}$$

## **2.2.2- Etudes phytochimiques**

### **2.2.2.1-Préparation des différents extraits**

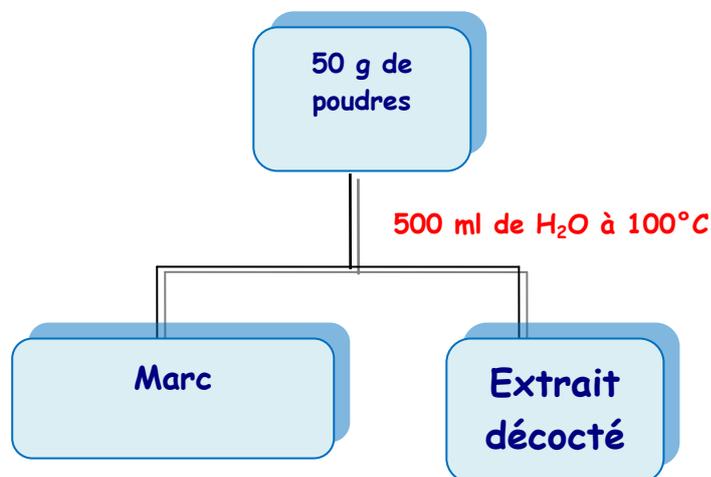
#### **Décocté aqueux à 100°C**

50g de poudre de la drogue ont été pesés et introduits dans un ballon.

500 ml d'eau distillée ont été ajoutés puis l'ensemble a été porté à l'ébullition pendant 10 mn sur un chauffe ballon. Au bout des 10 mn après refroidissement, la solution a été filtrée sur compresse et coton.

Le filtrat obtenu a été concentré sous vide à l'aide d'un rotavapor du type Buchi-200/205 à la température de 55°C, puis lyophilisé.

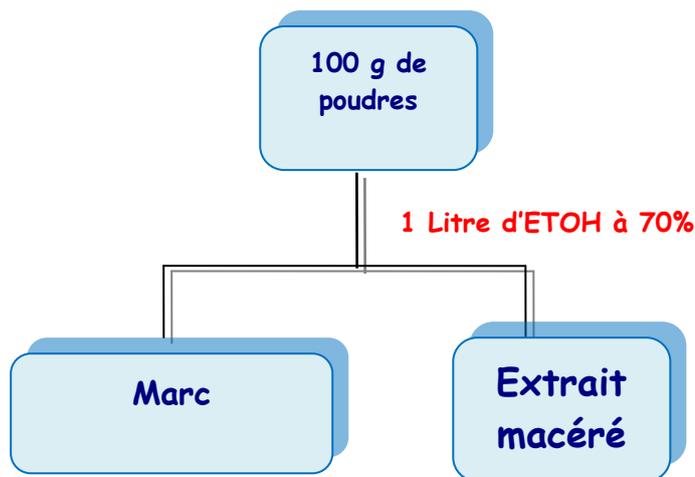
Les poudres obtenues après lyophilisation ont été pesées et gardées pour les tests pharmacologiques.



**Figure N°6 :** Schéma d'extraction des différents organes de plantes par décoction dans l'eau

### Extraction par macération à l'éthanol 70%

100 g de poudre introduits dans un erlenmeyer ont été macérés dans 1000 ml d'éthanol à 70% sous agitation magnétique pendant 24 heures. Cette opération a été répétée trois fois successivement. Après filtration sur compresse et coton, les filtrats ont été concentrés à sec au retavapor sous vide à la température de 55°C puis lyophilisés. Les poudres obtenues après lyophilisation ont été pesées et conservées pour des tests pharmacologiques.



**Figure N°7:** Schéma d'extraction des différents organes de plantes par macération

### **2.2.2.2- Réactions de caractérisations**

Les réactions de caractérisation ont porté sur la recherche dans les poudres des plantes des principaux groupes chimiques. Ces réactions permettent d'avoir des informations sur la composition chimique des plantes.

Les groupes chimiques présents dans nos échantillons ont été caractérisés par des réactions en tubes.

#### **2.2.2.2.1 Réactions de caractérisation des alcaloïdes**

Préparation de la solution à analyser:

A la poudre végétale séchée (10 g), ajouter l'acide sulfurique à 10% (50 ml), dans un erlenmeyer de 250 ml. Laisser en macération pendant 24 heures à la température du laboratoire. Filtrer puis, compléter le filtrat ainsi obtenu à 50 ml, avec de l'eau distillée.

Caractérisation:

Dans deux tubes à essai, introduire le filtrat (1 ml) et ajouter le réactif de Mayer qui est une solution aqueuse de mercuri-iodure de potassium (5 gouttes) dans le premier tube et dans le second tube le réactif de Dragendorff qui est une solution aqueuse d'iode de bismuth et iodure de potassium (5 gouttes).

L'apparition d'un précipité indique la présence des alcaloïdes.

#### **2.2.2.2.2 Réactions de caractérisation des substances polyphénoliques**

Préparation de la solution à analyser (infusé à 5%)

Ajouter de l'eau distillée bouillante (100 ml) à la poudre végétale séchée (5 g) dans un erlenmeyer de 250 ml. Après une infusion de 15 mn, filtrer, le filtrat est complété à 100 ml avec de l'eau distillée.

## Caractérisation:

### \* **Tanins**

Dans un tube à essai, introduire l'infusé à 5% (5 ml) et ajouter la solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 1% (1 ml). La présence des tanins se matérialise par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

#### λ Tanins catéchiques

Ajouter à l'infusé 5% (5 ml), de l'acide chlorhydrique concentré (5 ml). Ce mélange est porté à ébullition pendant 15 mn. L'apparition d'un précipité rouge soluble dans l'alcool iso amylique, indique la présence de tanins catéchiques.

#### λ Tanins galliques: réaction de Stiasny

A l'infusé à 5% (30 ml), ajouter le réactif de Stiasny qui est composé de 10 ml de formol à 40% et 5 ml d'HCl concentré (15 ml et chauffer au bain-marie à 90°C pendant 15 mn environ. Puis, le mélange est saturé par 5 g d'acétate de sodium pulvérisé. Ensuite, ajouter goutte à goutte 1 ml d'une solution de FeCl<sub>3</sub> à 1%. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins galliques.

Filtrer et saturer 10 ml du filtrat obtenu d'acétate de sodium. Ajouter quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 1%. L'apparition d'une teinte bleu-noirâtre indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

### \* **Flavonoïdes**

A l'infusé à 5 % présentant une coloration plus ou moins foncée, ajouter de l'acide chlorhydrique à 10% (5 ml), puis, une base (NH<sub>4</sub>OH) (5 ml). Si la coloration s'accroît par acidification, puis vire au bleu violacé en milieu basique, nous sommes en présence des anthocyanes.

#### Réaction à la cyanidine:

Introduire dans un tube à essai l'infusé à 5% (5 ml), et ajouter de l'alcool chlorhydrique (éthanol à 95°, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volume) (5 ml), puis de l'alcool isoamylique (1 ml) et quelques copeaux de magnésium.

L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones) ou rose violacée (flavonones) ou rouge (flavonols, flavononols) dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génines). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques.

\* **Leucoanthocyanes:**

Effectuer la même réaction que précédemment sans ajouter les copeaux de magnésium et chauffer au bain-marie pendant 15 mn. La présence d'une coloration rouge cerise ou violacée indique une réaction positive. En présence des catéchols nous avons une teinte brun rouge.

**2.2.2.3 Réactions de caractérisation des dérivés anthracéniques**

\* **Anthraquinones libres**

A la poudre végétale séchée (1 g), est ajouté du chloroforme (10 ml) et le mélange est chauffé pendant 3 mn. A 1 ml de l'extrait chloroformique ainsi réalisé, ajouter 1 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  et agiter. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

\* **Anthraquinones combinées**

**λ Les O-Hétérosides:**

Au résidu de la drogue épuisée par le chloroforme, sont ajoutés de l'eau (10 ml), de l'acide chlorhydrique concentré (1 ml), puis le tube à essai est maintenu au bain-marie bouillant pendant 15 mn.

Ajouter à l'hydrolysate obtenu (5 ml) du chloroforme (5 ml) et agiter. A la phase organique, ajouter de  $\text{NH}_4\text{OH}$  dilué (1 ml), la présence d'anthraquinones est indiquée par la coloration rouge plus ou moins foncée.

La réaction peut être plus poussée par addition à l'hydrolysate (5 ml) de  $\text{FeCl}_3$  à 10% (3 à 4 gouttes), puis agiter avec du chloroforme (5 ml).

A la phase chloroformique, ajouter de  $\text{NH}_4\text{OH}$  dilué (1 ml) et agiter. En présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment.

### **λ Les C-Hétérosides:**

Au résidu de la drogue épuisée par la chloroforme ajouter de l'eau (10 ml), puis, ajouter encore de  $\text{FeCl}_3$  à 10% (1 ml). Après ébullition au bain-marie pendant 30 mn, agiter avec du chloroforme (5 ml). A cette phase est ajouté  $\text{NH}_4\text{OH}$  dilué (1 ml). Une coloration rouge plus ou intense indique la présence de génines Hétérosides.

#### **2.2.2.2.4 Réactions de caractérisations des stérols et triterpènes**

La solution utilisée est obtenue à partir de la poudre végétale séchée (1 g) et de l'éther (20 ml), laisser en macération de 24 heures, puis, filtrer et le filtrat est complété à 20 ml avec de l'éther. Après avoir évaporé à sec de l'extrait (10 ml), dissoudre le résidu dans l'anhydrie acétique (1ml), puis, dans du chloroforme (1 ml). La solution obtenue est partagée entre deux tubes à essai l'un servant de témoin.

Mettre dans le fond du second tube à essai, à l'aide d'une pipette du  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré (1 à 2 ml). A la zone de contact des deux liquides, il y a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et de triterpènes.

#### **2.2.2.2.5 Réactions des caractérisations des caroténoïdes**

Après évaporation à sec de 5 ml d'extrait, ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution saturée de trichlorure d'antimoine dans le chloroforme. Il se développe en présence de caroténoïdes une coloration bleue devenant rouge par la suite.

