

BURKINA FASO

Année académique 2000 - 2001

Thèse N°

Université de Ouagadougou

Unité de Formation et de Recherche / Sciences de la Santé (U.F.R / S.D.S)

Section Pharmacie

Etude pharmacochimique du macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) utilisées en phytothérapie de la maladie drépanocytaire au Burkina Faso.

Thèse soutenue publiquement le 16 mars 2001 en vue de l'obtention du grade de **Docteur d'Etat en Pharmacie (diplôme d'Etat)**

par Monsieur OUEDRAOGO Moustapha né en 1975 à Kiembara.

Directeur de thèse : Pr. Innocent Pierre GUISSOU

Codirecteur : Dr. Sylvain OUEDRAOGO

Président du Jury : Pr. Emmanuel BASSENE Université Cheick Anta DIOP
de Dakar

Membres du jury :

Pr. Innocent Pierre GUISSOU

Université de Ouagadougou

Pr. Agrégé Ludovic KAM

Université de Ouagadougou

Dr. Jean Baptiste NIKIEMA

Université de Ouagadougou

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

**Unité de Formation et de Recherche
des Sciences de la Santé
(UFR/SDS)**

LISTE DU PERSONNEL ADMINISTRATIF

Directeur	Pr. Amadou SANOU
Directeur Adjoint	Pr .Ag. Y. Joseph DRABO
Directeur de la Section Pharmacie	Pr . I. Pierre GUISSOU
Directeur des Stages de la Section Médecine	Pr. Ag. Y. Joseph DRABO
Directeur des Stages de la Section de Pharmacie	Dr OUEDRAOGO / Rasmata TRAORE
Coordonnateur C.E.S. de Chirurgie	Pr. Amadou SANOU
Secrétaire Principal	M. Fakouo TRAORE
Chef de Service Administratif et Financier (CSAF)	Mme Christine NARE
Conservateur de la Bibliothèque	M. Salif YADA
Chef de la Scolarité	Mme Kadi ZERBO
Secrétaire du Directeur	Mme Habi KEITA
Secrétaire du Directeur Adjoint	Mme KALBRE Hakiéta
Audiovisuel	M. Alain Pascal PITROIPA
Reprographie	M. Abdoulaye BAGUYAN
Service Courrier	M. Ousmane SAWADOGO

LISTE DES ENSEIGNANTS DE L'UFR/SDSENSEIGNANTS PERMANENTSProfesseurs titulaires

Rambré Moumouni OUIMINGA	Anatomie organogénèse et chirurgie
Hilaire TIENDREBEOGO (in memoriam)	Sémiologie et Pathologies médicales
Tinga Robert GUIGUEMDE	Parasitologie
Bobilwindé Robert SOUDRE	Anatomie-Pathologique
Amadou SANOU	Chirurgie Générale et Digestive
Innocent Pierre GUISSOU	Pharmacologie & Toxicologie
Bibiane KONE	Gynécologie - Obstétrique
Alphonse SAWADOGO	Pédiatrie

Professeurs associés

Blaise KOUDOGBO	Toxicologie
-----------------	-------------

Maîtres de Conférences

Julien YILBOUDO	Orthopédie -Traumatologie
Kongoré Raphaël OUEDRAOGO	Chirurgie -Traumatologie
François René TALL	Pédiatrie
Jean KABORE	Neurologie
Joseph Y. DRABO	Médecine Interne/Endocrinologie
Blaise SONDO	Santé Publique
Jean LANKOANDE	Gynécologie-Obstétrique
Issa SANOU	Pédiatrie
Ludovic KAM	Pédiatrie
Adama LENGANI	Néphrologie

Oumar TRAORE N°1	Orthopédie-Traumatologie
Kampadilemba OUOBA	Oto Rhino Laryngologie
Piga Daniel ILBOUDO	Gastro-entérologie
Albert WANDAOGO	Chirurgie Pédiatrique
Adama TRAORE	Dermatologie Vénérologie
Mamadou SAWADOGO	Biochimie
Arouna OUEDRAOGO	Psychiatrie
Joachim SANOU	Anesthésie-Réanimation
Théophile L. TAPSOBA	Biophysique - Médecine Nucléaire

Assistants associés

Valérie MURAILLE	Galénique et Chimie-Analytique
------------------	--------------------------------

Maîtres-Assistants

Lady Kadidiatou TRAORE	Parasitologie
Si Simon TRAORE	Chirurgie
Abdoulaye TRAORE	Santé Publique
Daman SANO	Chirurgie Générale
Patrice ZABSONRE	Cardiologie
Jean Gabriel OUANGO	Psychiatrie
Georges KI-ZERBO	Maladies Infectieuses
Rabiou CISSE	Radiologie
Blami DAO	Gynécologie Obstétrique
Alain BOUGOUMA	Gastro-Entérologie
Boubacar TOURE	Gynéco-Obstétrique
Michel AKOTIONGA	Gynécologie-Obstétrique

Rasmata	OUEDRAOGO/TRAORE	Bactério-Virologie
Alain	ZOUBGA	Pneumologie
Boubacar	NACRO	Pédiatrie
Abel	KABRE	Neuro-Chirurgie
DAO / Maïmouna	OUATTARA	ORL
KYELEM / Nicole Marie	ZABRE	Maladies Infectieuses
TRAORE / Antoinette	BELEM	Pédiatrie
Kapouné	KARFO	Psychiatrie
Timothée	KAMBOU	Chirurgie
Jean Baptiste	NIKIEMA	Pharmacognosie
Ali	NIAKARA	Cardiologie

Assistants Chefs de cliniques

T.Christian	SANOUE (in memoriam)	Oto Rhino Laryngologie
Doro	SERME (in memoriam)	Cardiologie
Hamadé	OUEDRAOGO	Anesthésie-Réanimation physiologie
Alexis	ROUAMBA	Anesthésie-Réanimation physiologie
M. Théophile	COMPAORE	Chirurgie
Y. Abel	BAMOUNI	Radiologie
K. André	SAMANDOULOUGOU	Cardiologie
Rigobert	THIOMBIANO	Maladies Infectieuses
Raphaël	DAKOURE	Anatomie-Chirurgie

Assistants

O Robert.	ZOUNGRANA	Physiologie
Bobliwendé	SAKANDE	Anatomie-Pathologique
Raphaël	SANOUE (in memoriam)	Pneumo-phtisiologie
Oumar	TRAORE N°2 (in memoriam)	Radiologie
Pingwendé	BONKOUNGOU	Pédiatrie
Arsène M. . D.	DABOUE	Ophthalmologie
Nonfounikoun Dieudonné	MEDA	Ophthalmologie
Athanase	MILLOGO	Neurologie
Vincent	OUEDRAOGO	Médecine du Travail
Christophe S.	DA	Chirurgie
Nazinigouba	OUEDRAOGO	Réanimation
Aurélien Jean	SANON	Chirurgie
LOUGUE / SORGHO	Claudine	Radiologie
YE / OUATTARA	Diarra	Pédiatrie
Bernabé	ZANGO	Chirurgie
Valerie L. Adélaïde	NEBIE	Cardiologie
Blandine	THIEBA	Gynécologie-Obstétrique
Abdel Karim	SERME	Gastro-Entérologie
Moussa	BAMBARA	Gynécologie-Obstétrique
Fatou	BARRO	Dermatologie
Olga	LOMPO	Anatomie Pathologique
Appolinaire	SAWADOGO	Gastro-Entérologie
Martial	OUEDRAOGO	Pneumo-Phtisiologie
Moussa	KERE	Santé Publique

Laurent OUEDRAOGO		Santé Publique
Innocent	NACOULMA	Orthopédie-Traumatologie
Pascal. Antoine	NIAMPA	Dermatologie
MILLOGO/TRAORE	Françoise Danielle	Gynécologie-Obstétrique
Z. Théodore	OUEDRAOGO	Santé Publique
P. André	KOALAGA	Gynécologie-Obstétrique
Emile	BANDRE	Chirurgie générale et digestive
Syranyan	SEKOULE	Psychiatrie
Dieudonné	OUEDRAOGO	Chirurgie maxilo-faciale

Assistants Biologistes des Hôpitaux

Lassina	SANGARE	Bactério-Virologie
Idrissa	SANOU	Bactério-Virologie
Harouna	SANON	Hématologie/Immunologie
Issa	SOME	Chimie Analytique
Rasmané	SIEMDE	Galénique

ENSEIGNANTS NON PERMANENTS

ex. FAST

Professeurs Titulaires

Alfred S.	TRAORE	Immunologie
Akry	COULIBALY	Mathématiques
Sita	GUINKO	Botanique-Biologie Végétale
Guy V.	OUEDRAOGO	Chimie Minérale
Laya	SAWADOGO	Physiologie-Biologie Cellulaire
Laou Bernard	KAM (in memorian)	Chimie
Patoin Albert	OUEDRAOGO	Zoologie

Maîtres de Conférences

Boukary	LÉGMA	Chimie-Physique Générale
François	ZOUGMORE	Physique
Adama	SABA	Chimie Organique
Philippe	SANKARA	Cryptogamie-Phytopharmacie
Gustave	KABRE	Biologie Générale

Maîtres-Assistants

Makido B.	OUEDRAOGO	Génétique
Raymond	BELEMTOUNGOURI	T.P. Biologie Cellulaire
Drissa	SANOUE	Biologie Cellulaire

Assistants

Apolinaire	BAYALA (in memoriam)	Physiologie
Jeanne	MILLOGO	T.P. Biologie-Végétale

Institut du Développement Rural (IDR)**Maîtres de Conférences**

Didier	ZONGO	Génétique
Georges Annicet	OUEDRAOGO	Biochimie

**Unité de Formation et de Recherche des Sciences
Juridiques, Economiques et de Gestion UFR/SJEG****Maître-Assistant**

Tibo Hervé	KABORE	Economie-Gestion
------------	--------	------------------

Assistants

Mamadou	BOLY	Gestion
---------	------	---------

Assistants

Jean Claude	TATTA	Droit
-------------	-------	-------

ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mme Henriette BARY		Psychologie
Aimé	OUEDRAOGO	Ophthalmologie
R. Joseph	KABORE	Gynécologie-Obstétrique
Dr Bruno	ELOLA	Anesthésie-Réanimation
Dr Michel	SOMBIE	Planification
Dr Nicole	PARQUET	Dermatologie
M.	GUILLERET	Hydrologie
M. DAHOU (in mémoriam)		Hydrologie
Dr Bréhima	DIAWARA	Bromatologie
Dr Annette	OUEDRAOGO	Stomatologie
Dr Adama	THIOMBIANO	Législation Pharmaceutique
Dr Sidiki	TRAORE	Galénique
Mr Mamadou	DIALLO	Anglais
Dr Badioré	OUATTARA	Galénique
Dr Alassane	SICKO	Anatomie
Dr Aline	TIENDREBEOGO	Chimie Analytique et contrôle médic.
Dr Noël	ZAGRE	Nutrition
Dr TRAORE / COULIBALY Maminata		Biochimie
Dr Seydou	SOURABIE	Pharmacognosie

ENSEIGNANTS MISSIONNAIRES**A.U.P.E.L.F.**

Pr. Laminc	DIAKHATE	Hématologie (Dakar)
Pr. Abibou	SAMIS	Bactério-Virologie (Dakar)

Pr. José Marie AFOUTOU	Histologie-Embryologie (Dakar)
Pr. Makhtar WADE	Bibliographie (Dakar)
Pr. M. K. A. EDEE	Biophysique (Lomé)
Pr. Ag. Mbayang NDIAYE-NIANG	Physiologie (Dakar)
Pr. Ag. R. DARBOUX	Histologie-Embryologie (Bénin)
Pr. Ag. E. BASSENE	Pharmacognosie (Dakar)
Pr. M. BADIANE	Chimie Thérapeutique (Dakar)
Pr. B. FAYE	Pharmacologie (Dakar)
<u>O.M.S.</u>	
Dr Jean-Jacques BERJON	Histologie-Embryologie (Creteil)
Dr Frédéric GALLEY	Anatomie Pathologique (Lille)
Dr Moussa TRAORE	Neurologie (Bamako)
Pr. Auguste KADIO	Pathologies infectieuses et parasitaires (Abidjan)
Pr. Jean Marie KANGA	Dermatologie (Abidjan)
Pr. Arthur N'GOLET	Anatomie Pathologique (Brazzaville)
<u>Mission Française de Coopération</u>	
Pr. Etienne FROGE	Médecine Légale
Pr. AYRAUD	Histologie-Embryologie
Pr. Henri MOURAY	Biochimie (Tours)
Pr. Denis WOUESSI DJEWE	Pharmacie Galénique (Grenoble / France)
Pr. M. BOIRON	Physiologie
<u>Mission de l'Université Libre de Bruxelles (ULB)</u>	
Pr. Marc VAN DAMME	Chimie Analytique-Biophysique
Pr. Viviane MOES	Galénique

*Nous dédions ce
travail ...*

A Dieu, le tout puissant

C e n'est que par votre grâce que ce travail a été possible. Que votre paix soit sur nous, pécheurs.

A mes « papas »

Oui, à mes papas! Dieu m'en a donné deux .Qu'il en soit remercié.

Au premier, vos multiples charges familiales ne vous ont pas empêché de me soutenir tout le long de mon cursus scolaire et universitaire. Je garde de vous l'image d'un père ayant un goût prononcé du travail bien fait . Ce travail est le couronnement de tout ce que vous avez fait pour moi. Il est le vôtre. En ces moments de joie, mon seul regret est que vous ne pourrez pas assister à cette soutenance pour raisons de santé. Bon rétablissement Papa !

Au second ,votre handicap n'a en rien entacher l'amour qu'un père peut avoir pour son fils. Vous partagez avec le premier le même goût du travail. Je reste conscient que je dois me battre pour vous faire honneur, pour me montrer digne de vous .

A mes Mamans

En matière de Mamans, je suis un nanti. Merci pour tous les soins dont vous m'avez entouré dès mon jeune âge. Mais permettez-moi de m'adresser plus particulièrement à ma mère (ne dit-on pas souvent qu'on a qu'une seule mère?). Merci pour tout l'amour que vous avez pour votre fils. Je ne ménagerai aucun effort pour vous rendre heureuse.

A mon cousin Yacouba Tinto

Je dirai que vous êtes pour moi un frère au vrai sens du mot. Dès mes premiers pas à l'université (moments très difficiles pour moi) ,vos conseils, vos aides m'ont été d'une grande importance. Vos indéniables qualités humaines restent pour moi une source d'inspiration .J'ai un devoir envers vous: ne pas décevoir.

Aux Tontons Abdoulaye et Idrissa et au cousin Seydou

J'ai beaucoup bénéficié de vos précieux conseils, de vos soutiens non négligeables. Soyez en remerciés.

A mes frères et soeurs :

Omar , Fati ,Adama , Abdoulaye ,Harouna ,Issa, Souley et tous les autres. Restons unis car de combats futurs s'annoncent à l'horizon . A Mariam

(in mémorial) ! tu es partie à la fleur de l'âge, nous laissant meurtris. Oh Seigneur! que ta volonté soit faite.

A ma chérie Batouri

L'amour que nous avons l'un pour l'autre depuis de nombreuses années a à un moment contribué à mes succès scolaires .Tu sais rester auprès de moi au moment où j'ai le plus besoin de toi .De ton réconfort, j'en aurai toujours besoin pour relever des défis. Partage avec moi ces moments de joie.

A M. Tao Niandékaye.

Dès mon entrée à l'Université, en bon aîné vous avez participé à votre manière à m'assurer de bonnes conditions d'études.

A mes promotionnaires de la Faculté des sciences de la santé :

SERME, SINON, Ali, Siaka, YAGO, DANTE, Myriam, Soul « power », SOMA et tous les autres. Je regrette déjà les bons moments que nous avons passés ensemble sur les bancs.

Enfin, à tous les Hommes pour qui le sens de l'honneur, la Probité ne sont pas de vains mots.



Remerciements

*A notre Directeur de thèse , **Monsieur Innocent Pierre GUISSOU**, Professeur titulaire de pharmaco-toxicologie, chef du département ME.PHA.TRA./PH de l'I.R.S.S , du Laboratoire de Biochimie du Centre Hospitalier National Yalgado Ouédraogo (C.H.N.Y.O) .*

Malgré vos multiples occupations vous avez accepté diriger ce travail . Qu'il me soit permis ici de vous en remercier. Votre rigueur scientifique et votre amour du travail bien fait m'ont séduit tout le long de mon cursus universitaire. Vous restez pour moi un exemple à suivre. Merci aussi pour la confiance que vous avez placée en ma modeste personne en me confiant ce travail.

*A notre Maître et Juge, **Monsieur Emmanuel BASSENE**, Professeur titulaire de Pharmacognosie à l'Université Cheick Anta DIOP de Dakar.*

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury. Pendant vos cours de Pharmacognosie dont j'ai bénéficiés, et en d'autres circonstances vous avez fait preuve de nombreuses qualités scientifiques et humaines. Vos observations contribueront (à n'en pas douter) à rehausser la qualité de notre travail.

*A notre maître et juge, **Monsieur Ludovic KAM**, Professeur Agrégé en Pédiatrie. Bien que n'ayant pas eu le privilège de bénéficier de vos enseignements, les rares fois qu'on s'est « frotté » m'ont permis de garder de vous l'image d'un homme aux qualités scientifiques et humaines impressionnantes.*

*A notre Codirecteur de thèse, le **Docteur Sylvain OUEDRAOGO** , Chargé de recherche en Pharmacologie au département ME.PHA.TRA./PH de l'I.R.S.S.*

Ce travail a bénéficié aussi de vos touches. Il est également le vôtre. Votre sens élevé du travail scientifique, votre simplicité et votre disponibilité ont facilité la réalisation de ce travail .

*A notre maître et juge, le **Dr. Jean-Baptiste NIKIEMA**, Maître-assistant en Pharmacognosie.*

Toute ma reconnaissance pour les enseignements de qualité que j'ai reçu de vous. Votre rigueur scientifique doublée de votre modestie font de vous un exemple à suivre.

A tout le personnel du département ME.PHA.TRA./PH de l'I.R.S.S.

Merci pour votre franche collaboration à la réalisation de ce travail. Des noms comme les Docteurs M. LOMPO, N.SOME, F.KINI me rappelleront l'image d'hommes travailleurs, ayant le sens de la collaboration et ouverts aux débats scientifiques. Je ne passerai pas sous silence le nom d'un homme dévoué au travail, ayant un sens élevé de la conscience professionnelle, toujours volontiers : J'ai nommé YARO Aboubacar du Laboratoire de Chimie.

*A mes maîtres de stages, les Docteurs **Félix OUEDRAOGO** et **Soumaila SARE**. Merci de m'avoir ouvert les portes de vos officines pharmaceutiques. J'en suis reconnaissant.*

*Au personnel de la Banque de sang du Centre Hospitalier National Yalgado **OUEDRAOGO (C. H.N.Y.O)**.*

Merci pour votre saine collaboration au cours de mon stage interné dans le service.

*A **M.KARAMBIRI Yacouba** Informaticien au CENATRIN et à **M. SEBRE Aboubacar** à la Pharmacie Ar-rahma. Votre spontanéité à m'aider à la mise en forme de ce document m'a marqué. Toute ma reconnaissance.*

« Par délibération, l'Unité de Formation et de Recherche /Sciences de la santé (U.F.R/SDS) a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ou improbation.

« Nous avons tout sur place. Ce qui nous fait défaut, ce sont des laboratoires de recherches bien outillés et des spécialistes sérieux animés d'un solide esprit de découverte. » :

||
Dominique TRAORE, un pionnier de la recherche sur la pharmacopée et la médecine traditionnelles au Mali. [*in* ROUGEMONT et coll., 1989]

SOMMAIRE

PAGES

Première partie : Présentation de l'étude

I. INTRODUCTION / ENONCE DU PROBLEME 7

II. OBJECTIFS 10

Deuxième partie

GENERALITES : Rappels bibliographiques

I. La drépanocytose 11

II. *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) 16

III. Groupes phytochimiques hydrosolubles à propriétés anti-inflammatoires et/ou antispasmodique et/ou antifalcémiantes 20

IV. Caractéristiques de la toxicité générale aiguë d'une drogue végétale. 21

Troisième partie : NOTRE TRAVAIL

Chapitre I : Matériel et méthodes 25

I. <u>Cadre de l'étude</u>25
II. <u>Matériel d'études</u>25
II.1. <u>Matériel d'études phytochimiques</u>	
II.2. <u>Etudes biologiques</u>	
III. <u>Méthodes d'étude</u>27
III.1. <u>Etude phytochimique</u>	
III.2. <u>Etudes biologiques</u>	
III.2.1. La toxicité de <i>Calotropis procera</i> Ait.	
III.2.2. L'activité antifalcémiant	
III.2.3. L'activité anti-inflammatoire	
III.2.4. L'activité relaxante de la musculature lisse	
IV. <u>Méthodes d'analyses des résultats</u>35
IV.1. <u>Données phytochimiques</u>	
IV.2. <u>Etudes biologiques</u>	

Chapitre II : <u>Résultats de l'étude</u>39
I. <u>Caractéristiques phytochimiques</u>39
II. <u>Etudes biologiques</u>47
II.1. La Toxicité de <i>Calotropis procera Ait.</i>	
II.2. L'activité antifalcémiante	
II.3. L'activité anti-inflammatoire	
II.3. L'activité relaxante de la musculature lisse	
Chapitre III : <u>Commentaires et discussions</u>72
I. <u>Etudes phytochimiques</u>72
II. <u>Etudes biologiques</u>73
II.1. La toxicité de <i>Calotropis procera Ait.</i>	
II.2. L'activité antifalcémiante	
II.3. L'activité anti-inflammatoire	
II.4. L'activité relaxante de la musculature lisse.	
<u>CONCLUSION</u>80

PERSPECTIVES

.....82

Bibliographie

.....83

Résumé

.....89

Annexes

INTRODUCTION /ENONCE DU
PROBLEME

I. INTRODUCTION / ENONCE DU PROBLEME

La drépanocytose ou hémoglobinose S est une maladie héréditaire résultant d'une anomalie structurale de l'hémoglobine normale [Hb A].

Biologiquement, elle se caractérise par la présence d'hémoglobine S dans les globules rouges [WAJCMAN et coll.,1992].

Cliniquement, les crises drépanocytaires se manifestent par des accidents aigus douloureux qui émaillent la vie des malades. Ces signes sont plus révélateurs de la maladie drépanocytaire que ne l'est l'anémie [BEGUE, 1984].

Cette maladie sévit un peu partout dans le monde et surtout au sein de la race noire. Chez les noirs des Etats Unis d'Amérique 7 à 10% sont porteurs de la tare [PEQUIGNOT,1964]. Ce sont essentiellement les noirs africains vivants entre le 15^e parallèle de latitude Nord et le 20^e parallèle de latitude Sud qui sont les plus atteints; en effet 5 à 20% de la population portent le trait drépanocytaire [Le BRAS,1987 ; TESTA et coll.,1989]. Ces chiffres correspondent à un pourcentage d'homozygote de 1 à 3% [BEAUVAIS,1981].

De 1987 à 1989, les enfants drépanocytaires ont représenté 2,92% des admissions dans le service de Pédiatrie du Centre hospitalo-universitaire de Lusaka (Zambie). Parmi eux, 22,72% y ont trouvé la mort du fait des crises vaso-occlusives [ATHALE et coll.,1994].

Plus près de nous, 1,66% des enfants hospitalisés entre janvier 1994 et décembre 1995 au Centre hospitalier départemental du Zou (Benin) étaient des drépanocytaires homozygotes SS ou double hétérozygotes SC [SOSSOU et coll.,1998].