#### **2.2.2.2.6 Réactions de caractérisation des hétérosides cardiotoniques**

##### Préparation de la solution à analyser

Introduire la poudre végétale séchée (1 g) dans un tube à essai, ajouter l'éthanol à 60° (10 ml) et une solution d'acétate neutre de plomb à 10% (5 ml). L'ensemble est porté à l'ébullition pendant 10 mn. Le filtrat est ensuite récupéré.

##### Caractérisation

Agiter le filtrat avec  $\text{CHCl}_3$  (10 ml) dans un tube à essai, en évitant la formation d'une émulsion. Après décantation dans une ampoule à décanter, la phase chloroformique est soutirée à l'aide d'une pipette, puis, partagée entre trois tubes à essai et évaporée au bain-marie jusqu'à sec. Les résidus sont repris avec de l'isopropanol (0.4ml). Dans les trois tubes, ajouter respectivement le réactif de Baljet (1 ml), le réactif de Kedde (1 ml) et le réactif de Raymond-Marthoud (1 ml). Ensuite, introduire dans chaque tube, de la potasse fraîche à 2% dans l'éthanol à 80° (2 gouttes). Après une dizaine de minutes de contact, la présence de cardenolides, est révélée par les colorations suivantes:

Tube 1: orangé

Tube 2: rouge violacé

Tube 3: violet fugace

#### **2.2.2.2.7 Réactions de caractérisation des saponosides**

##### Préparation de la solution à analyser (Décocté à 1%)

Porter à l'ébullition de l'eau distillée (100 ml) dans un erlenmeyer de 250 ml et y introduire la poudre végétale séchée (1g), puis, maintenir en ébullition modérée pendant 15 mn. Filtrer et le filtrat est ajusté à 100 ml.

##### Caractérisation

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, répartir successivement 1,2,...10 ml du décocté à 1% préparé. Ajuster le volume dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Ensuite, chaque tube est agité dans le sens de la longueur pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde. Après avoir

laissé au repos pendant 30 mn, la hauteur de la mousse est mesurée dans chaque tube.

Le tube dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm indique l'indice de mousse.

L'indice de mousse (**I.M.**) a été calculé à partir du tube dans lequel la hauteur de la mousse a été de 1 cm (N).

$$\text{Indice de mousse} = \frac{1000}{N}$$

#### **2.2.2.2.8 Réactions de caractérisation des composés réducteurs**

Introduire le décocté aqueux à 10%, (5 ml) dans un bêcher de 100 ml et évaporer au bain-marie jusqu'à sec. Au résidu obtenu, ajouter le réactif de Fehling (0,5 ml réactif A et 0,5 ml réactif B, mélange extemporané) (1 ml). Le précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs.

#### **2.2.2.2.9 Réactions de caractérisation des oses et holosides**

Introduire le décocté à 10% (5 ml), dans un tube à essai. Au résidu obtenu après une évaporation à sec au bain-marie, ajouter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré (2 à 3 gouttes) et 5 mn après, de l'alcool saturé avec du thymol (3 à 4 gouttes). L'apparition d'une coloration rouge relève la présence d'oses et holosides.

#### **2.2.2.2.10 Réactions de caractérisation des mucilages**

Introduire le décocté à 10% (1 ml), dans un tube à essai et ajouter de l'alcool absolu (5 ml). Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux par mélange indique la présence de mucilages.

#### **2.2.2.2.11 Réactions de caractérisation des coumarines**

L'extrait éthérique (5 ml) obtenu après une macération de 24 heures est évaporé au bain-marie à sec, puis repris avec de l'eau distillée chaude (2 ml). La solution est partagée entre deux tubes à essai. Ajouter dans l'un des tubes, de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 25% (0,5 ml), la présence d'une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines sous un rayonnement ultra violet à 366 nm.

#### **2.2.2.2.12 Réactions de caractérisation des hétérosides cyanogénétiques**

Dans un tube, introduire 1 g de poudre et ajouter 5 ml de toluène et 5 ml d'eau. Après agitation, nettoyer la partie supérieure du tube à essai. Le papier picrosodé fraîchement préparé a été fixé à l'aide d'un bouchon à la partie supérieure du tube. La présence d'hétérosides cyanogénétiques est révélée par la coloration rouge plus ou moins rapide du papier picrosodé.

#### **2.2.2.2.13 Substances extractibles par l'eau**

Faire une décoction pendant 15 mn avec la poudre végétale séchée (1 g) dans de l'eau distillée (20 ml). Filtrer et mettre le filtrat dans une capsule préalablement tarée et évaporer à sec. La capsule est ensuite pesée à froid et la masse du résidu déduit.

### **2.2.2.3- Chromatographie sur couche mince (CCM)**

#### **Principe**

La CCM est une méthode de séparation des substances fixées sur un support en silicagel, par entraînement grâce à un système de solvant approprié.

Le mécanisme de la séparation chromatographique s'explique par les différences de répartition des molécules des composés d'un mélange entre deux phases non-miscibles: l'une mobile et l'autre stationnaire. La phase stationnaire utilisée a été constituée par la silice 60F<sub>254</sub> d'épaisseur 0,25mm en couche fine sur une plaque d'aluminium; la phase mobile composée par des systèmes de solvants appropriés.

#### **Le dépôt:**

10 mg des extraits aqueux sont dissous dans 1 ml du mélange eau : méthanol (1 :1), 10 µl de l'extrait ont été déposés sur la plaque puis séchés à l'aide d'un séchoir pour la migration.

Le solvant :

Le système de solvant utilisé comme éluant a été : Butanol : Acide acétique : Eau (60 :15 :25).

#### **La migration :**

La plaque ainsi préparée est introduite dans la cuve préalablement saturée par l'éluant.

La plaque est retirée de la cuve lorsque l'éluant arrive à 1 cm du bord supérieur. La capillarité de la phase mobile permet une séparation des différents constituants en fonction de leurs facteurs de rétention (Rf).

### **La révélation:**

Les plaques ont été retirées de la cuve puis séchées avant la lecture sous la lampe UV. Les substances visibles à 254 nm ont été encerclées en trait plein, celles à 366 nm en pointillé et des crochets pour les taches colorées après révélation.

La révélation a été faite par les réactifs spécifiques ensuite, nous avons chauffé et les substances ont été apparues sous diverses colorations. Pour les plaques pulvérisées avec le réactif des tanins ( $\text{FeCl}_3$ ) n'ont pas été chauffées.

Les réactifs de Godin,  $\text{AlCl}_3$  et  $\text{FeCl}_3$  ont aussi été utilisés pour, respectivement mettre en évidence la présence de tous les constituants, des flavonoïdes et des tanins.

Le facteur de rétention ou retarding factor est donné par la formule ci après :

$$\mathbf{Rf} = \frac{\text{Distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le front du solvant}}$$

## **2.2.3- ETUDES PHARMACOLOGIQUES**

### **2.2.3.1- Etude de la toxicité aigue des extraits suivant les lignes directrices de l'OCDE 423**

Les extraits végétaux utilisés ont été l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* et les extraits hydroéthanoliques de *Calotropis procera*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens*.

#### **Méthode d'étude**

Toxicité orale aigue- Méthode par classe de toxicité :

La méthode par classe de toxicité aigue décrite dans la présente Ligne directrice (de l'OCDE/OECD 423) est un processus séquentiel utilisant trois animaux d'un seul sexe par étape. Suivant la mortalité des animaux et/ou des animaux présentant des signes de mortalité, deux à quatre étapes sont en moyenne nécessaires pour évaluer la toxicité aigue de la substance d'essai.

Cette méthode permet de classer des substances par ordre de toxicité de façon similaire.

#### **Principe de l'essai :**

C'est qu'avec un processus séquentiel, utilisant un nombre minimum d'animaux par étape, des informations sur la toxicité aigue de la substance sont obtenues qui sont suffisantes pour les besoins de classification. Une dose déterminée de la substance est administrée par voie orale à un groupe d'animaux. La substance est testée dans un processus séquentiel dans lequel trois animaux d'un même sexe (normalement les femelles) sont utilisés à chaque étape. L'absence ou la manifestation de mortalité liée à la substance dans un groupe ayant reçu une dose à une étape donnée détermine l'étape suivante, c'est-à-dire:

- l'arrêt de l'essai
- administration de la même dose à trois animaux supplémentaires
- administration de la dose immédiatement supérieure ou inférieure à trois animaux supplémentaires.

Le schéma de la méthode (voir annexes)

## MODE OPERATOIRE

Les souris mâles ont été utilisées de souche OF1 (Oncins France Souche 1) de masses comprises  $26 \pm 2$  g. Les souris ont été groupées en trois par cage et marquées pour permettre leur identification individuelle.

Elles ont été mises en jeun pendant 4h de temps avant administration des extraits. Les extraits ont été dissous dans l'eau distillée.

Après 4 heures de jeun 300 mg/kg d'extraits ont été administrés aux souris par gavage en raison de 2ml/100g de souris. Elles ont été à nouveau privées de nourriture pendant 2 heures après administration mais pas l'eau.

Les souris témoins ont reçu de l'eau distillée.

Les souris ont été observées pendant 14 jours.

A 300 mg/kg, il n'y a pas eu de mortalité. La même dose a été administrée encore pour confirmer la toxicité de la dose. Aucune mortalité n'a été observée, la procédure a été répétée comme précédemment pour la dose supérieure 2000 mg/kg selon la Ligne directrice (de l'OCDE/OECD 423).

## OBSERVATIONS

Les souris ont été observées individuellement pendant les quatre (4) premières heures après administration des extraits des plantes et quotidiennement pendant 2 semaines.

Toutes les observations ont été enregistrées de façon individuelle pour chaque souris. Les observations ont porté sur : les modifications de la peau, des poils, des yeux et des muqueuses, ainsi que de l'appareil respiratoire, du système nerveux autonome et central, de l'activité somato-motrice et du comportement.

L'attention a été portée particulièrement sur l'observation des diverses manifestations de tremblement, convulsion, diarrhée, léthargie, sommeil et coma. Les variations de poids ont été calculées et enregistrées.

A la fin de l'essai, les souris ont été pesées puis soumises à une autopsie macroscopique.

### **2.2.3.2-Etude de la toxicité sub-aigue de l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii***

Les souris des deux sexes ont été choisies réparties par trois (3) lots de 8 souris (4 males et 4 femelles). Elles ont été pesées chaque jour pendant une semaine avant l'expérimentation et au cours de l'expérimentation.

Les souris ont été mises en jeun chaque jour pendant 17h avant l'administration des extraits. Les extraits ont été dissous dans l'eau distillée.

Aux groupes I et II (ou lots 1 et 2) ont été administrés 65 mg/kg d'extrait (dose thérapeutique) et 650 mg/kg (10 x dose thérapeutique) par gavage en raison de 2 ml/100g de souris.

Au troisième groupe a été administré de l'eau distillée, utilisé comme groupe témoin. La durée de l'expérience a été 28 jours.

Les grands changements tels que le poids corporels, la consommation de l'eau et d'aliment ont été enregistrés journalièrement ainsi que les observations des signes toxiques et de la mortalité.

A la fin de l'essai (28 jours) toutes les souris ont été soumises à une autopsie macroscopique puis certains organes tels que le foie, la rate, les reins ont été examinés et pesés.

Le sang a été également prélevé pour certains tests biochimiques et hématologiques: transaminase, créatinine et NFS (numération formule sanguine). Ils ont été réalisés au laboratoire de Biochimie et Hématologie de l'I.N.R.S.P.

## **Le test hématologique: la NFS**

Les sangs ont été prélevés sur E.D.T.A dans un tube à essai. Ils ont été mélangés avec l'anticoagulant de telle sorte qu'ils ne s'hémo lysent pas à la main d'abord puis avec un Mixeur de type LABINCO. Après le mixage les sangs ont été portés un à un à l'appareil de numération du type ABX MICROS 60. Deux (2) minutes après, les résultats ont été affichés sur l'écran de l'ordinateur puis imprimés.

## **Dosage des paramètres biochimiques:**

### **Dosages des transaminases**

#### **Principe :**

Ce test permet la détermination colorimétrique de l'activité GOT (ASAT) ou GPT (ALAT) selon les réactions suivantes :

#### GOT

**GOT :** Aspartate + alpha céto glutarate <-----> Oxaloacétate + Glutamate

#### GPT

**GPT :** Alanine + alpha céto glutarate <-----> Pyruvate + Glutamate

Le pyruvate ou l'oxaloacétate formés sont dosés sous forme de leurs dérivés 2,4-dinitrophénylhydrazones.

#### **Mode opératoire :**

Les échantillons ont été prélevés sur tube sec et centrifugés pour obtenir des sérums.

Nous avons préparé deux tubes pour chaque sérum de la manière suivante :

Dans le tube n°1 mettre 100 µl du réactif 1 et dans le tube n°2 100 µl du réactif 2. Laisser incubé pendant 5 mn à 37°C. Ajouter dans chaque tube 20 µl de sérum. Mélanger et mettre à 37°C pendant une heure pour le premier tube (GOT) et trente minutes pour le deuxième tube (GPT). Ensuite ajouter à chaque tube 100 µl du réactif 3, laisser pendant 20 mn à la température ambiante du

laboratoire, puis ajouter dans chaque tube 10 ml de soude à 0,4. Mélanger et attendre 5 mn puis faire la lecture au photomètre à 505 nm

Longueur d'onde : 505 nm

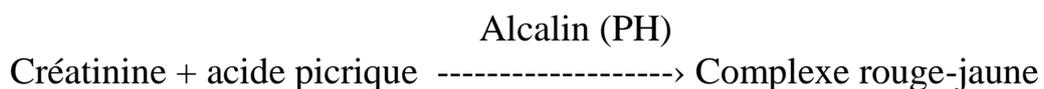
Zéro de l'appareil : eau distillée.

### **Dosages de la créatinine**

#### **Principe :**

Ce test permet de doser la créatinine dans le sérum.

Le dosage de la créatinine est effectué en milieu alcalin. La créatinine dans la solution réagit en milieu alcalin avec l'acide picrique pour former un complexe rouge-jaune. La réaction est la suivante :



#### **Mode opératoire :**

Les sangs ont été prélevés dans un tube sec. Après les prélèvements, les sangs ont été centrifugés pour obtenir les sérums. 10  $\mu$ L de sérum ont été introduits dans un COBAS cup puis placés sur un portoir; l'ensemble a été porté à l'appareil de type COBAS INTEGRA 400 PLUS. Par des méthodes spectrales les résultats ont été donnés moins de 10 minutes.

Pour des paramètres biochimiques (Transaminases et créatinines) et hématologiques les valeurs ont été exprimées par lot.

Pour le poids des organes (foie, rate et les reins) les valeurs ont été exprimées en poids relatif par rapport au poids corporel par souris, les résultats ont été exprimés en moyenne (M)  $\pm$  la déviation standard (DS) pour chaque groupe. L'analyse statistique a été effectuée. Le niveau de significativité a été évalué selon le test t- Student avec  $p < 0,05$ .

### **2.2.3.3- ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE**

Cette étude est basée sur le principe de la réduction des radicaux libres fournis par le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH).

10µl d'une solution de 10mg/ml (M/V) de chaque extrait ont été déposés sur la plaque de silicagel 60F254 (Merck) possédant un support en aluminium.

La migration des plaques a été réalisée dans le système BAW (60 : 15 : 25).

Après migration, les chromatogrammes ont été séchés à l'aide d'un séchoir électrique puis révélés à l'aide d'une solution de DPPH de 2mg/ml dans le méthanol.

En présence de composés possédant des propriétés antioxydantes, le DPPH réduit passe de la couleur pourpre au jaune. Les zones d'activités antiradicalaires apparaissent jaune-blanc sur fond violet après un temps optimal de 30mn sur la plaque CCM (Takao et al, 1994).

# RESULTATS

### **3- RESULTATS**

#### **1-DOSAGES**

##### **Teneur en eau et cendres**

Les résultats de dosage de l'eau et les cendres sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Tableau VIII : Résultats des dosages réalisés sur les rameaux de feuilles de *Calotropis procera*, les parties aériennes de *Centaurea perrottetii*, de *Euphorbia sudanica* et de *Hyptis suaveolens*

Substances	Cp	Cpt	Es	Hs
Eau (%) (méthode pondérale)	6,3	5,44	2,4	5,54
Eau (%) (entraînement azéotropique)	6	8	6	8
Substances extractibles/eau (g)	15	13	14	11
Cendres totales (%)	15,55	13,14	7,57	10,8
Cendres chlorhydriques (%)	0,42	4,06	0,5	2,47
Cendres sulfuriques (%)	19,33	16,67	11,67	14,62

Cp: *Calotropis procera*

Cpt: *Centaurea perrottetii*

Es: *Euphorbia sudanica*

Hs: *Hyptis suaveolens*

Nous constatons que les pourcentages d'eau ont été tous inférieurs à 10%, cela montre que nos poudres peuvent être conservées longtemps.

Pour les substances extractibles par l'eau nous avons eu le plus grand pourcentage avec *Calotropis procera* (15%) ce qui confirme la richesse de la poudre en substances hydrosolubles.

Pour les cendres chlorhydriques le plus grand pourcentage a été observé avec *Centaurea perrottetii* (4,06%) ce qui montre que la poudre a été plus contaminée par la poussière ou le sable que les autres.

Pour les cendres sulfuriques avec *Calotropis procera* nous avons obtenu 19,33% ce qui montre la richesse de la poudre en éléments minéraux.

## 2- Etudes phytochimiques

Nous reporterons ici les informations sur les extraits, des réactions de caractérisation en tube et de la chromatographie sur couche mince.

### 2.1- Les extraits

Les rendements, les aspects et les couleurs des extraits de *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens* sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau IX : Rendement, aspects et couleurs des extractions de *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens*.

Plantes	Extraits	Rendements (%)	Aspect	Couleur
<i>Calotropis procera</i>	Décocté	24	Pâteux	Noir chaud
	Macéré éthanolique	20	pâteux	Noir chaud
<i>Centaurea perrottetii</i>	Décocté	23	Poudre	Marron
	Macéré éthanolique	16	poudre	Gris froid
<i>Euphorbia sudanica</i>	Décocté	24	Poudre	Gris chaud
	Macéré éthanolique	19	Poudre	Ocre jaune
<i>Hyptis suaveolens</i>	Décocté	21	Poudre	Gris chaud
	Macéré éthanolique	19	pâteux	Noir chaud

Les rendements les plus élevés ont été obtenus avec les extraits aqueux de *Calotropis procera* et *Euphorbia sudanica* (24%), tandis que le plus faible aura été obtenu avec le macéré de *Centaurea perrottetii* (16%).

## 2.2- Groupes chimiques caractérisés

Les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence plusieurs groupes chimiques dans les drogues de nos plantes.

Les résultats sont exprimés en :

(+++): Réaction franchement positive

(++): Réaction moyennement positive

(+): traces

(-): négatifs

Tableau X : Résultats des réactions de caractérisations de *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens*.

RECHERCHE	Couleurs	C.p.r	C.p.pa	E.s.pa	H.s.pa
Coumarines (Fluorescence UV 366 nm)	Fluorescence intense	+++	+++	+++	+++
Flavonoïdes Génines flavoniques	Rose-orange	-	-	-	++
Saponosides: Mousse		-	-	-	++
Tanins: Réaction avec FeCl <sub>3</sub>	Bleu noirâtre	-	-	++	++
Tanins galliques: Réaction de Stiasny	Bleu noirâtre	-	-	++	++
Oses et holosides	Rouge	-	+++	+++	-
Mucilages	Précipite floconneux	-	+++	-	+++
Stérols et triterpène	Verte	+++	+++	+++	+++
Hétérosides cardiotoniques (Raymond-Marthoud)	Violet fugace	++++	+	+++	+
Hétérosides cardiotoniques (Kedde)	Rouge violace	+++	+	+++	+
Hétérosides cardiotoniques (Bal jet)	Orange	+++	+	+++	+

C.p.r : *Calotropis procera* rameaux feuilles

C.p.pa : *Centaurea perrottetii* partie aérienne

E.s.pa : *Euphorbia sudanica* partie aérienne

H.s.pa : *Hyptis suaveolens* partie aérienne

Dans les conditions expérimentales utilisées, les coumarines, Hétérosides cardiotoniques et les stérols et triterpènes ont été les groupes chimiques majoritairement caractérisés dans toutes nos drogues.

Seule *Hyptis suaveolens* présente des flavonoïdes génines flavoniques et saponosides mousse.