La fréquence de la drépanocytose en Cote d'ivoire a été de 12% en 1989 [ANDRE et coll.,1989]. Au Burkina Faso, cette fréquence a été de l'ordre de 17% en 1982 [BROUSSAL et coll., 1982].

Socialement, le drépanocytaire homozygote était l'objet de nombreuses discriminations. Discriminations des parents, des camarades d'école, des enseignants, qui vont élaborer chez lui une personnalité de « fragile assisté » [LE BRAS,1987]. De nos jours, cette vision que l'on se faisait du drépanocytaire a évolué du fait des sensibilisations qui sont faites en direction de l'entourage du malade.

Lorsque le drépanocytaire est mal pris en charge, son vécu est fait de souffrances intenses, longues et récidivantes.

La drépanocytose est manifestement un problème de santé publique en Afrique noire.

Sur le plan thérapeutique, de nouvelles approches visant à éviter les phénomènes vaso-occlusifs de la drépanocytose sont entrain d'être développées. La première tendance vise à inhiber la polymérisation de l'hémoglobine S par divers moyens (augmentation de la solubilité de l'hémoglobine S, dilution de l'hémoglobine S, prévention médicamenteuse de la déshydratation érythrocytaire, augmentation de l'affinité de l'hémoglobine S pour L'oxygène, stimulation de la production de l'hémoglobine fœtale). La deuxième tendance vise à diminuer le piégeage des érythrocytes en agissant sur le tonus vasculaire ou sur l'adhérence érythrocytaire. La troisième tendance consiste à remplacer le gène anormal en réalisant une transplantation médullaire ou en recourant à une thérapie génique. [FONDU,1999] .

Cependant, comme pour beaucoup d'autres maladies génotypiques, la drépanocytose ne connaît pas à l'heure actuelle de traitement de fond [GALACTEROS ,1981].

L'ambition des praticiens est d'améliorer la qualité de vie des malades. Ainsi la plupart d'entre eux prescrivent un traitement purement symptomatique ou physiopathologique.

Les répercussions socio-économiques néfastes sont indéniables pour les populations quant on connaît le coût prohibitif des spécialités pharmaceutiques de la drépanocytose à efficacité pas toujours évidente, le caractère familial et chronique de la maladie.

Face à cette situation, l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (I.R.S.S) a entrepris de valoriser un produit alternatif de la médecine traditionnelle entrant dans le traitement de la maladie drépanocytaire au Burkina Faso: le FACA[®] (mélange de poudres de deux drogues végétales dont une poudre d'écorces de racines de *Calotropis procera Ait (Asclepiadaceae)* .

Cette poudre s'est révélée cliniquement efficace dans le traitement de la crise drépanocytaire chez des enfants au Centre Hospitalier National Yalgado Ouédraogo de Ouagadougou [GUISSOU et coll.,1995].

Les études pharmacologiques de *Calotropis procera Ait.(Asclepiadaceae)*, objet de notre travail ont porté jusqu'ici sur les propriétés analgésique, antipyrétique, bactéricide (MASCOLLO et Coll.,1988), antitussive (DIEYE et coll.,1993), anti-inflammatoire (KUMAR et coll.,1994), antifongique (VOHORA et coll.,1997). L'action de *Calotropis procera Ait.(Asclepiadaceae)* sur la contraction des muscles lisses a fait l'objet d'études.

Le but de notre étude est de trouver des supports pharmaco-chimiques explicatifs de la participation des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. (*Asclepiadaceae*) dans le traitement de la maladie drépanocytaire. L'inflammation, la falciformation et la thrombose étant des composantes de la crise drépanocytaire [BERNARD et coll., 1996], les propriétés antifalcémiantes, anti-inflammatoire et relaxante des muscles lisses vont constituer nos axes de travail. L'étude de l'activité antispasmodique de la « drogue » sur un intestin isolé de rat a servi de modèle d'étude de la dernière propriété.

La seule efficacité pharmacologique d'une substance ne peut justifier son introduction en thérapeutique. En effet, elle ne doit pas produire d'effets toxiques aux doses thérapeutiques. Aussi, une étude de toxicité aiguë a été réalisée.

Le but de notre étude est de trouver des supports pharmaco-chimiques explicatifs de la participation des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. (*Asclepiadaceae*) dans le traitement de la maladie drépanocytaire. L'inflammation, la falciformation et la thrombose étant des composantes de la crise drépanocytaire [BERNARD et coll., 1996], les propriétés antifalcémiantes, anti-inflammatoire et relaxante des muscles lisses vont constituer nos axes de travail. L'étude de l'activité antispasmodique de la « drogue » sur un intestin isolé de rat a servi de modèle d'étude de la dernière propriété.

La seule efficacité pharmacologique d'une substance ne peut justifier son introduction en thérapeutique. En effet, elle ne doit pas produire d'effets toxiques aux doses thérapeutiques. Aussi, une étude de toxicité aiguë a été réalisée.

II. OBJECTIFS DE L'ETUDE

Objectif général :

Etudier des propriétés pharmacochimiques du macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. (*Asclepiadaceae*) utilisées en phytothérapie de la maladie drépanocytaire au Burkina Faso.

Objectifs spécifiques :

1. Caractériser des composantes phytochimiques du macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. (*Asclepiadaceae*).
2. Evaluer la toxicité aiguë du macéré.
3. Mesurer l'activité antifalcémiant de macéré.
4. Tester les propriétés anti-inflammatoires et relaxante des muscles lisses du macéré.

GENERALITES : RAPPELS
BIBLIOGRAPHIQUES

GENERALITES : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I. LA DREPANOCYTOSE

I.1. Définition :

La drépanocytose ou hémoglobinose S est une maladie héréditaire résultant d'une anomalie structurale de l'hémoglobine normale (HbA). En effet, cette anomalie est une substitution d'un acide glutamique par une valine en position 6 de la chaîne β de l'hémoglobine . [WAJCMAN et coll.,1992]

La drépanocytose a de nombreux synonymes :

- sicklanémie,
- sicklémie,
- anémie à hématies falciformes,
- anémie de Herrick,
- anémie de Dresbach,
- syndrome de Dresbach,
- maladie de Herrick,
- anémie drépanocytaire . [MANUILA et coll.,1970]

I.2. Physiopathologie

La modification de la structure de l'hémoglobine A (HbA) en hémoglobine S (Hbs) favorise la polymérisation de la forme désoxygénée. Cette polymérisation entraîne une déformation des hématies qui prennent une forme en faucilles (drépanocytes). Elle se fait généralement à basse pression en oxygène. [WAJCMAN et coll.,1992]

Les drépanocytes tendent à bloquer les petits vaisseaux et provoquent des thromboses [BERNARD et coll., 1996]. Ces thromboses sont à l'origine de phénomènes inflammatoires au niveau des territoires osseux, péri-articulaires, et des tissus mous. [BEGUE, 1984]

I.3. Symptomatologie [BEGUE, 1984 ; BERNARD et coll.,1996]

On distingue une forme homozygote et des formes hétérozygotes :

I.3.1. La drépanocytose homozygote : forme SS :

Elle se manifeste déjà dès la petite enfance par une altération de l'état général, des douleurs articulaires fébriles, des douleurs abdominales, un ictère hémolytique ou parfois des ulcères de jambe.

Elle évolue vers des crises d'hémolyses répétées et surtout par des crises de thromboses avec des symptômes variables : infarctus spléniques (favorisant les infections) ,viscéraux et osseux.

I.3.2. Les formes hétérozygotes :

◆ Forme AS :

Elle est pratiquement asymptomatique. Elle peut se manifester par une hématurie ou par un infarctus ou micro infarctus splénique à long terme.

◆ Forme SC ou double hétérozygotisme SC :

Les signes sont moins sévères que dans la drépanocytose homozygote.

◆ Association drépanocytose-Hb Lepore :

Elle se manifeste cliniquement de la même manière que la drépanocytose homozygote.

◆ Association HbS-HbD Pundjad :

Elle présente la même sévérité que l'hémoglobinose SS.

◆ Association de la drépanocytose à une thalassémie :

- β -thalassodrépanocytose ou microdrépanocytose

- α -thalassémie et drépanocytose SS :

La survie de ces malades est prolongée par rapport aux drépanocytaires homozygotes simples.

- α -thalassemie et drépanocytose hétérozygote :
Cette association est bien tolérée cliniquement.

En outre, les facteurs déclenchant les crises drépanocytaires sont entre autres, l'infection (source d'acidose et de fièvre), l'humidité, le froid, le surmenage, l'altitude, la déshydratation due aux gastro-entérites.

I.4. Thérapeutique de la drépanocytose

Il n'existe pas de traitement standard de la drépanocytose. [SANGARE, 1990]

I.4.1. Traitement de la crise vaso-occlusive. [BEGUE, 1984 ; SANGARE, 1990]

- La réhydratation :

Une réhydratation rapide, contrôlée est un geste essentiel dans le traitement de la crise drépanocytaire. Elle permettra de diminuer les facteurs de viscosité, d'hémoconcentration qui sont sources de thromboses, d'anoxie, et d'acidose.

- La transfusion sanguine :

Sa pratique systématique est à éviter à cause du risque d'augmentation de la viscosité sanguine. Elle n'est indiquée que dans les cas précis suivants :

- * Une anémie aiguë ou une anémie où le taux d'hémoglobine est inférieur à 6g/dl,
- * Des thromboses d'organes nobles (cerveau, rein, poumon...),
- * Une préparation à une intervention chirurgicale importante.

- Autres médicaments :

- * Les antalgiques : des antalgiques comme l'aspirine et le paracétamol sont utilisés. Le premier agit aussi comme anti-agrégant plaquettaire.

- * Les anti-inflammatoires : les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme le kétoprofène peuvent être utilisés.
- * Les vaso-dilatateurs : Ils semblent abrégé la durée de la crise lorsqu'ils sont administrés précocement. Exemples : dihydroergotoxine, vincamine.
- * L'oxygène : il est indiqué dans les accidents cérébraux, dans les défaillances cardiaques et dans les crises anémiques.
- * Molécules à visée « spécifique » anti-drépanocytaire : leur but est de diminuer la durée de la crise en agissant sur les hématies falciformes ou sur les troubles hémobiologiques qui l'accompagnent. Les perfusions d'urée , de cyanate de sodium, de pentoxyfylline en sont des exemples.

I.4.2. Traitement des complications

- Les thromboses : les thromboses cérébrales, abdominales, et surtout osseuses nécessitent une perfusion contrôlée rapide et une exsanguino-transfusion.
- Les infections : Une antibiothérapie à large spectre doit être faite chez l'enfant drépanocytaire fébrile.
- La transplantation médullaire est actuellement envisagée dans le traitement de la drépanocytose.

I.5. Des médicaments de la crise drépanocytaire

I.5.1. Les antalgiques :

Ce sont des médicaments à action symptomatique. Ils atténuent ou abolissent les sensations douloureuses sans agir sur l'étiologie de la douleur. [COHEN, 1997]

Ils sont classés en paliers :

Palier I : il est constitué par des analgésiques périphériques non morphiniques comme l'acide acétyl salicylique, le paracetamol.

Palier II : on peut y citer les morphiniques mineurs comme la codéine, la dextropropoxyphène , la buprénorphine.

Palier III : les morphiniques majeurs comme la morphine le constitue.

A ces antalgiques on associe souvent les co-analgésiques que sont les anti-inflammatoires, les neuroleptiques et les antidépresseurs.

I.5.2. Les anti-inflammatoires :

Les anti-inflammatoires sont des médicaments capables de diminuer ou de supprimer les réactions inflammatoires.

L'inflammation se caractérise cliniquement par la rougeur, la chaleur, l'œdème et la douleur au niveau des tissus atteints.