### **2.3- Substances chimiques caractérisées par chromatographie sur couche mince**

Les résultats de la CCM des extraits aqueux et hydroalcooliques des rameaux de *Calotropis procera* et les parties aériennes de *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens* sont reportés dans les tableaux qui suivent (Tableaux N°: XI, XII et XIII et aux chromatogrammes de la figure N° : 8 et 9). Chaque tableau comprend les informations sur le facteur de rétention (Rf) et les couleurs. Avec le réactif  $AlCl_3$  aucune tache n'a réagi.

Tableau XI: résultats de la CCM à 254nm et à 366nm dans le système BAW (60 :15 :25)

Extrait	Taches		Rf366nm	Couleur
	Rf254nm	Couleur		
Décocté Cp			0,12	Gris
			0,28	Gris
			0,34	Gris
			0,60	Bleu
			0,66	Gris
			0	Rouge clair
Macéré Cp			0,09	Jaune clair
			0,32	Bleu
			0,66	Gris
			0,97	Rouge
Décocté Cpt	0,97	Visible	0,32	Bleu
			0,56	Gris
Macéré Cpt			0,55	Gris
			0,82	Gris bleu
			0,90	Gris bleu
			0,96	Rouge
Décocté Es	0,96	Visible	0,27	Gris bleu
			0,34	Gris
			0,49	Gris bleu
			0,53	Gris bleu
			0,59	Gris bleu
			0,70	Gris bleu
			0,89	Gris bleu
			0,15	Gris bleu
Macéré Es			0,31	Gris bleu
			0,44	Gris bleu
			0,56	Gris
Décocté Hs			0,31	Gris bleu
			0,50	Gris bleu
			0,65	Gris bleu
			0,77	Bleu clair
			0,94	Gris bleu
Macéré Hs			0,31	Gris bleu
			0,47	Gris bleu
			0,84	Bleu clair
	0,99	Visible	0,99	Rouge

Cp : *Calotropis procera*

Cpt : *Centaurea perrottetii*

Es : *Euphorbia sudanica*

Hs : *Hyptis suaveolens*

A 254nm, le macéré de Cp (0,97), macéré de Cpt (0,96) et macéré de Hs (0,99) ont montré un spot chacun.

A 366nm, 5 spots avec décocté et macéré éthanolique de *Calotropis procera*; 2 spots avec décocté et 4 spots avec macéré éthanolique de *Centaurea perrottetii*; 7 spots avec décocté et 4 spots avec macéré éthanolique d'*Euphorbia sudanica*; 5 spots avec décocté et 4 spots avec macéré éthanolique d'*Hyptis suaveolens*.

Tableau XII : Résultats de la CCM après révélation par le réactif de Godin.

Révélateur	Extrait	Rf	Couleur
GODIN	Décocté Cp	0	Orange
		0,56	Jaune
	Macéré Cp	0	Orange
		0,56	Jaune
		0,97	Gris
	Décocté Cpt	0	Orange
		0,28	Noir
		0,47	Bleu clair
		0,56	Jaune
	Macéré Cpt	0,27	Noir
		0,35	Jaune clair
		0,56	Jaune
		0,66	Noir
		0,81	Gris
		0,89	Jaune
		0,97	Gris
	Décocté Es	0	Jaune
	Macéré Es	0	Orange
		0,16	Orange
		0,25	Gris
		0,56	Jaune
	Décocté Hs	0,25	Gris
		0,32	Gris
		0,62	Orange
		0,81	Orange
	Macéré Hs	0,35	Gris
		0,61	Orange
		0,69	Jaune clair
0,81		Jaune clair	

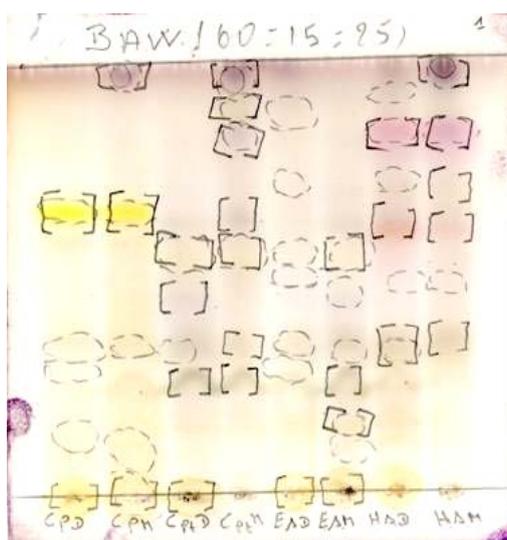


Figure N°8 : Photo du chromatogramme des extraits aqueux de *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens* révélé avec Godin et dans le système de solvant: BAW (60 : 15 : 25)

TABLEAU XIII : Résultats de la CCM après révélation par le réactif  $FeCl_3$  qui caractérise les tanins

Révélateur	Extrait	Rf	Couleur
$FeCl_3$	Décocté Cp	0,69	Noirâtre
	Macéré Cp	0,69	Noirâtre
	Décocté Hs	0,85	Noirâtre
	Macéré Hs	0,85	Noirâtre

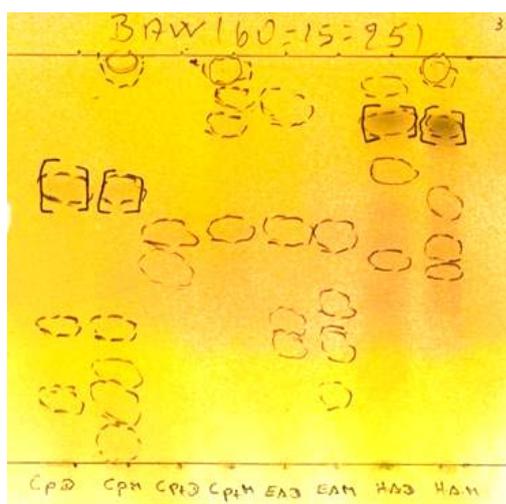


Figure N°9: Photo du chromatogramme des extraits aqueux de *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens* révélé avec  $FeCl_3$  et dans le système de solvant BAW (60 : 15 : 25)

Les extraits aqueux et éthanoliques de *Calotropis procera* et *Hyptis suaveolens* ont montré un spot de Rf 0,69 et 0,87 respectivement de tache noir.

### 3- TESTS BIOLOGIQUES

#### 3.1- TOXICITE

##### 3.1.1- TOXICITE AIGUE

Jusqu'à la dose 2000 mg/kg par voie orale les extraits aqueux de *Centaurea perrottetii* et hydroéthanoliques de *Calotropis procera*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens* n'ont produit aucune mortalité. Selon les lignes directrices OCDE 423 pour la toxicité aigue la DL<sub>50</sub> de 2000 mg/kg est classée dans la catégorie 5 (DL<sub>50</sub> comprise entre 2000 à 5000g). D'où les extraits sont considérés comme faiblement toxiques jusqu'à la dose 2000 mg/kg par voie orale.

A cette dose 2000 mg/kg les extraits hydroéthanoliques de *Euphorbia sudanica* ont provoqué chez les souris une diminution de l'activité motrice, la somnolence et une accélération des mouvements respiratoires.

Tableau XIV: Effets du traitement avec les extraits à la dose 300 mg/kg de *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens* sur le poids des organes

traitements	Poids corporel initial (g)	Poids corporel (g)	Poids foie (g)	Poids rate (g)	Poids reins (g)
Témoins	25,19	27,31	1,35 (4,94)	0,15 (0,55)	0,17 (0,62)
<i>Calotropis procera</i>	29,99	33,32	1,64 (4,92)	0,18 (0,54)	0,22 (0,66)
<i>Centaurea perrottetii</i>	21,68	29,39	1,43 (4,86)	0,18 (0,61)	0,19 (0,64)
<i>Euphorbia sudanica</i>	27,89	30,24	1,53 (5,04)	0,23 (0,75)	0,22 (0,72)
<i>Hyptis suaveolens</i>	26,64	27,46	1,58 (5,75)	0,27 (0,98)	0,19 (0,69)

Les valeurs entres parathèses sont des poids relatifs (%) des différents organes de souris.

Poids relatif: (poids d'organe/poids corporel) x 100

Tableau XV: Effets du traitement avec les extraits à la dose 2000 mg/kg de *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens* sur le poids des organes

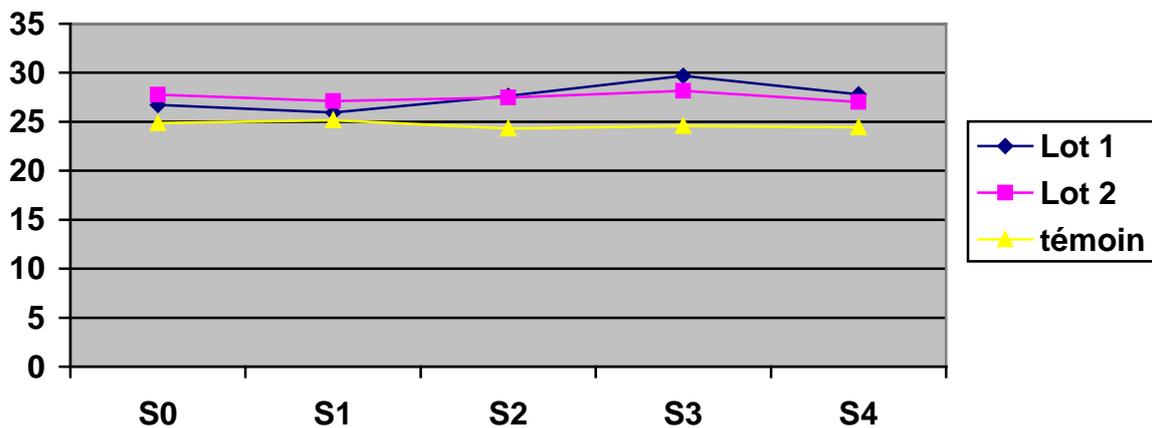
traitements	Poids corporels initial (g)	Poids corporels (g)	Poids foies (g)	Poids rate (g)	Poids reins (g)
Témoins	25,19	27,31	1,35 (4,94)	0,15 (0,55)	0,17 (0,62)
<i>Calotropis procera</i>	30,02	29,99	1,41 (4,70)	0,16 (0,53)	0,20 (0,66)
<i>Centaurea perrottetii</i>	27,89	30,34	1,33 (4,38)	0,22 (0,72)	0,18 (0,59)
<i>Euphorbia sudanica</i>	28,63	29,58	1,58 (5,34)	0,27 (0,91)	0,23 (0,77)
<i>Hyptis suaveolens</i>	26,13	26,37	1,42 (5,38)	0,15 (0,57)	0,17 (0,64)

Il n'y a pas de différence notable entre les poids relatifs des organes des souris sous traitement de nos différentes plantes par rapports aux témoins.

Donc les extraits de nos plantes n'ont pas eu d'effet sur le poids des organes par administration unique jusqu'à la dose 2000 mg/kg chez les souris par voie orale. L'observation à l'oeil nu des organes n'a montré aucune anomalie.

### 3.1.2- TOXICITE SUB-AIGUE

L'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* au terme de quatre semaines d'administration il n'y a pas eu de mortalité.



**Figure N°11: Effet de l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* sur la masse des souris mâles au cour du traitement de quatre semaines**

So : une semaine avant l'administration

S1 : première semaine de l'administration

S2: deuxième semaine de l'administration

S3: troisième semaine de l'administration

S4 : quatrième semaine de l'administration

Lot 1 : groupe de souris soumises à la dose de 65 mg/kg (dose thérapeutique)

Lot 2 : groupe de souris soumises à la dose de 650 mg/kg

Témoin : groupe de souris soumises à l'eau distillée

Nous constatons que pratiquement pendant le mois de notre traitement l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* n'a pas produit d'effet remarquable sur la masse de nos souris sous traitement comparativement au témoin.

Figure N°17 : La variation des masses (g) de souris femelles par semaine

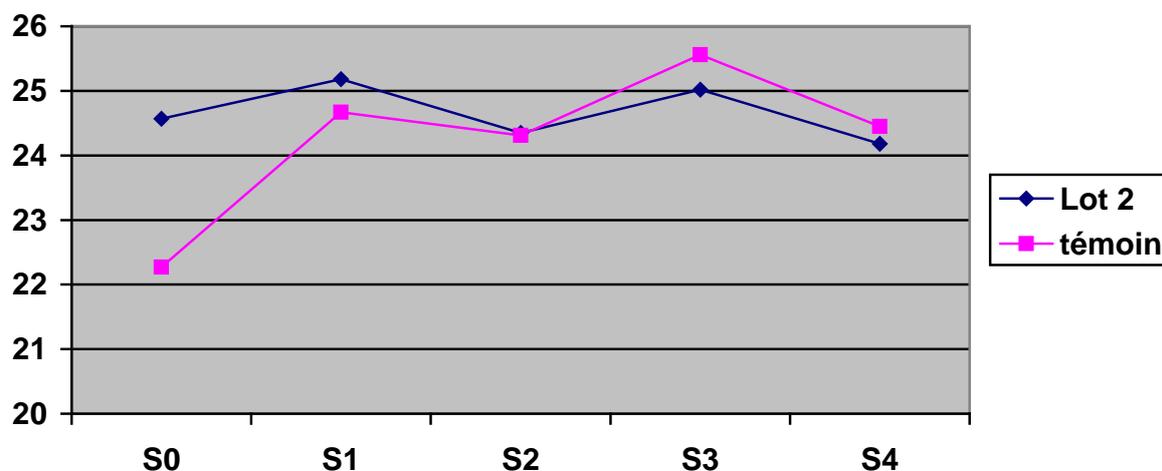


Figure N°12: Effet de l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* sur la masse des souris femelles au cours du traitement de quatre semaines

Nous constatons chez les souris femelles les mêmes variations des masses de souris sous traitement et de souris témoins.

Donc au bout d'un mois d'administration par voie orale, l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* n'a pratiquement pas d'effet remarquable sur la masse des souris.

### Paramètres hématologiques

Tableau XVI: Effet de l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* sur la numération formule sanguine (NFS) des souris mâles.

Groupes	GB ( $10^3/\text{mm}^3$ )	GR ( $D10^6/\text{mm}^3$ )	HGB (g/dl)	HCT (%)	VGM ( $\mu\text{m}^3$ )	TGMH (B pg)	CCMH (g/dl)
témoin	11,0	9,12	14,2	44,9	49	15,6	31,7
Lot 1	6,5	9,20	14,0	45,1	49	15,2	31,1
Lot 2	9,3	8,77	13,0	43,4	49	14,8	30,0

GB: globule blanc

GR: globule rouge

HGB: taux d'hémoglobine

HCT: taux d'hématocrite

VGM : volume global moyen

TGMH : Teneur Globulaire Moyenne en Hémoglobine

CCMH : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

Nous constatons qu'il n'y a pas de différence notable entre les taux de GB, HGB, TGMH, CCMH, GR, HCT et VGM des souris sous traitement et des souris témoins.

Tableau XVII : Effet de l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* sur la formule leucocytaire (GB) des souris mâles

Sang	% Lym	% Mon	% Gra
Témoin	79,6	17,8	2,6
Lot 1	79,6	18,1	2,3
Lot 2	76,9	19,3	3,8

Lym : Lymphocytes      Mon : Monocytes      Gra : Granulocytes

Donc suite à ces résultats nous pouvons déduire que l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* jusqu'à la dose 650 mg/kg administré par voie orale chez les souris ne provoque pratiquement pas une anémie, ni une leucopénie.

Tableau XVIII : Effet de l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* sur la numération formule sanguine (NFS) des souris femelles

Groupes	GB	GR	HGB	HCT	VGM	TGMH	CCMH
Lot 2	10,2	9,48	14,6	48,2	51	15,4	30,3
témoin	8,0	8,86	13,6	43,8	49	15,4	31,1

Tableau XIX : Effet de l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* sur la formule leucocytaire (GB) des souris femelles

Sang	% Lym	% Mon	% Gra
Témoin	74,2	20,0	5,8
Lot 2	72,4	21,3	6,3

Chez les femelles également la différence n'est pas notable entre les taux GB, BR, HGB, HCT, VGM, TGMH et CCMH.

Donc l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* n'a pratiquement pas d'effet sur la numération formule sanguine (NFS) des souris.

## Paramètres biochimiques

Tableau XX: Effet de l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* sur le taux des transaminases et créatinine des souris mâles

Sérum	GOT	GPT	Créatinine
Témoin	65	38	33,85
Lot 1	70	68	40,22
Lot 2	176	62	33,43

Nous constatons une large augmentation des valeurs de GOT et GPT des souris mâles sous traitement par rapport au témoin.

Tableau XXI: Effet de l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* sur le taux des Transaminases des souris femelles.

Sérum	GOT	GPT
Témoin	34	26
Lot 2	196	80

Chez les femelles nous constatons également une large augmentation des valeurs de GOT et GPT par rapport au témoin.

Donc nous pouvons déduire que l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* administré par voie orale pendant un mois peut augmenter les valeurs de transaminases.

Avec ces résultats de la créatinine l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* n'a pratiquement pas d'effet sur la clairance de la créatinine des souris.

Tableau XXII: Effet l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* sur le poids des organes de souris mâles

Traitements	Poids corporels initial (g)	Poids corporels (g)	Poids foie (g)	Poids rate (g)	Poids reins (g)
Témoin	24,86	24,47	1,00 (4,09)	0,08 (0,33)	0,12 (0,50)
Lot 1	26,71	27,79	1,13 (4,06)	0,18 (0,65)	0,15 (0,54)
Lot 2	27,77	27,02	1,17 (4,33)	0,14 (0,52)	0,16 (0,59)

Les poids relatifs (%) des organes sont entre les parenthèses

Il n'y a pas de différence notable entre les poids relatifs des foies et des reins des souris des différents groupes.

La différence est un peu remarquable entre les poids relatifs de la rate des souris sous traitement et le témoin

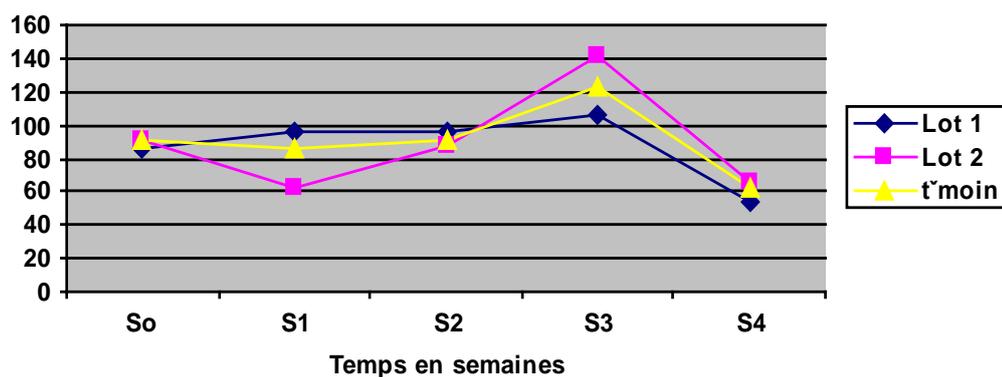
Il n'existe pas une variation significative entre les poids initiaux et celui du poids corporel après 28 jours du traitement.

Tableau XXIII: Effet l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* sur le poids des organes de souris femelles

Traitements	Poids corporels initial (g)	Poids corporels (g)	Poids foie (g)	Poids rate (g)	Poids reins (g)
Témoin	22,27	24,45	1,04 (4,25)	0,15 (0,6)	0,10 (0,41)
Lot 2	24,57	24,18	0,99 (4,09)	0,12 (0,5)	0,11 (0,45)

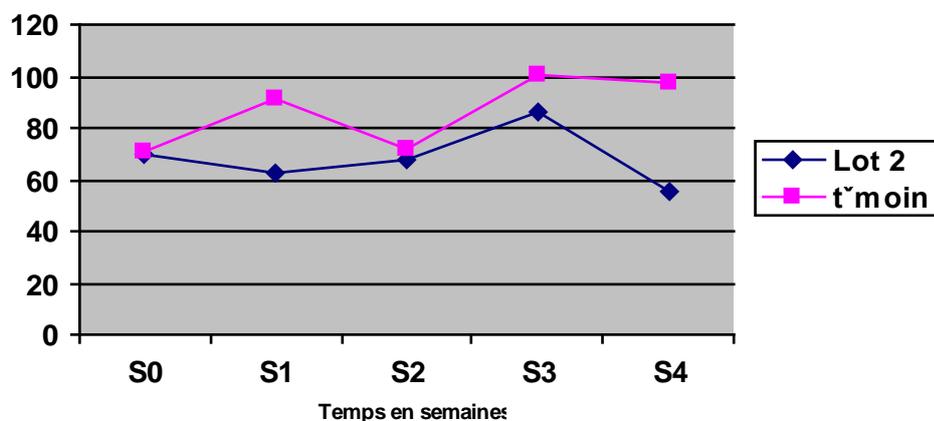
Il n'y a pas de différence notable entre les poids relatifs des organes des souris femelles.