Deux grandes classes d'anti-inflammatoires sont distinguées :

- Les anti-inflammatoires stéroïdiens,
- les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

Ce sont ces derniers qui sont utilisés dans le traitement de la crise drépanocytaire. Ils sont aussi antipyrétiques mais pas hypothermisant [BOURIN et coll., 1993]. Exemples d'AINS : acide acétyl salicylique (aspirine®), phénylbutazone (butazolidine®), indométacine (indocid®), kétoprofène (profenid®).

I.5.3. Les vasodilatateurs

La vasodilatation modifie la distribution du sang entre des zones normales et des régions ischémisées où la pression artérielle est abaissée. Cette vasodilatation résulte d'une relaxation du muscle lisse vasculaire [CLAUDE, 1988], permettant ainsi une meilleure circulation sanguine et une meilleure oxygénation des organes.

En thérapeutique, les relaxants des muscles lisses (antispasmodiques ou spasmolytiques) sont classés en anticholinergiques et en inhibiteurs du calcium.

- ♦ Les relaxants anticholinergiques , expérimentalement, lèvent les contractions provoquées par l'acétylcholine mais non ceux provoqués par le chlorure de baryum.
- ♦ Les relaxants inhibiteurs du calcium lèvent les contractions de la fibre musculaire lisse provoquées par le chlorure de baryum [COHEN, 1997] . Cette action est possible grâce à l'inhibition du canal calcique de la fibre lisse [LANDRY, 1989].

Quelques molécules vasodilatatrices :

- Co-dergocrine(mésilate) ou dihydroergotoxine (hydergine®) :

il présente une activité vasodilatatrice par blocage des récepteurs alpha. Cette activité pourrait résulter aussi de mécanismes papavériniques.

_ Pentoxifylline (torental®) : elle restituerait aux hématies leur pouvoir de déformabilité diminué dans certaines situations pathologiques. Elle posséderait également une action relaxante sur la fibre musculaire lisse des vaisseaux.

[DUCHENE-MARULLAZ et coll., 1988]

II. *Calotropis procera* Ait.(Asclepiadaceae)

II.1. Description botanique :

Calotropis procera Ait. (Asclepiadaceae) ou arbre à soie en Français, « puspuga » en Mooré, « fogofoko » en Bambara, « buan » en Peul, appartient à la famille des *Asclepiadaceae* [BERHAUT, 1967 ;BERHAUT,1971; HANS-JÜRGEN VON MAYDELL, 1990].

C'est un arbuste pouvant atteindre 5 mètres de hauteur .

Ses feuilles sont oblongues, obovales à largement obovales, cordées à la base abruptement et courtement acuminées jusqu'à 30cm de longueur et 15cm de largeur, coriaces, glauques.

Les inflorescences de *Calotropis procera* Ait.(Asclepiadaceae) sont ombelliformes, pédonculées, extra-axillaires. Les fleurs sont verdâtres avec des taches bleues ou violettes.

Les fruits sont des follicules subglobuleux à ovoïdes, jusqu'à 10 cm de longueur et 8cm de diamètre.

Calotropis procera Ait.(Asclepiadaceae) est répandu dans les régions sèches de l'ancien monde. [ADJANOHOUN et coll., 1987].

CALOTROPIS PROCERA



Figure 1 : *Calotropis procera* Ait.(Asclepiadaceae) [HANS-JÜRGEN VON MAYDELL]

II.2. Usages en médecine traditionnelle

Le macéré aqueux des feuilles de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepiadaceae*) avec le fruit de *Cola nitida* est conseillé en cas de menace d'avortement.

Les feuilles sont mâchées et avalées dans les envenimations par morsure de serpent.

Séchées et pulvérisées, elles sont proposées dans les crises d'asthme.

Le décocté aqueux des feuilles est bu pour traiter la coqueluche et la tuberculose.

Les racines sont utilisées comme anti-asthmatiques et entrent dans le traitement de la folie. [ADJANOHOUN et coll., 1987]

Les racines sont mâchées (sans avaler) pour calmer les maux de dents. Le charbon des racines, les écorces de racines sont employées contre le rhumatisme.[BERHAUT, 1971]

Les feuilles et les racines entrent dans le traitement de la drépanocytose au Burkina-Faso. [NACOUлма, 1996 ; OUATTARA, 1991]

Le suc, caustique, est utilisé comme résolutif, révulsif, rubéfiant contre les douleurs rhumatismales, ou antitussif en application sur la poitrine.[BERHAUT, 1971]

En Arabie Saoudite ,la décoction des parties aériennes de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepiadaceae*) est utilisée dans le traitement de certaines maladies à manifestations fébrile, douloureuse, spasmodique ou à type de constipation. [MOSSA et coll.,1991]

II.3. Propriétés pharmacologiques établies

L'extrait éthanolique des feuilles de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepiadaceae*) a montré une activité insecticide contre *Sarcophaga haemorrhoidalis*. [LE, 1997]

L'activité anti-inflammatoire du latex de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepiadaceae*) a été démontrée par KUMAR et coll.(1994).

L'extrait éthanolique des fleurs de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepiadaceae*) a montré une activité anti-inflammatoire, antipyrétique, légèrement analgésique, bactéricide.[MASCOLO et coll.,1988]

Des extraits organiques des fleurs ont montré une activité antifongique contre *Candida albicans*. [VOHORA et coll., 1997]

L'extrait chloroformique des racines de *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) inhibent les ulcères gastriques provoqués par l'aspirine, l'indométacine, l'éthanol, ou par le stress. Il inhibe par ailleurs le métabolisme de l'acide arachidonique. [SEN et coll., 1988]

L'extrait éthanolique des parties aériennes de *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) a une activité antipyrétique, analgésique, bloquante de la transmission neuro-musculaire. Il provoque la contraction de l'intestin isolé de cobaye, laquelle contraction est inhibée par l'atropine. [MOSSA et coll., 1991]

L'extrait aqueux des écorces de tiges a montré une activité antitussive per-os chez le cobaye. [DIEYE et coll., 1993]

Le macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. a présenté une activité antifalcémiant [OUATTARA 1991].

II.4. chimie [KERHARO et coll., 1974]

II.4.1. Le latex

Sept hétérosides y ont été isolés :

◆ Hétérosides de Hess et coll. :

- calotropine
- calactine
- calotoxine
- uscharine
- uscharidine
- voruscharine

◆ Hétéroside de brüschweiller et coll. : proceroside

Ces sept principes chimiques sont cardiotoxiques. Parmi eux, seules l'uscharine et la voruscharine sont des alcaloïdes.

Le latex contient aussi :

- La calotropaine : enzyme protéolytique,
- le taroxstérol
- la β -amyrine et des traces de glutathion

II.4.2. Les feuilles et les tiges contiennent les même substances en particulier la calotropine. La présence d'alcaloïdes a été notée dans l'extrait aqueux de tige d'origine pakistanaise.

III. GROUPES PHYTOCHIMIQUES HYDROSOLUBLES A PROPRIETES ANTI-INFLAMMATOIRE ET/OU ANTISPASMODIQUE ET/OU ANTIFALCEMIANTE :

Le macéré aqueux brut de tout ou partie d'un végétal peut contenir les substances hydrosolubles suivantes :

- les glucides (oses, polyoses, polyuronides),
- les glycosides (hétérosides); Ces glycosides peuvent être triterpéniques, stéroliques, ou des flavonosides, des anthracénosides, des coumarines.
- les alcaloïdes sels. [CIULEI, 1982]

Un certain nombre d'entre ces substances ont une activité anti-inflammatoire et/ou antispasmodique et/ou vasodilatatrice coronarienne et/ ou antifalcémiant.

III.1. Les flavonoïdes

Souvent anti-inflammatoires, les flavonoïdes peuvent être antispasmodiques. [BRUNETON,1993; CHOUCANE et coll.,1993]

III.2. Les coumarines

Leur intérêt pharmacologique est limité, mais il faut noter que la visnadine (qui est une pyranocoumarine isolée de *khella*) est commercialisée pour ses propriétés vasodilatatrices coronariennes et aussi pour son action favorable sur les troubles de la sénescence cérébrale. [BRUNETON,1993]

III.3. les triterpènes et les stérols

Ils peuvent présenter des activités anti-inflammatoire et analgésique. [BRUNETON,1993; VOHORA et coll., 1997]

III.4. Les saponosides

De nombreuses drogues doivent leurs propriétés anti-inflammatoire et anti-œdémateuse à des saponosides. Certains saponosides comme ceux de *Platycodon grandiflorum* Dc. ont des propriétés analgésiques.[BRUNETON,1993]

III.5. Les alcaloïdes

Ce sont des substances très actives à faibles doses, sous forme bases ou sels. Ils ont des propriétés biologiques variées par interaction avec les neuromédiateurs des muscles lisses.

Si certains sont sympathomimétiques (exemple : Ephédrine) ou parasymphatomimétiques (exemple :pilocarpine), d'autres sont anticholinergiques donc antispasmodiques (exemples : Atropine, Hyoscyamine).[BRUNETON,1993]

La papavérine qui est un alcaloïde a une action antispasmodique et hypotensive par vasodilatation périphérique. [DOMART et coll., 1991]

III.6. Autres :

Un acide organique (acide 2-hydroxyméthylbenzoïque) isolé d'une plante a montré une activité anti-falcémiant *in vitro* [SOFOWORA, 1991].

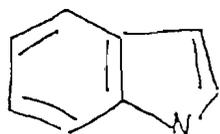
Quelques noyaux de base entrant dans la structure des alcaloïdes :



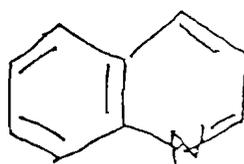
Tropane



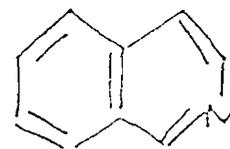
Quinolizidine



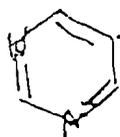
indole



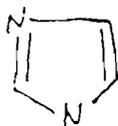
quinoline



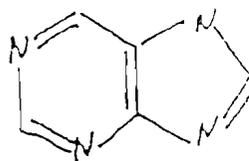
isoquinoline



imidazole

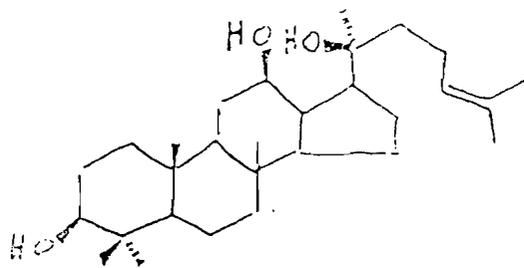
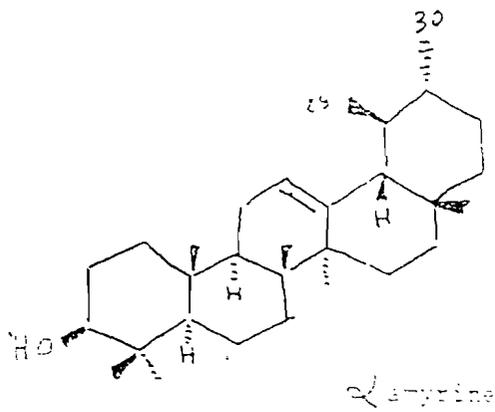
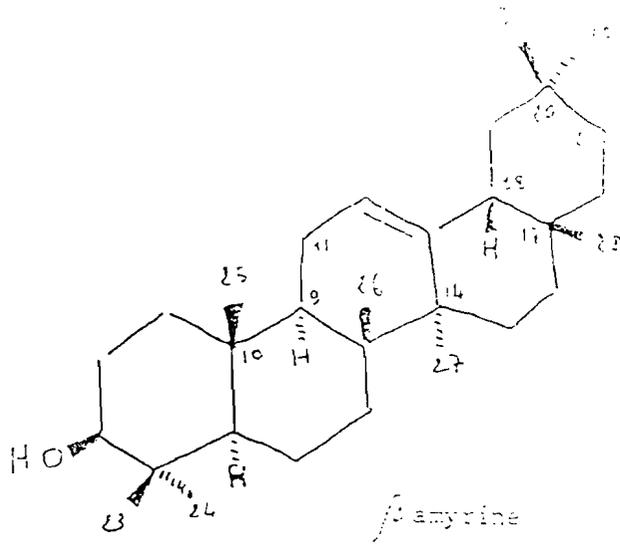