Donc l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* administré par voie orale pendant un mois n'a pratiquement pas d'effet sur le poids des organes de souris.



**Figure N°13: Effet de l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* sur la consommation d'aliments en gramme des lots de souris mâle par semaine.**

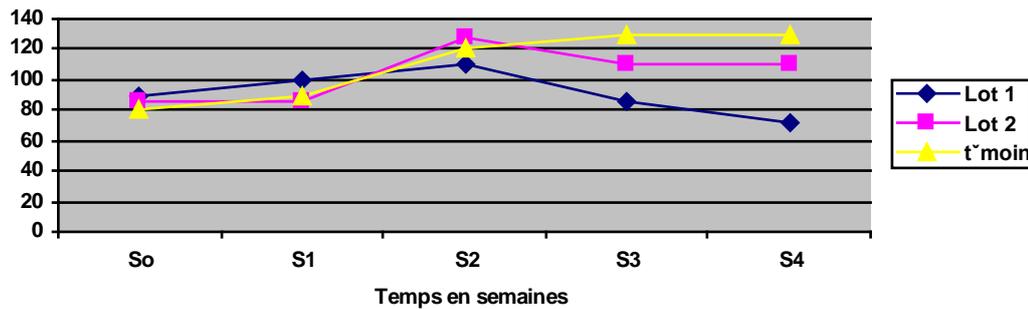
Nous constatons que la variation de la consommation des souris mâles sous traitement par rapport au témoin n'est pas beaucoup remarquable.



**Figure N°14: Effet de l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* sur la consommation d'aliments en gramme des lots de souris femelles par semaine**

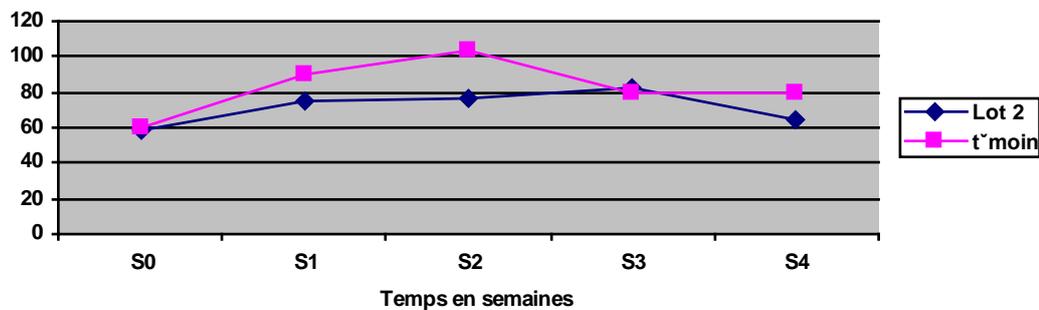
La consommation des souris témoins est un peu supérieure à la consommation des souris femelles sous traitement.

Au terme d'un mois d'administration par voie orale, l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* jusqu'à la dose de 650 mg/kg n'a pratiquement pas modifié la consommation d'aliment des souris sous traitement par rapport aux témoins.



**Figure N°15: Effet de l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* sur la consommation d'eau en millilitre des lots de souris mâles par semaine**

La consommation d'eau des souris témoins a un peu augmenté dans les deux dernières semaines que les souris mâles sous traitement.



**Figure N°16: Effet de l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* sur la consommation d'eau en millilitre des lots de souris femelles par semaine**

Nous constatons une légère augmentation remarquable de consommation de l'eau des souris témoins dans la deuxième semaine que les souris femelles sous traitement.

Au terme d'un mois d'administration par voie orale, l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* n'a pratiquement pas modifié la consommation en eau des souris sous traitement par rapport aux témoins.

### 3.2- TEST DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Pour l'activité antioxydante les plaques ont été révélées avec le DPPH et nous avons obtenu les résultats suivants :

TABLEAU XXIV: Résultats du test antioxydant des extraits décocté et macéré de *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica*, et *Hyptis suaveolens* sur CCM dans le système B.A.W (60 :15 :25).

Révélateur	Extraits	Rf	Couleur
DPPH	<i>Hyptis suaveolens</i> décocté	0,25	Jaune
		0,37	Jaune
		0,50	Jaune
		0,56	Jaune
		0,62	Jaune
		0,85	Jaune
	<i>Hyptis suaveolens</i> macéré	0,37	Jaune
		0,62	Jaune

Seuls les extraits d'*Hyptis suaveolens* dans le système BAW (60 :15 :25) ont donné des résultats positifs au cours du test au DPPH.

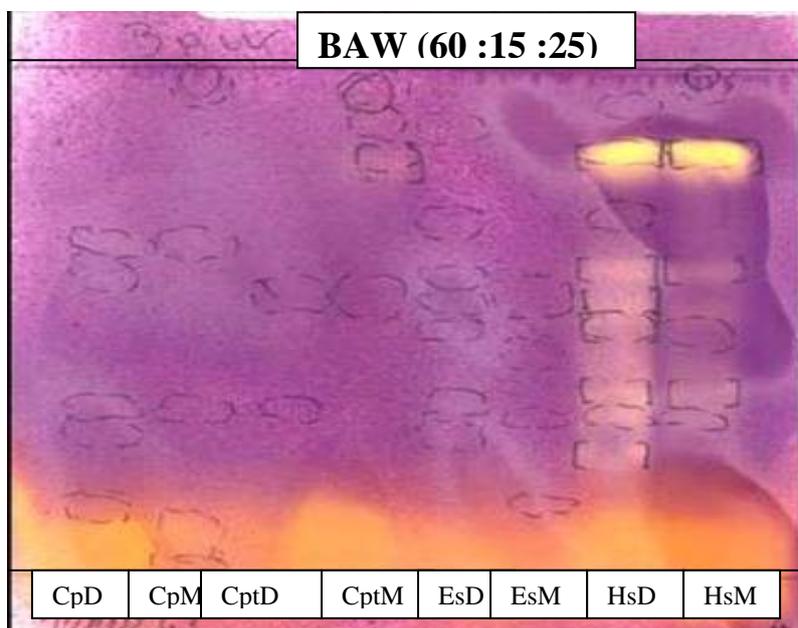


Figure N°17: Photo du chromatogramme des extraits de *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens* révélé avec du DPPH et dans un système BAW (60 :15 :25)

# ANALYSES ET DISCUSSION

## ANALYSES ET DISCUSSION

Notre thème de recherche a porté sur l'étude de l'activité antioxydante et de la toxicité des rameaux de *Calotropis procera* (Asclépiadacées) et les parties aériennes de *Centaurea perrottetii* (Astéracées), *Euphorbia sudanica* (Euphorbiacées) et *Hyptis suaveolens* (Lamiacées).

Il a consisté en la recherche des composés chimiques majeurs de l'activité antioxydante et la toxicité des différents extraits de plantes.

L'étude phytochimique des rameaux de *Calotropis procera* et les parties aériennes de *Hyptis suaveolens* récoltées dans l'enceinte du DMT, les parties aériennes de *Centaurea perrottetii* et *Euphorbia sudanica* récoltées respectivement à Badiangara et Sangarébourg nous ont révélé la présence de plusieurs composés chimiques dans toutes les drogues.

Dans des rameaux de *Calotropis procera*, les composés chimiques caractérisés ont été les coumarines, les stérols et triterpènes et les hétérosides cardiotoniques. Al-Yahia (1986), Malick (1979), Salet et al (1993) ont trouvés que toutes les parties de *Calotropis procera* contiendraient des cardénolides, des alcaloïdes, des saponines, des stérols et triterpènes, des coumarines, des tanins et des flavonoïdes.

Dans les parties aériennes de *Centaurea perrottetii*, les composés chimiques caractérisés ont été les coumarines, les oses et holosides, les mucilages, les stérols et triterpènes et les hétérosides cardiotoniques.

Bruneton (1993) a trouvé que *Centaurea perrottetii* contiendrait des huiles essentielles, des lactones sesquiterpènes, des dérivées polyphénoliques, flavonoïdes, des coumarines, anthocynes et des mucilages.

Dans *Euphorbia sudanica* les composés chimiques caractérisés ont été les coumarines, les tanins (sous forme de tanins galliques), des oses et holosides, des stérols et triterpènes et les hétérosides cardiotoniques.

Dans *Hyptis suaveolens* les composés chimiques caractérisés ont été les coumarines, les flavonoïdes, les saponosides, les tanins (tanins galliques), les mucilages, les stérols et triterpènes et les hétérosides cardiotoniques.

Kerharo et Adams (1974) ont montré que l'*Hyptis suaveolens* contiendrait des huiles essentielles, que les recherches de l'amidon, des alcaloïdes et des tanins ont été négatives.

Les CCM réalisés avec les réactifs appropriés nous ont permis de confirmer les résultats du screening phytochimique.

Avec le réactif de Godin, les extraits de nos plantes ont montrés de nombreuses colorations dont la coloration violette qui serait caractéristique des dérivées triterpeniques;  $FeCl_3$  a donné une coloration noirâtre qui serait due à la présence de tanins dans *Hyptis suaveolens*, *Calotropis procera*.

La fluorescence bleue observée à 366nm indiquerait les coumarines dans toutes nos drogues.

La présence des saponosides a été signalée dans l'*Hyptis suaveolens*.

Les saponosides peuvent avoir des propriétés hémolytiques (Haerdi, 1964).

La présence des tanins confère à la plante la formation de complexes avec le fer pouvant entraîner une anémie (Duquenois et Anton, 1968).

Les plantes contenant les hétérosides cardiotoniques ont été souvent utilisées à des fins criminelles ou pour des tentatives de suicide. Elles ont généralement des propriétés émétiques considérables (Haerdi, 1964).

Le dosage de l'eau nous a donné par la méthode gravimétrique 6,3% pour *Calotropis procera*, 5,44% pour *Centaurea perrottetii*, 2,4% pour *Euphorbia sudanica*, et 5,54% pour *Hyptis suaveolens*, et par la méthode azéotrope des valeurs comprises entre 6% et 8%, ce qui est favorable pour nos drogues.