pyrimidine



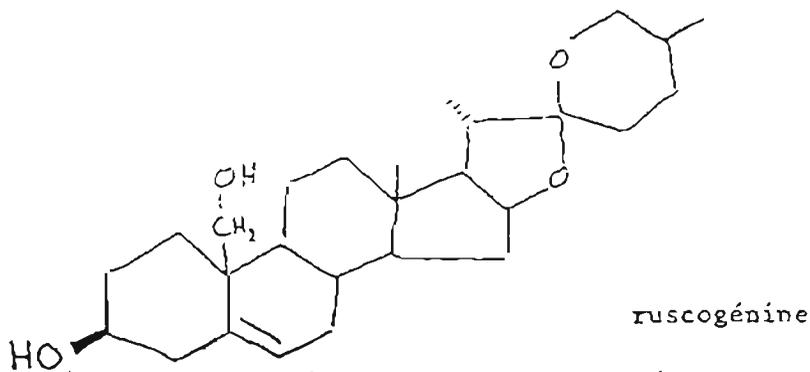
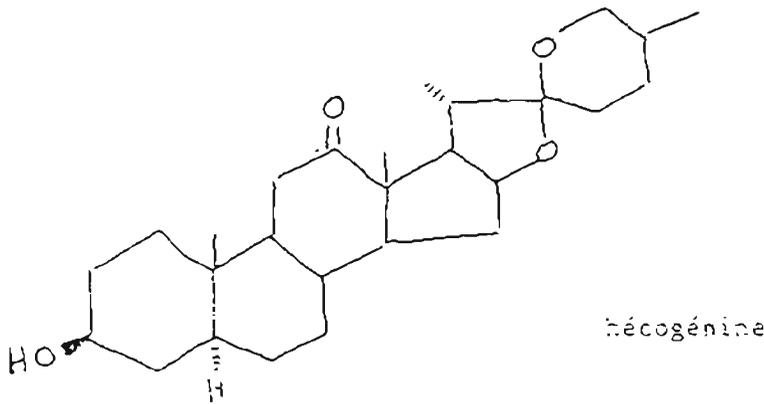
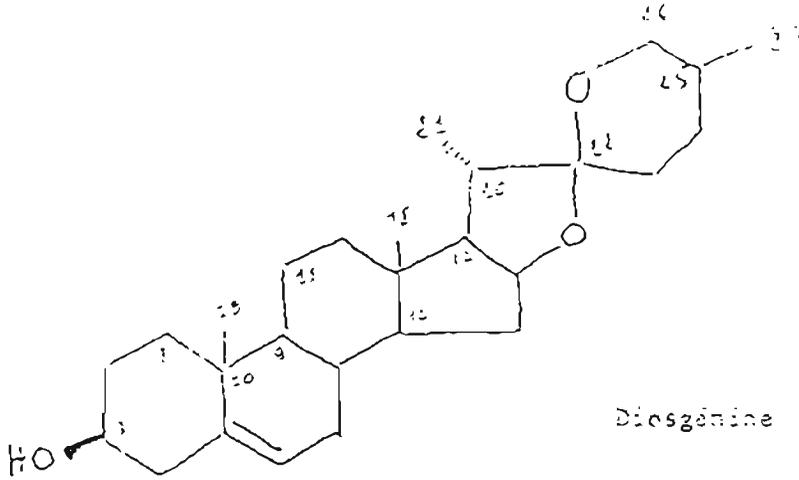
purine

Formules chimiques de quelques génines triterpéniques :



20-S-Protopanaxadiol

Formules chimiques de quelques génines stéroïdiques :



IV. LA TOXICITE GENERALE AIGUE D'UNE DROGUE.

Elle caractérise la toxicité après administration d'une dose unique d'une substance.

Elle se manifeste par un toxidrome et une atteinte des organes à fonction vitale . Son évaluation permet d'apprécier les doses qui engendrent la mort de l'animal et les circonstances de la mort . A cet effet, la dose minimale mortelle (DMM) et la dose létale 50% (DL50) sont généralement déterminées :

IV.1. La DMM :

C'est la dose minimale de la substance capable de tuer un animal par administration par voie veineuse lente (l'arrêt cardiaque signe la mort). Elle peut servir à faire le choix des niveaux de doses retenues pour la détermination de la DL50.[CLAUDE, 1988]

IV.2. La DL50 :

C'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.

La méthode de MILLER et TAINTER peut permettre de déterminer graphiquement la DL50 en traçant sur du papier log-probit les pourcentages de mortalité par rapport au logarithme de la dose. [CLAUDE ,1988]

La méthode de LITCHFIELD et WILCOXON est aussi une méthode de détermination de la DL50. Elle consiste à reporter les taux de mortalité sur un graphique « logarithme-probabilité » et à tracer la droite la plus probable passant par les points obtenus. On lit ensuite sur le graphique les doses correspondant à 16% , 50% , 84% ; Ce sont respectivement les DL16, DL50 , DL84. Le calcul de l'intervalle de confiance de la DL50 se fait selon les étapes suivantes :

- calcul de « S » ou pente de la droite :

$$S = \frac{DL84/DL50 + DL50/DL16}{2}$$

- calcul des limites de confiance de la DL50 :

n' = nombre total d'animaux traités dont les taux de mortalité sont compris entre 16% et 84% .

$$e = 2,77\sqrt{n'}$$

$$fDL50 = S^e$$

En joignant avec une règle les valeurs de « S » et de « e » sur l'abaque appropriée, on peut également lire « f » au point d'intersection de la règle et de l'échelle centrale.

Pour $p = 0,05$,

- limite supérieure de confiance de la DL50 = $DL50 \times fDL50$
- limite inférieure de confiance de la DL50 = $DL50 / fDL50$
[COLOT, 1972]

Dans la pratique, la détermination de la DL50 consiste à utiliser des lots d'animaux homogènes auxquels on administre par une voie choisie une seule dose de substance par lot. Si possible, les doses doivent couvrir des pourcentages de mort de 0 à 100% .

Au bout de 2 heures, 24 heures, 48 heures ou 72 heures, les animaux morts par lot sont dénombrés. La détermination de la DL50 à 24 heures ou à 48 heures exprime la toxicité immédiate tandis que celle de deux semaines exprime et la toxicité immédiate et la toxicité retardée. [CLAUDE, 1988]

IV.3. Une observation qualitative de la toxicité aiguë (ou toxidrome) :

Elle est nécessaire au cours de l'étude de toxicité aiguë d'une substance.

La valeur de la DL50 d'une substance permet de la situer sur l'échelle de toxicité de substances chimiques de HODGE et STERNER.
[CLAUDE, 1988]

Tableau I : Echelle de toxicité de substances chimiques (d'après AC HODGE et J.H. STERNER, 1949) :

Classe de toxicité	DL50 pour la souris ou le rat	Doses toxiques pour un enfant (12,5Kg)
Extrêmement toxique	< 1mg/Kg	Environ 8mg (il est généralement suffisant de goûter le produit pour provoquer une intoxication)
Très toxique	1 à 50mg/kg	Une petite gorgée ou 500 μ l
Moyennement toxique	50 à 500mg/kg	Une cuillerée à café ou 10ml
Faiblement toxique	0,5 à 5g/kg	Un coquetier
Pratiquement non toxique	5 à 15g/kg	Environ 180g
Relativement sans danger	>15g/kg	>180g

Troisième partie :

NOTRE TRAVAIL

MATERIEL ET METHODES

Chapitre I : MATERIEL ET METHODES

I. CADRE DE L'ETUDE :

Notre étude s'est menée dans les Laboratoires de pharmacotoxicologie, et de Chimie du département Médecine et PHarmacopée TRAditionnelle/Pharmacie (MEPHATRA/PH) de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (I.R.S.S). L' I.R.S.S est un des instituts du Centre National de Recherche Scientifique et Technologique (C.N.R.S.T) qui est chargé de coordonner les programmes nationaux de recherche du Burkina Faso.

Le département MEPHATRA/PH est chargé de valoriser la médecine et la pharmacopée traditionnelles à travers des études ethnopharmacologiques, phytochimiques, et toxicopharmacologiques de plantes médicinales; ceci dans le but de conduire à la production de médicaments..

II. MATERIEL D'ETUDE

II.1. Le matériel végétal:

Il a été le même pour les études toxicologiques, pharmacologiques, et phytochimiques : Les racines de *Calotropis procera* Ait. (*Asclepiadaceae*) ont été récoltées à la périphérie de la ville de Ouagadougou (zone de savane) pendant le mois de novembre 1998 (saison sèche). Les écorces de ces racines ont été arrachées puis séchées à l'air libre (à l'abri du soleil et de la poussière). Ces écorces ont été ensuite pulvérisées au mortier.

II.2. Matériel d'études phytochimiques

- Chromatoplaques de silice G60 F254 de dimensions 20cm x 10cm x 0,2mm ,
- cuves pour chromatographie sur couche mince,
- solvants et réactifs nécessaires aux révélations des groupes phytochimiques,
- spectrophotomètre densitomètre UV-visible couplé à une imprimante,
- lampe UV à deux longueurs d'onde (254 et 366nm).

II.3. Matériel d'études biologiques

II.3.1. Les animaux d'étude :

Des souris femelles de souches N.M.R.I pesant entre 20 et 30g ont été utilisés pour l'étude de toxicité. Les mâles ont servi à l'étude de l'activité anti-inflammatoire.

Des rats mâles de souche WISTAR pesant entre 150 et 200g (dont les duodénums ont été prélevés après dislocation cervicale) ont été utilisés dans l'étude de l'activité relaxante des muscles lisses.

Tous ces animaux ont été préalablement mis à jeun pendant 18 heures avant leur utilisation. Ces animaux sont élevés à l'animalerie de l'I.R.S.S à une température ambiante de 23-25°C et 75% d'humidité. Ils sont nourris au tourteau de blé et à l'eau courante.

II.3.2. le sang :

Pour l'étude de l'activité antifalcémiant, du sang total d'hémoglobine SS prélevé sur C.P.D.A (confère annexe pour formule) a été utilisé. Il a été obtenu chez un garçon drépanocytaire de 15 ans. Ce dernier était sous un traitement à la quinine.

Du culot globulaire (obtenu après lavage à l'eau physiologique (chlorure de sodium à 0,9%) puis centrifugation) a servi dans la réalisation du test d'hémolyse.

II.3.3. Le matériel technique:

- Une balance de marque Berkel (de sensibilité 0,5g),
- une balance électronique de marque Sartorius (de sensibilité 0,1mg),
- Un appareil de mesure du volume des pattes : le pléthysmomètre APELEX 7150,
 - un chronomètre,
 - des seringues de 1ml graduées au centième,
- Une cuve thermostatée à organe isolé de 25ml de type : Harvard single tissue bath,
 - un capteur isotonique de type Harvard,
 - un enregistreur à double canaux de type : Harvard student oscillograph,
 - une potence à organe isolé munie d'un orifice de bulleuse d'air,

- Un microscope optique,
- des lames et lamelles pour microscope optique,
- des micropipettes,
- du papier pH,
- des tubes à hémolyse.

II.3.4. Réactifs et solvants :

- une solution de carragénine à 1% dans de l'eau distillée,
- eau distillée,
- solution de Betaméthasone ,
- solution de chlorure de sodium à 0,45%,
- de l'eau distillée,
- une solution de TYRODE (voir annexe pour formule) maintenue à 37°C,
- une solution aqueuse d'acétylcholine à 15,6µg/ml (dose de travail),
- une solution de chlorure de baryum à 7,8mg/ml (dose de travail),
- du métabisulfite de sodium (ou disulfite de sodium),
- de la poudre de saponine.

III. METHODES D'ETUDES

III.1. Etude phytochimique

Elle a été faite à partir d'un macéré aqueux total de la « drogue », et d'un hydrolysat du macéré.

Les extraits utilisés pour les tests ont été obtenus par macération de la poudre d'écorces dans de l'eau distillée pendant 1heure30mn.

Préparation du macéré aqueux total :

A 100g de poudre de la « drogue » , 500ml d'eau distillée ont été ajoutés. Cette macération a duré 1heure 30mn. Le mélange a été ensuite filtré sur coton. Le filtrat obtenu a été centrifugé à 2000 tours/mn pendant 5mn. Le surnageant recueilli nous a servi de macéré aqueux. Son volume (V) a été mesuré.

Afin de calculer le rendement en matière sèche , 5ml du macéré ont été prélevés dans une capsule tarée. Le tout a été placé

dans une étuve à 110°C pendant 1 heure. La capsule a été ensuite pesée pour déterminer le poids du résidu sec (Po).

Préparation de l'hydrolysate du macéré aqueux :

Il s'est agi d'une hydrolyse acide.

A 82ml du macéré (soit 3g d'extrait sec contenu dans le volume prélevé) 30ml d'acide chlorhydrique (HCl) à 10%(m/v) ont été ajoutés. Le tout a été chauffé à reflux pendant 30 mn. Après refroidissement nous avons procédé à une extraction liquide-liquide par du dichlorométhane. L'extraction a été faite 5 fois avec 20ml de dichlorométhane. Les phases organiques , réunies, ont été lavées avec de l'eau distillée jusqu'à obtention d'un pH neutre. Elles ont ensuite été séchées sur du sulfate de sodium anhydre puis filtrées. Le filtrat a été évaporé à sec sous pression réduite au rotavapor. Le poids (P) du résidu a été déterminé.

Le pH des macérés à 0,5% et 1% a été mesuré au papier pH par immersion de ce dernier dans les macérés.

III.1.1. Essai de détermination d'une relation entre les concentrations des extraits en matières hydrosolubles et les concentrations des macérés (aqueux) en poudre de la drogue :

Les macérés aqueux ont été préparés suivant le même protocole que celui utilisé pour les différents tests (confère matériel végétal).

Des macérés aqueux à 1%, 3%, 6%, 9%, 12%, 16% et 20% ont été préparés . 5ml de chaque macérée ont été introduits dans une capsule tarée. Chaque capsule a été placée à l'étuve à 110°C pendant 2 heures. La matière sèche contenue dans chaque capsule est ensuite pesée. La concentration du macéré en matières hydrosolubles est égale à ce poids divisé par 5ml .

III.1.2. Caractérisation des saponosides :

Un prélèvement de 2 ml du macéré aqueux dilué avec de l'eau distillée (dans les proportions 1 :1) a été introduit dans un tube à essai de 1,6cm de diamètre puis secoué pendant 15 mn. L'apparition de mousse (d'une hauteur d'au moins 1 cm) persistante pendant au moins 15 mn indique la présence de saponosides.

L'identification des saponosides a été également réalisée sur des plaques de chromatographie sur couche mince (c.c.m). La réaction de Liebermann-Burchard a servi à cette identification. Le système de solvants utilisé a été le suivant : butanol ; eau ; éthanol (4 : 8 : 5). La migration du système s'est faite sur une distance de 10 cm. La référence frontale (Rf) du spot qui a le plus migré a été calculé :

$$Rf = \frac{\text{distance parcourue par le spot}}{\text{distance parcourue par la phase mobile}}$$

La révélation des saponosides s'est faite par immersion de la plaque de gel de silice G60 F254 (après migration) dans de l'acide sulfurique (dilué dans de l'éthanol) à 3% . La plaque a été ensuite séchée à l'étuve (110°C pendant 10 mn). L'apparition de spots violets ou bleu-foncés dénote de la présence de saponosides (hétérosides triterpéniques et/ou stéroliques).

Un extrait alcoolique de Panax ginseng (riche en saponosides) a servi de témoin de référence.

III.1.3. Caractérisation des tannins :

Un prélèvement de 2ml du macéré aqueux dilué avec de l'eau distillée(dans les proportions 1 :1) a été introduit dans un tube à essai. Trois gouttes de solution de chlorure ferrique (3%) y ont été ajoutées. L'apparition d'une coloration brun-vert indique la présence de tannins.

L'identification des tannins sur c.c.m a été faite en pulvérisant le chlorure ferrique sur la plaque . Le système d'éluant utilisé a été : butanol; eau; éthanol (dans les proportions 4 : 8 : 5) .

III.1.4. Caractérisation et dosage des alcaloïdes

sels :

Pour cette identification nous avons procédé d'abord à une opération d'extraction et de dosage pondéral des alcaloïdes :

A 100 ml du macéré aqueux, de l'ammoniaque à 10% a été ajouté jusqu'à obtention d'un pH basique. Une extraction liquide-liquide a été ensuite faite avec du dichlorométhane (par petites

quantités de 25ml jusqu'à négativation de la réaction de caractérisation des alcaloïdes dans la phase aqueuse). Les phases organiques ont été réunies puis lavées à l'eau. Cette phase organique a été séchée sur sulfate de sodium anhydre. L'extrait a été enfin évaporé à sec sous pression réduite au rotavapor. Le poids (P3) de ce résidu sec a été déterminé.

L'identification proprement dite des alcaloïdes dans le macéré a été faite selon la réaction de Dragendorff : Le macéré est évaporé à sec puis dissous dans une solution d'acide chlorhydrique 0,1N. 2 à 3 gouttes du réactif de Dragendorff y sont ajoutées. L'apparition de précipité orange à rouge vermillon signe la présence d'alcaloïdes.

Cette identification a été également faite sur une plaque de chromatographie sur couche mince à partir de l'extrait « alcaloïdique ». Le système d'éluant retenu a été : acétate d'éthyle; n-hexane; diéthylamine; éthanol (dans les proportions 75 : 24 : 6 : 5).

L'atropine sulfate a servi de témoin.

La révélation a été faite par pulvérisation du réactif de Dragendorff sur la plaque suivie d'une imprégnation dans de l'acide sulfurique 0,1N. Les spots à alcaloïdes se caractérisent par une coloration orange à rouge vermillon.

III.1.5. Caractérisation des génines de flavonosides :

Elle a été faite selon la réaction de Shibata (ou réaction de la cyanidine) : L'hydrolysate du macéré aqueux a été dissous dans du méthanol dilué au 1/2. Des cristaux de magnésium et 5 à 6 gouttes d'acide chlorhydrique y ont été ajoutés. La solution devient rouge en cas de présence de flavonols, ou orange pour les flavonones.

III.1.6. Caractérisation des coumarines :

25mg de l'hydrolysate du macéré ont été dissous par chauffage dans 2ml d'eau distillée. Cette solution a été répartie dans deux tubes.

Dans le premier tube 0,5ml d'ammoniaque 10% a été ajouté. Le second tube sert de témoin blanc.

L'apparition d'une coloration bleue ou verte (sous lampe UV) plus grande pour la solution alcaline indique la présence de coumarines.

III.1.7. Caractérisation des terpènes et/ou stérols :

Elle a été faite selon la réaction de Liebermann-Burchard. Une prise de 15mg de l'hydrolysate ont été dissous dans 0,25 ml d'anhydride acétique, et une autre prise de 15mg dans 0,25ml de chloroforme. Les deux solutions ont été réunies dans un tube à essai sec. 1ml d'acide sulfurique 97% a été ajouté au milieu.

A l'interface des deux liquides, une coloration brun-rougeâtre ou brun-violette se forme, la partie supérieure devenant vert-bleuâtre ou violette en cas de présence de stérols et /ou triterpènes.

L'identification a été également faite sur des plaques de c.c.m.

Le système d'éluant retenu a été : n-hexane; acétate d'éthyle; toluène (dans les proportions 15 : 4 : 6). L'éluant a migré sur une distance de 10 cm.

L' α -amyrine a servi de témoin des triterpènes et le β -sitostérol celui des stérols.

La révélation a été faite par immersion de la plaque dans de l'acide sulfurique 3%(dans l'éthanol); La plaque a été ensuite chauffée à 110°C pendant 10 mn. L'apparition de spots violets ou bleu-foncé signe la présence de triterpènes ou de stérols.

Des spectres d'absorption dans l'ultraviolet des spots de l'hydrolysate, d'un témoin de stérols (le β -sitostérol) et d'un témoin de triterpènes (l' α -amyrine) ont été tracés.

III.2. Etudes biologiques :

III.2.1. Etude de la toxicité générale aiguë

III.2.1.1. détermination de la DL50 :

Un essai préliminaire de toxicité générale aiguë a été réalisé sur 3 lots de 3 souris aux doses de 100 , 500 , et 1500mg/kg de poids corporel.

Après cet essai, 7 lots de 5 souris ont été constitués. Ces lots sont formés d'un lot témoin qui a reçu de l'eau distillée, et de 6 lots ayant reçu du macéré aqueux de la « drogue » aux doses respectives de 600 , 750 , 1000 , 1250 , 1500 , 1750mg/kg de poids corporel . Ces produits ont été administrés par voie intrapéritonéale. Le nombre de morts dans chaque lot a été dénombré à 2 heures , 24 heures, 48 heures puis 72 heures après l'administration des produits. Une corrélation entre pourcentages de mortalité et probits a été faite.

La détermination de la DL50 sur 24 heures a été réalisée selon la méthode de Litchfield et Wilcoxon en utilisant le programme informatique P.C.S de TALLARIDA et MURRAY (1987).

III.2.1.2. Etude qualitative de la toxicité générale aiguë :

Elle a consisté à l'observation du comportement des animaux(symptômes d'intoxication) à 2 heures, 24 heures, 48 heures, et à 72 heures après l'administration des produits dans chaque lot.

III.2.1.3. Test d'hémolyse *in vitro*

Nous avons disposé de trois tubes à hémolyses :

- * un tube pour un essai de témoin blanc
- * un tube pour un témoin positif
- * un tube test

Tableau II : Tableau récapitulatif du test d'hémolyse

	Témoin blanc	Témoin positif	Test
Eau physiologique (solution de chlorure de sodium à 0,9%)	5ml	5ml	
Poudre de saponine		1g	
Macéré aqueux à 20%			5ml
Culot globulaire	0,5ml	0,5ml	0,5ml

Les tubes (contenant les mélanges) sont laissés au repos pendant 24 heures. L'apparition d'un surnageant rouge limpide signe la survenue d'une hémolyse.

III.2.1.4. Activité spasmogène intrinsèque du macéré à la concentration de 20% m/v : (confère méthode d'étude de l'activité antispasmodique au III.2.4.1.)

III.2.2. Etude de l'activité antifalcémiant :

Elle a été menée selon le principe du test d'Emmel [BOUREE, 1987].

1ml de sang total a été mélangé à un 1ml de macéré (des macérés à 0,5% et 1% ont été préparés). La macération de la drogue a été faite ici avec de l'eau physiologique (solution aqueuse de chlorure de sodium à 0,9%) .

Un témoin blanc a été fait en mélangeant 1ml de sang total à 1ml d'eau physiologique.

Au bout de 15mn , 30mn, 45mn, 1heure, 1heure 30mn, puis à 2 heures une goutte du mélange a été déposée sur une lame. A chaque dépôt, une goutte de métabisulfite de sodium a été rajoutée. Le tout a été ensuite recouvert d'une lamelle lutée par du vernis à ongle.

L'observation a été faite au microscope optique (à l'objectif 40) . Les hématies anormales (drépanocytes) prennent une forme de faucille ou de banane, avec parfois des bords frangés en « feuille de houx ». Pour chaque dose du macéré trois lames ont été préparées. Il en a été de même pour le témoin blanc.

Le pourcentage de drépanocytes sur chaque lame a été trouvé en comptant les drépanocytes sur 100 hématies observées.