En effet une teneur en eau supérieure à 10% entraîne des réactions d'oxydation, la fermentation et la moisissure qui sont souvent préjudiciables à l'activité thérapeutique de la drogue (Paris et Hurabielle, 1981);

Les teneurs des substances extractibles par l'eau ont été de 15%, 13%, 14% et 11% respectivement pour *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia suaveolens* et *Hyptis sudanica*.

L'indice de mousse avec *Hyptis suaveolens* a été 111,111. L'indice de mousse a une valeur indicative de la présence des saponosides dans la plante.

Les extraits aqueux de *Centaurea perrottetii* et hydroéthanoliques de *Calotropis procera*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens* n'ont pas provoqué de morts jusqu'à la dose de 2000 mg/kg par voie orale en 72h chez les souris mâles.

La DL<sub>50</sub> des extraits serait ainsi supérieure à 2000 mg/kg par voie orale, ce qui nous permet de les classer selon les lignes directrices OCDE 423 de toxicité aiguë des produits chimiques, comme étant faiblement toxique.

Mossa et al, (1991) ont montré que l'extrait alcoolique des parties aériennes de *Calotropis procera* n'a pas provoqué de mort ou de symptômes d'intoxications jusqu'à la dose de 3g/kg par voie orale.

Egalement Ouédraogo et al, (2005) ont montré que le macéré aqueux de la poudre de *Calotropis procera* évaluée par la détermination de la DL<sub>50</sub> par voie IP la DL<sub>50</sub> chez la souris mâle est de 973/kg de poids corporels classant la drogue comme faiblement toxique.

DOLO, (1990) a montré que les extraits aqueux de rameaux de feuilles de *Calotropis procera* sont mortels pour la souris à une dose de 0,5g administré par IP.

Au cours de notre étude de toxicité aiguë et sub-aiguë, l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* n'a pas provoqué de mortalité et aucun signe d'intoxication n'a été observé jusqu'à la dose 2000 mg/ kg et 650 mg/kg respectivement chez les souris par voie orale.

L'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* administré pendant un mois par voie orale peut provoquer une augmentation des transaminases chez les souris.

Une augmentation des valeurs des transaminases (GPT et GOT) est signe évident de lyse cellulaire et perte d'intégrité fonctionnelle de la membrane des hépatocytes (Drotman et Lawhorn, 1978).

Kerharo et Adams, (1974) ont montré qu'à forte dose *Centaurea perrottetii* est émétique.

Fane, (2002) a trouvé au cours de son enquête auprès des herboristes que une louchée (=100ml) 2 fois par jour (dose thérapeutique) peut provoquer des douleurs abdominales, des nausées, souvent des vomissements.

PAULSEN et al, (1993) ont trouvé qu'un pourcentage non négligeable d'individu est sensible au *Centaurea perrottetii* surtout chez les professionnels (des personnes toujours en contact avec la plante).

Avec l'extrait hydroéthanolique d'*Euphorbia sudanica* au cours de notre étude de toxicité aiguë; il n'y a pas eu de mortalité jusqu'à la dose 2000 mg/kg par voie orale. Certains signes d'intoxication ont été observés à la dose 2000 mg/kg comme la somnolence, baisse de toute activité motrice, accélération des mouvements respiratoires chez les souris.

Le tableau de la somnolence observé pourrait être due à l'action sédatrice des constituants chimiques de notre extrait d'*Euphorbia sudanica*. En effet, Anton (1979) a rapporté que les composés terpéniques étaient doués de propriétés sédatrices.

Bruneton, (1993; 1999) et Paris et Moyse, (1971) ont trouvés que l'*Euphorbia sudanica* est toxique, surtout son latex irritants au niveau de la peau, des yeux, des muqueuses, inducteurs de tumeurs.

Au cours de notre étude de toxicité aiguë, l'extrait hydroéthanolique d'*Hyptis suaveolens* administré jusqu'à la dose 2000 mg/kg par voie orale n'a pas provoqué de mortalité ni de signe d'intoxication chez les souris.

Feng, (1974) a trouvé que l'extrait aqueux d'*Hyptis suaveolens* avait une certaine toxicité pour la souris à la dose de 1mg par I.P.

La différence de ces résultats avec les notre pourrait s'expliquer par la différence de voie d'administration.

Les facteurs climatique et édaphique c'est-à-dire le milieu ou le sol dans lequel ces plantes ont été récoltées pourrait s'expliquer la différence.

La voie orale utilisée dans notre étude est celle utilisée pour le traitement en médecine traditionnelle.

Les extraits semblent être plus toxiques par voie IP que par voie orale.

Cela permet d'avancer les hypothèses suivantes :

Les principes actifs de la plante ne seraient pas résorbés en quantité suffisante par la voie orale.

Les principes actifs de la plante sont inactivés par hydrolyse enzymatique par les sucs gastriques.

Les extraits aqueux et hydroalcoolique d'*Hyptis suaveolens* ont seulement réagi positivement au test de l'activité antioxydante avec le DPPH en donnant un spot de Rf voisin 0,85 positif. Cette activité peut être due aux coumarines, aux caroténoïdes et aux polyphénols.

Les caroténoïdes se retrouvent souvent dans les plantes alimentaires. Le  $\beta$ -carotène qui est le caroténoïde le plus rencontré dans l'alimentation diminuerait les risques de certains cancers (Peto et Al, 1981).

Les coumarines et les caroténoïdes réagissent avec l'oxygène singulet, les radicaux peroxy, et alkoxy en captant les radicaux libres (Krinsky, 1989). Cette activité antioxydante serait due à la présence de substances polyphénoliques (tanins, coumarines). Ces substances polyphénoliques inhiberaient

les phénomènes oxydations qui sont responsables de plusieurs pathologies (cavin, 1999) (Exemple: les phénomènes inflammatoires du fait que l'oxygénation de l'acide arachidonique par la cyclo oxygénase ou la lipooxygénase permet la synthèse de composés biologiquement actifs dont les prostaglandines impliquées dans l'inflammation).

L'utilisation des molécules végétales à haut pouvoir antioxydant est une des solutions pour lutter contre l'oxydation (Rolland, 2004).

Ces substances poly phénoliques pourraient également être à la base de l'activité hépatoprotectrice d'*Hyptis suaveolens* en empêchant la peroxydation lipidique (Sanogo et al., 2005).

Cette propriété serait avantageuse car éviterait ainsi la toxicité hépatique.

# CONCLUSION

## CONCLUSION

La médecine traditionnelle reste encore le premier recours de la grande majorité des maliens.

La grande partie de notre travail est une contribution à l'étude de la toxicité de *Calotropis procera*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens* utilisées pour leurs propriétés insecticides et *Centaurea perrottetii* utilisée dans le traitement de la bilharziose et une partie sur l'étude de l'activité antioxydante de ces plantes.

Notre travail nous a permis une meilleure connaissance des constituants chimiques (coumarines, stérols et triterpènes, des hétérosides cardiotoniques etc.) des extraits de nos différents plantes, de connaître les extraits les plus riches en constituants antiradicalaires.

Au cours de notre étude de l'activité antioxydante les extraits aqueux et hydroéthanolique d'*Hyptis suaveolens* ont montré leurs richesses en constituants antiradicalaires en réagissant avec le DPPH et les autres extraits des plantes n'ont pas réagis.

Au cours de notre étude de toxicité aigue les extraits aqueux de *Centaurea perrottetii* et hydroéthanolique de *Calotropis procera*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens* ont montré une faible toxicité sur les souris avec une DL<sub>50</sub> supérieure à 2g/kg par voie orale.

Certains symptômes d'intoxications ont été observés à la dose 2000 mg/kg de *Euphorbia sudanica* comme la somnolence, diminution de l'activité motrice et une accélération des mouvements respiratoires.

Au cours de notre étude de la toxicité sub-aigue (28 jours), l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* n'a pas provoqué de mort ni des signes d'intoxications à des doses 65mg/kg dose thérapeutique et 650mg/kg chez les souris. L'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* peut provoquer une augmentation des valeurs de transaminases.

Nous espérons, avec nos résultats, avoir participé à la valorisation de la médecine traditionnelle pour parvenir à la disponibilité de médicaments à base de plantes médicinales locales, efficaces et accessibles.

Nos résultats pourront servir à la sensibilisation des thérapeutes traditionnels sur la toxicité des plantes médicinales.

# RECOMMENDATIONS

## **RECOMMANDATIONS**

Nous recommandons:

- au Département de Médecine Traditionnelle de poursuivre ces investigations de toxicologie sur *Centaurea perrottetii* utilisé dans le traitement de la bilharziose avant de mettre sur le marché.
- aux autorités maliennes (INRSP) d'accorder plus de moyens matériels et financiers au Département de Médecine Traditionnelle pour lui permettre de mener des études approfondies sur les plantes traditionnelles dont l'emploi contribue à l'amélioration de l'état de santé des populations; et répondre à un souci de l'OMS que les remèdes traditionnels à base de plantes n'aient une place réelle dans le système de soin de santé que lorsque le bien fondé de leur utilisation aura été établi par des études les rendant crédibles et acceptables.
- à la population de se servir prudemment et rationnellement des plantes pour éviter les accidents graves (intoxications) qu'elles peuvent engendrer et la disparition de certaines espèces regorgeant de potentialités thérapeutiques.

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Al-Yahiya. M.A. (1986): Phytochemical studies of the plants used in traditional medicine of Sandi Arabia. *Fitoterapia*, 179-182
- Arbonnier (2002) : Arbres, Arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest, CIRAD, 2<sup>ème</sup> édition, p 160-165.
- BASU A, Sent T, RAYRN, Chaudhuri AK N. (1992): Hépatoprotective effects of *Calotropis procera* root extract on expérimental liver damage in animals. *Fitoterapia*, Vol.63 (6), 507-514
- Berhaut J. (1967): Flore du Sénégal, 2<sup>ème</sup> édition. Clair Afrique Dakar, 485p.
- Berhaut J. (1971): Flore illustrée du Sénégal, Tome I, Dakar, 626p.
- Berhaut J. (1974) : Flore illustrée du Sénégal, tome II 1974,315-316.
- Bruneton J. 1993 : Plantes toxiques végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux. 2<sup>ème</sup> édition. p 167-171,269-271,337-339
- BURKILL H.M (1985). The useful plants of Tropical Africa. Royal botanic.Garden kew,vol 1, 2<sup>ème</sup> édition
- BURKILL H.M (1991): The useful plants of Tropical Africa. Royal botanic.Garden kew, 2<sup>ème</sup> édition. Vol 2
- BURKILL H.M (1995). The useful plants of west tropical Africa. Royal botanic.Garden kew,vol 3, 2<sup>ème</sup> édition.