III.2.3. Etude de l'activité anti-inflammatoire :

La méthode de l'œdème à la carragénine de WINTER a été utilisée : l'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure d'une souris provoque l'apparition d'un œdème de la région métatarsienne.

Quatre lots de dix souris mâles ont été constitués :

- 1 lot témoin blanc recevant de l'eau distillée;
- 1 lot témoin de référence recevant de la betamethasone à la dose de 2mg/kg;
- 2 lots tests recevant l'extrait aqueux aux doses de 85mg/kg et 170mg/Kg.

Après que chaque lot a reçu son produit par voie intrapéritonéale, le volume de la patte postérieure est mesuré. La carragénine (0,05ml) a été administrée 1 heure après cette administration. Les volumes des pattes ont été ensuite mesurés toutes les heures jusqu'à la 6^{ème} heure.

III.2.4. Etude de l'activité relaxante des muscles lisses:

Le principe de l'étude a été basé sur celui de MAGNUS(1904). L'intestin isolé de rat a servi de modèle d'étude de l'activité antispasmodique .

III.2.4.1. L'activité antispasmodique:

0,5ml du contracturant de référence (acétylcholine (15,6µg/ml) ou chlorure de baryum(7,8mg/ml)) est affusé dans la cuve à organe isolé. Cet essai a été répété 3 fois.

L'activité du macéré aqueux de la « drogue » est appréciée en administrant 0,5ml du macéré 30 secondes avant l'administration du contracturant. Ce test est répété 5 fois. Entre deux tests l'intestin isolé est rincé trois fois par de la solution de Thyrode.

Lorsque le macéré aqueux seul à une certaine dose a provoqué une activité spasmogène , cette activité a été étudiée (toujours selon le principe de Magnus) en utilisant un anti-

spasmodique de référence : l'atropine à 26mg/ml (doses de travail).
L'atropine a été utilisée en prévention.

III.2.4.2. Etude de l'activité spasmolytique

0,5ml du contracturant de référence (acétylcholine(15,6µg/ml)) ou chlorure de baryum(7,8mg/ml)) est affusé dans la cuve à organe isolé. Le rinçage (3 fois avec de la solution de Thyrode) n'intervient qu'après obtention d'un plateau de contraction. Cet essai a été répété 3 fois.

L'effet du macéré aqueux a été apprécié par l'affusion de 0,5ml du macéré dans la cuve lorsque le pic de contraction est atteint avec le contracturant . La hauteur du nouveau plateau de contraction est alors appréciée. Cinq essais ont été réalisés.

IV. METHODES D'ANALYSES DES RESULTATS

IV.1. Données phytochimiques

- Concentration du macéré en matière sèche (C1)= P_0/V_0

V_0 = prise d'essai du macéré(5ml).

- Le rendement de la drogue en matière sèche hydrosoluble (R0) :
 $R_0 = (C1 \times V) \times 100 / P1$

$P1$ = prise d'essai de la drogue(100g).

V = volume du macéré aqueux obtenu

- Le rendement de l'extrait aqueux sec en hydrolysate (R1) :
 $R1 = (P / P2) \times 100$

P = poids du résidu sec issu de l'hydrolyse de 82ml macéré

$P2$ = Poids de l'extrait sec issu de la prise d'essai de 82ml du macéré (soit 3g).

- Le rendement de la poudre de « drogue » en hydrolysate (R2) :
 $R2 = (P \times R_0) \times 100 / P2$

- La concentration (C2) du macéré en alcaloïdes sels :

$$C2 = P3 / V1$$

V1= prise d'essai du macéré aqueux(100ml).

P3= poids du résidu organique obtenu à partir des 100ml du macéré.

- La concentration (C3) de l'extrait aqueux sec en alcaloïdes :

$$C3 = \frac{C2 \times V}{R0 \times P1} \times 100$$

IV.2. Etudes biologiques

IV.2.1. Etude de la toxicité générale aiguë

Le test de χ^2 , le calcul des rapports DL50/DL95 et DL5/DL50 ont servi de tests pour valider la droite de toxicité.

La DL50 trouvée a permis de classer le macéré aqueux de la « drogue » sur l'échelle de toxicité de HODGE et STERNER (1949).

Le rapport DL5/DL95 a été calculé afin d'apprécier l'intervalle de sécurité d'utilisation des doses du macéré de la drogue.

IV.2.2. Etude de l'activité antifalcémiant

L'activité antifalcémiant (A.A) a été calculée comme suit :

$$A.A = \left(\frac{\bar{P}_0 - \bar{P}_1}{\bar{P}_0} \right) \times 100$$

\bar{P}_0 = moyenne des pourcentages de drépanocytes sur les lames témoins blancs.

\bar{P}_1 = moyennes des pourcentages de drépanocytes sur les lames tests.

IV.2.3. L'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire est calculée en pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins.

- Calcul du pourcentage d'augmentation du volume de la patte (P.M) :

Soit V_0 le volume initial de la patte et V_{ih} le volume de la patte à la ième heure après l'injection de la carragénine. Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte est :

$$P_{iM} = (V_{ih} - V_0) \times 100 / V_0$$

- Calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème.

Soient P_{oM} le pourcentage moyen d'augmentation du volume de la patte du lot témoin blanc, et P_{iM} le pourcentage d'augmentation du volume de la patte du lot traité à la ième heure après l'injection de la carragénine.

Soit P_{iI} le pourcentage d'inhibition de l'œdème à la ième heure.

$$P_{iI} = (P_{oM} - P_{iM}) \times 100 / P_{oM}$$

IV.2.3. L'activité relaxante des muscles lisses

IV.2.3.1. Etude de l'activité

antispasmodique

L'activité antispasmodique a été quantifiée par le calcul du pourcentage d'inhibition (P.I) de la contraction.

$$P.I = (\bar{X}_1 - \bar{X}_2) \times 100 / \bar{X}_1$$

\bar{X}_1 = moyenne des hauteurs des pics dus au contracturant seul.

\bar{X}_2 = moyenne des hauteurs des pics dus au contracturant en présence du macéré.

IV.2.3.2. Etude de l'activité spasmolytique

L'activité antispasmodique a été appréciée par le calcul du pourcentage d'inhibition (P.I).

$$P.I = \frac{(\bar{X}_3 - \bar{X}_4) \times 100}{\bar{X}_3}$$

\bar{X}_3 = moyenne des hauteurs des plateaux dus au contracturant seul.

\bar{X}_4 = moyenne des hauteurs des plateaux dus au contracturant en présence du macéré.

RESULTATS DE L'ETUDE

Chapitre II : RESULTATS D'ETUDES

I. CARACTERISTIQUES PHYTOCHIMIQUES :

• **Concentration du macéré en matière sèche (C1)=**
36,60mg/ml

Poids du résidu sec(Po)= 183mg

Prise d'essai du macéré= 5ml

• **Rendement de la drogue en matière sèche hydrosoluble (Ro)=**
13,73%(m/m)

Prise d'essai de la drogue(P1)=100g.

Volume du macéré issu de la macération de 100g dans 500ml d'eau distillée(V) =375ml.

• **Rendement de l'extrait aqueux sec en hydrolysats(R1)=5,56%**
(m/m).

Poids du résidu sec issu de l'hydrolyse de 82ml du macéré(P)=
 166,8mg.

• **Rendement de la drogue en hydrolysats(R2)= (0,76% m/m)**

• **Concentration du macéré en alcaloïdes(C2)= 1,10 mg/ml.**

Poids du résidu issu de l'extraction des alcaloïdes (de 100ml du macéré).

• **Rendement de la drogue en alcaloïdes sels(R3)= 0,40**
%(m/m).

• **Concentration de l'extrait aqueux sec en alcaloïdes**
(C3)=2,93%(m/m).

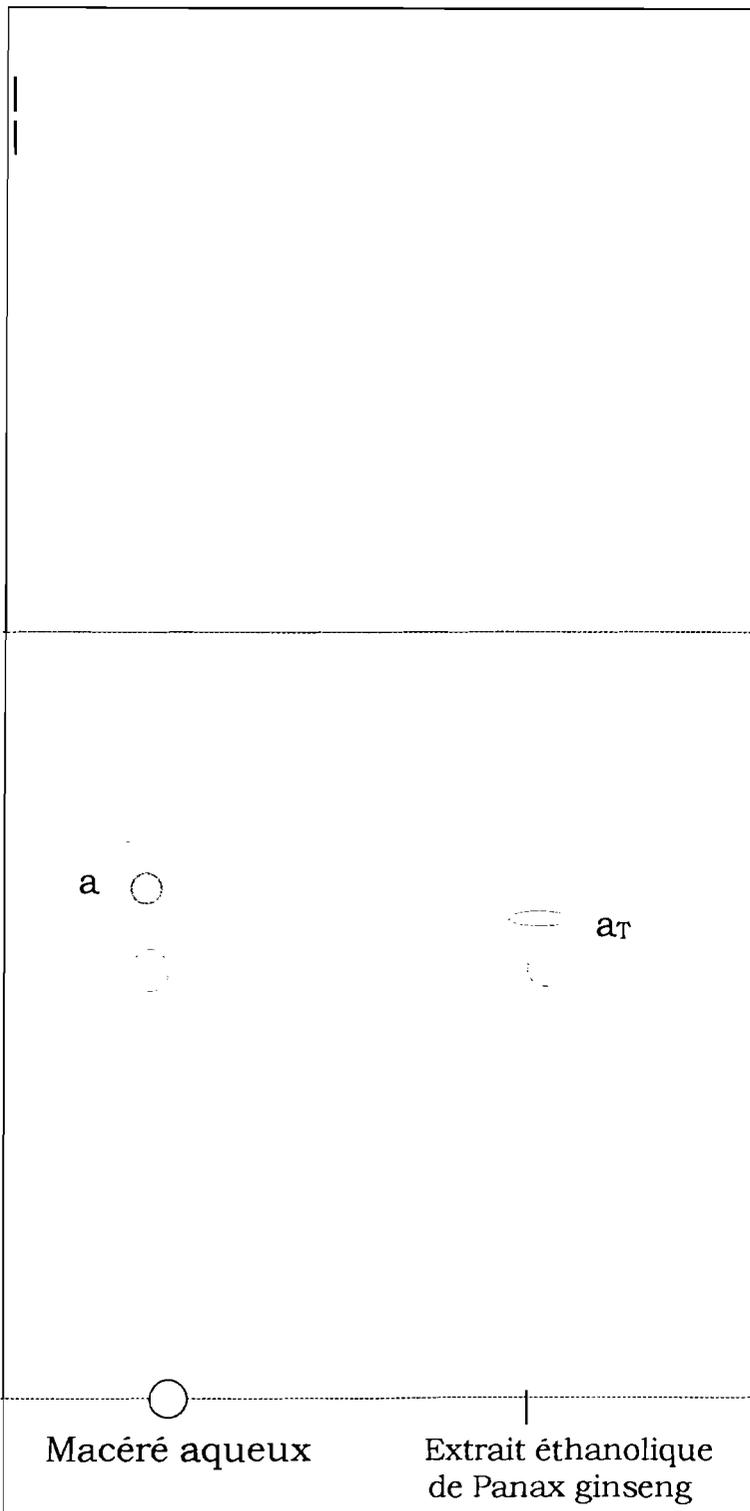
Tableau III : Screening phytochimique à partir du macéré aqueux total et de l'hydrolysate du macéré aqueux.

<u>Groupes phytochimiques</u>	<u>Macéré aqueux total</u>	<u>Hydrolysate du macéré aqueux</u>
Saponines	+	+
Tannins	-	-
Alcaloïdes sels	+	+
Flavonosides	-	-
Coumarines	-	-
Terpènes et/ou stérols	<i>non caractérisés</i>	+

-: Absence des substances.