-Chevalley, I. (2000) : Contribution à l'étude phytochimique des Saxifracées : isolement d'antioxydants à partir de *Saxifraga stellaris* L. et *Saxifraga cuneifolia* et d'un composé antifongique de *Ribes rubrum* L. these, doctorat, Lausanne,175p.

-Cohen Y. (1986) : Abrégé de pharmacologie Masson 2<sup>ème</sup> édition. Mexico, 240-265.

-Claude (1988) : Investigations toxicologiques pour un nouveau médicament. Giroud J. P et al., Ed. Pharmacologie clinique/bases de la thérapeutique. 2<sup>ème</sup> édition. Paris : Expansion scientifique française, 3-14.

-Dieye A.M, Tidjani M. A, Bassene, Faye B. (1993) : Pharmacopée sénégalaise : étude de la toxicité aigue et l'activité antitussive de *Calotropis procera* Ait. (Asclepediaceae). Dakar medical; 69-72.

-Devan S., Kumar S et al. (2002): Antipyretic effect of latex *Calotropis procera*. Journal of ethnopharmacology, vol 32 (3), 252p.

-Devan S. Sangraula H. et al. (2000): Preliminary studies on the analgesic activity of the latex of *Calotropis procera*. Journal of ethnopharmacology, vol .73, 307-311.

-Dolo A. (1990) : Contribution à l'étude toxicologique des plantes médicinales thèse pharmacie Bamako Mali. P48,80,89

-Elghozi J., Dominique Duval (1987) : Aide mémoire de pharmacologie, Flammarion, 319p.

-FANE S. (2002): Etude de la toxicité de certaines plantes vendues sur les marches du District de Bamako p.39; 42; 80-126

-G.R.I.P.T. (2001) : Groupe de recherche et d'information sur la pharmacopée et environnement tropical  
Association Loi 1901 : Revue de Médecines et pharmacopées Africaines, vol 15

-Hodge et Sterner (1943): Determination of substances acute toxicity by LD50. American Industrial Hygien Association 10:93.

- Kerharo J. Adams J.G (1974): La Pharmacopée Sénégalaise Traditionnelle: plantes médicinales et toxiques. Edition. Vigot Frères, Paris, p 211-214, 224-225, 490

-Kumar V L., Basu N. (1994): Anti inflammatory activity of the latex of *Calotropis procera*, Journal of ethnopharmacology, vol 44(2) 123-125.

-Krinsky, N.I., (1989): antioxydant functions of carotenoids. free rad. biol. Med. 7, 617-635.

-LEM. (1997): Insecticidal activity of *Calotropis procera* extracts of the Flesh fly, *Sarcophaga Haemorrhoidalis* Fallen. J Egypt SOC parasitol; vol 27(2): 505-514.

-Mascolo N., Sharma R., Jain SC., Cappasso F. (1988) Ethnopharmacology of *Calotropis procera* flowers. Journal of ethnopharmacology; vol.22 (2) 211-221.

-Maydell, Hans-jurgen von (1990): ARBRES ET Arbustes du sahel : leurs caractéristique et leurs utilisations. Version Française : Jean-Bernard chappuis. J

-MOYSE H. : Matière Médicale Tome III Par R.R. PARIS 96-99, 255, 291, 395-401, 453-454, 477

- Neuwinger Hans-Dieter (1990): Poisons and drugs: chemistry-pharmacology-toxicology african ethnobotany, 2<sup>ème</sup> édition. 224-235.

-Nikiema Wendpagnagde Patricia Rachel (2005) : propriétés pharmacochimiques de *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) Récolté au Mali: Etude préclinique des effets anti-inflammatoires et antimicrobiens des extraits des écorces de racines thèse de pharmacie Bamako.

-Organisation mondiale de la santé (2000). Principes méthodologies généraux pour la recherche et évaluation relatives à la médecine traditionnelle, OMS, 79p.

-Paris M., Hurabielle M., (1981). Abrégé de matière médicale (pharmacognosie, généralités monographie 1ère partie), plantes à glucides (holosides, hétérosides), à lipides, à huiles essentielles, à protides et à alcaloïdes. Masson, Tome 1, Paris, 339p.

-Paulsen E., Andersen K. E., et Hausen B.M. (1993). Compositae Dermatitis in a Danish Dermatology Department in one year, contact Dermatitis, 29, 6-10.

- Pousset J. (2004) : Plantes médicinales d'Afrique : comment les reconnaître et les utiliser, secum/Edisud PARIS, 287P.

-Rolland Y. (2004).Actualités des lipides en cosmétique : antioxydants naturels végétaux. OCL. Vol.11, No6, 419-424

- Sanogo R., Germanō M.P., D'Angelo V., Guglielmo M., De Pasquale R., (2005) Anti-Hepatotoxic Properties of *Entada africana* Guil. et Perr. (Mimosaceae). Phytotherapy Research Vol. 12, S157-S159.

# ANNEXES

## ANNEXES

### ANNEXE N°1: ALIMENTATION DES SOURIS

Formule pour la nourriture des souris (Traoré et Nebout, 1983)

Farine de maïs	50kg
pate d'arachide	20kg
son de mil	17,5kg
lait en poudre	7,0kg
farine de poisson	3,0kg
feuilles de salade pilées	2,0kg
sel gemme	0,5kg
eau qsp 100kg	3,8 l

### ANNEXE N°2: compositions des réactifs

#### REACTIF DE DRAGENDORFF:

Nitrate de bismuth pulvérisé	20,80g
Iode	38,10g
Iodure de sodium anhydre	200g
Eau distillée	600cc

Agiter pendant 30minutes.

#### REACTIF DE GODIN:

Solution A

Vanilline 1g +1000ml d'éthanol

Solution B

Acide perchlorique 3cc + eau distillée 100cc

Mélanger les deux solutions au moment de l'emploi.

Ensuite pulvériser les plaques avec une solution de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%

#### LIQUEUR DE FEHLING:

Réactif à chaud

Solution A

CuSO <sub>4</sub>	35g
Eau distillée	500cc
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5cc

Laisser refroidir puis compléter à 1 litre avec de l'eau distillée

Solution B

SEL DE SEIGNETTE	150g
Eau distillée	500cc

Refroidir puis ajouter 300 cc de lessive de soude non carbonatée, compléter à un litre avec de l'eau distillée.

NB : mélangé les deux solution au volume égale au moment de l'emploi ;

#### REACTIF DE GUIGNARD:

Préparation du papier picrosodé

Acide picrique	1g
Carbonate de sodium	10g
Eau distillée	100cc

#### REACTIF DE RAYMOND MARTHOUD:

1-3 meta dinitrobenzène	1g
Ethanol 96° QSP	100 cc

#### REACTIF DE KEDDE:

Acide dinitro 3-5 benzoïque	1 g
Ethanol 96° QSP	100 cc

#### REACTIF DE BALJET:

Acide picrique	1g
Ethanol 50° QSP	100 cc

#### REACTIF DE VALSER MEYER:

Iodure de potassium	25 g
Chlorure mercurique	6,77 g
Eau distillée	250 cc

### ANNEXES N°3

Liste des formules chimiques

HCl : Acide Chlorhydrique

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : Acide Sulfurique

NH<sub>4</sub>OH : Ammoniaque

B.A.W : Butanol Acetic Acid Water

CHCl<sub>3</sub> : Chloroforme

FeCl<sub>3</sub> : Chlorure Ferrique

H<sub>2</sub>O : Eau

KOH : Hydroxyde de Potassium

MeOH : Méthanol

CUSO<sub>4</sub> : Sulfate de Cuivre

CCl<sub>4</sub> : Tétrachlorure de Carbone

### ANNEXES N°4

Volume des matériels de dosage

1 cuillerée à café.....environ 5 ml

1 cuillerée à soupe -----15 ml

1 verre-----70 ml

1 grand verre -----150 ml

1 pommée -----25 ml

1 bol -----375 ml

1 pot -----1litre

1 petitealebasse -----500 ml

1alebasse moyenne -----4 litres

1alebasse -----5-6 litres

1 petit sceau d'eau -----3-4 litres

1/2sceau d'eau -----3- 4 litres

1 sceau d'eau -----5- 6 litres

1 puisette d'eau -----3- 4 litres

1 canari d'eau ----- 3- 4,5 litres

## **FICHE SIGNALYSATIQUE**

**TITRE:** Etude de la toxicité et activité antioxydant de *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens*.

**NOM:** TRAORE

**PRENOM:** PHILIPPE

**VILLE DE SOUTENANCE:** Bamako

**PAYS D'ORIGINE:** Mali

**LIEU DE DEPOT:** Faculté de médecine de pharmacie et d'Odonto Stomatologie

**SECTEUR D'INTERET:** Médecine traditionnelle

### **RESUME:**

Notre travail a été basé sur l'étude de l'activité antioxydante et de la toxicité de *Calotropis procera*, *Centaurea perrottetii*, *Euphorbia sudanica* et *Hyptis suaveolens* récoltées au Mali.

Le scrining phytochimique a été effectué sur l'ensemble de nos plantes et activité antioxydante.

Cette activité antioxydante a été positive seulement avec les extraits aqueux et hydroéthanolique d'*Hyptis suaveolens*.

L'étude de la toxicité aigue par voie orale a montré une faible toxicité de nos plantes étudiées avec une DL50 supérieure à 2g/kg. En plus de la toxicité aigue nous avons effectué une étude de la toxicité sub-aigue de l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii*. Cependant l'extrait aqueux de *Centaurea perrottetii* a entraîné une augmentation des transaminases par rapport à celles des souris normales.

Mots clés : *Calotropis procera*- *Centaurea perrottetii*- *Euphorbia sudanica*-  
*Hyptis suaveolens*- Phytochimie- Toxicitéaigue- Toxicité sub-aigue-  
Antioxydant

## **SERMENT DE GALIEN**

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples:

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement;
- D'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et de sa dignité humaine.
- En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.
- Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.
- Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.

**Je le jure !**