+ : Présence des substances

pH des macérés à 0,5% et à 1% = 6

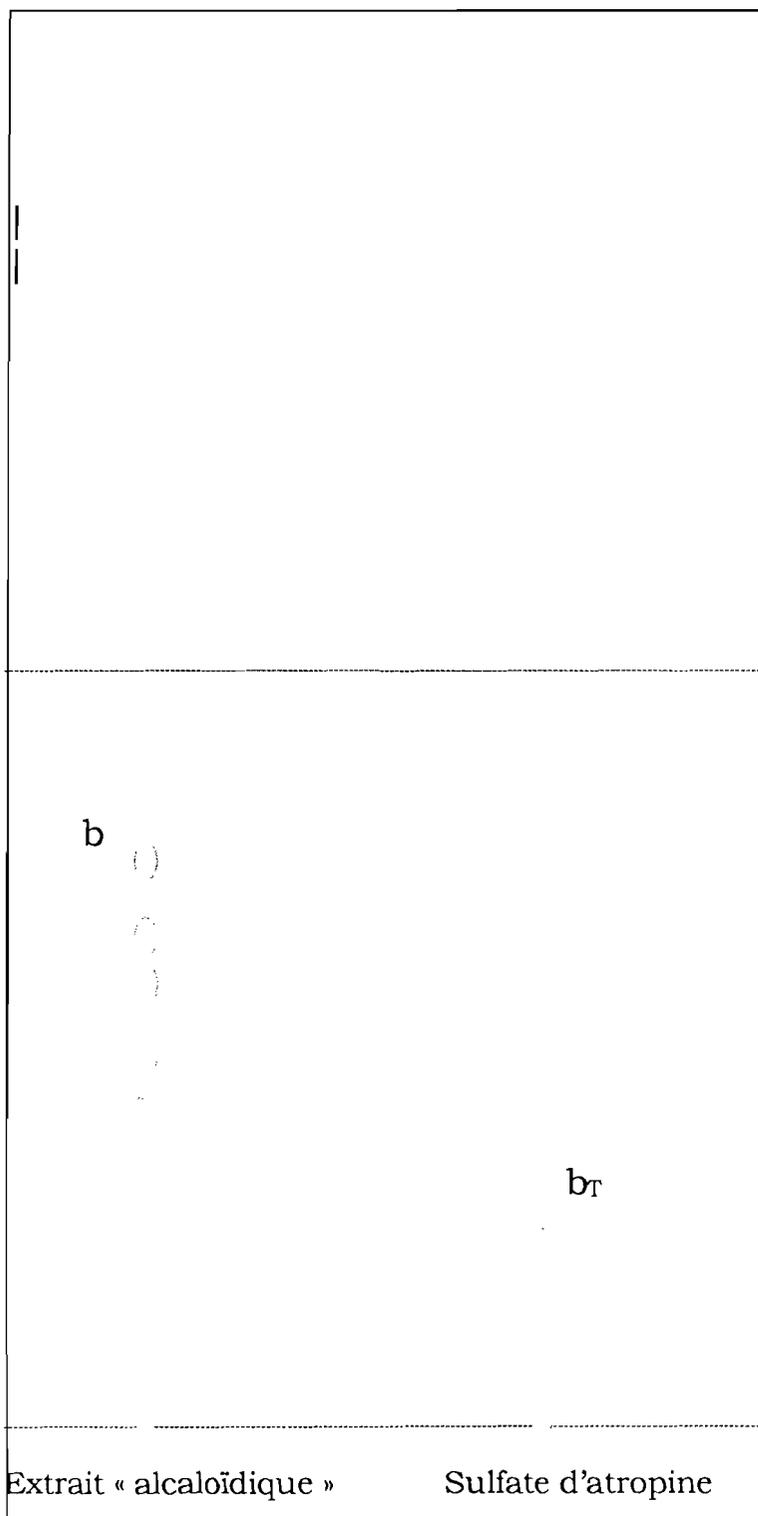


a = spot « a »
aT = spot « aT »

$R_{f_a} = 0,75$

$R_{f_{aT}} = 0,72$

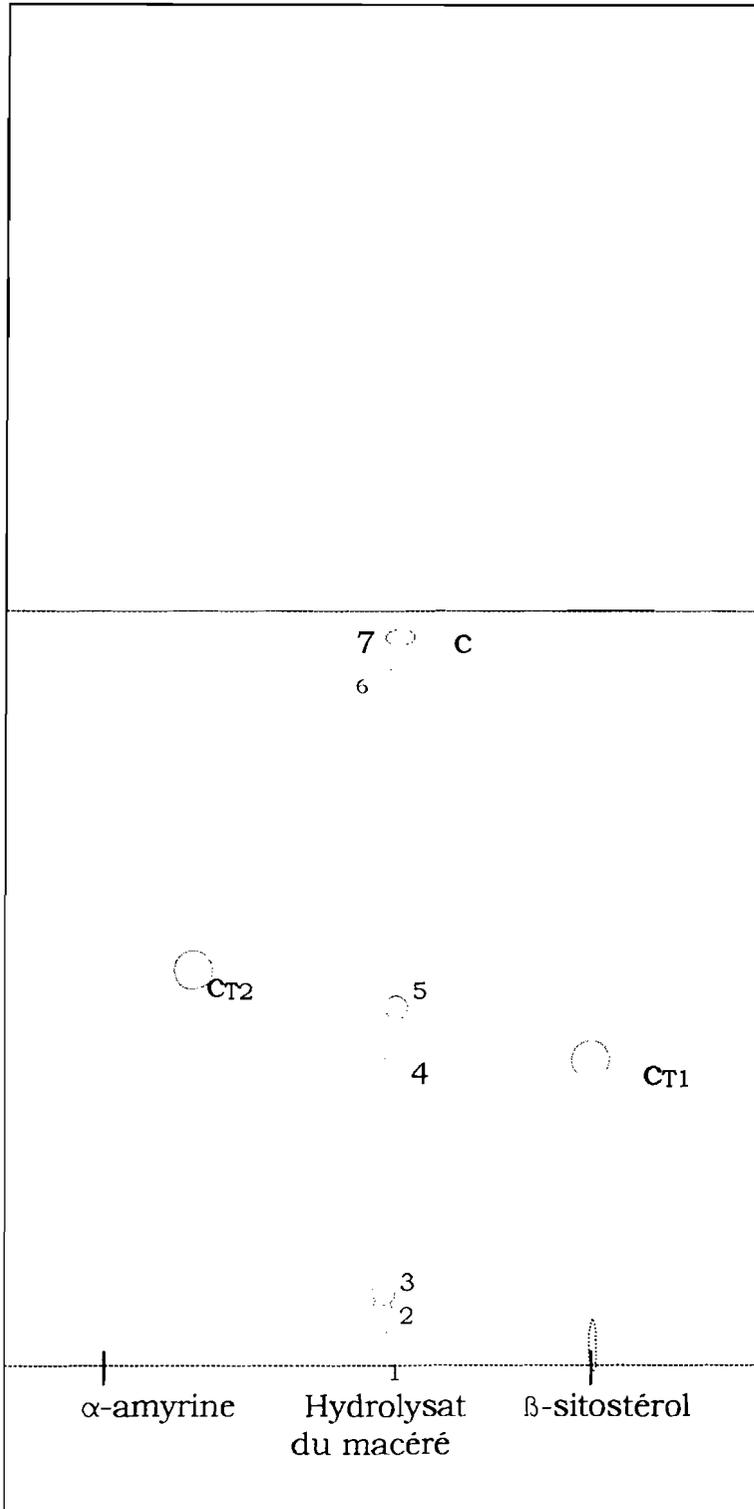
Figure 2 : Chromatogramme 1 du macéré aqueux total (pour recherche de saponines)



b = spot « b »
bT = spot « bT »

$Rf_b=0,72$
 $Rf_{bT}=0,28$

Figure 3 : Chromatogramme 2 de l'extrait « alcaloïdique »



$Rf_c=0,97$

$Rf_{cT1}=0,35$

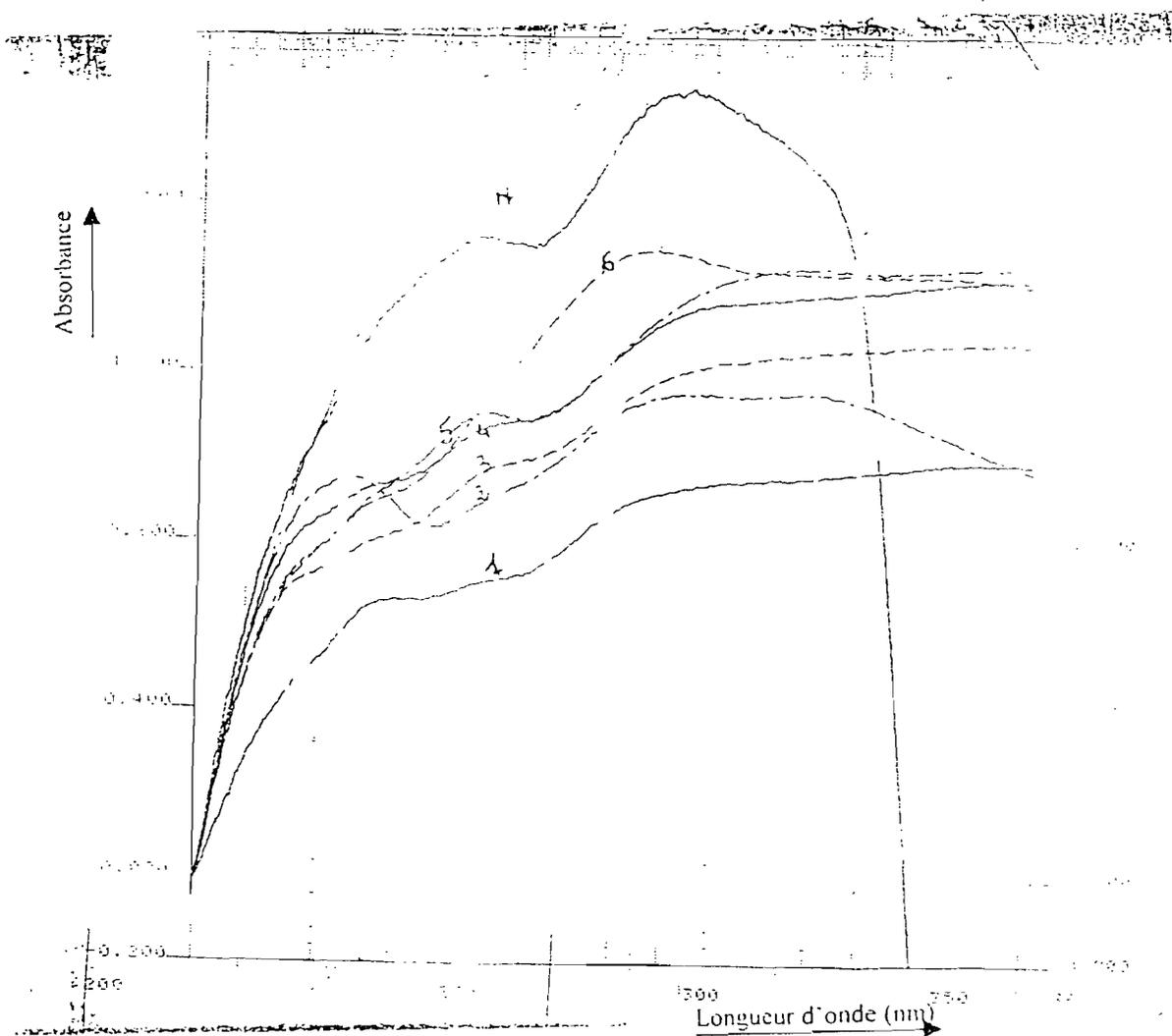
$Rf_{cT2}=0,53$

c = spot « c »

cT1 = spot « cT1 »

cT2 = spot « cT2 »

Figure 4 : Chromatogramme 3 de l'hydrolysat du macéré aqueux
(Recherche de terpènes et/ou stérols)



1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 correspondent respectivement aux spots 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 .

Figure 5 :Spectre d'absorption(dans l'ultra-violet) des spots du chromatogramme de l'hydrolysate

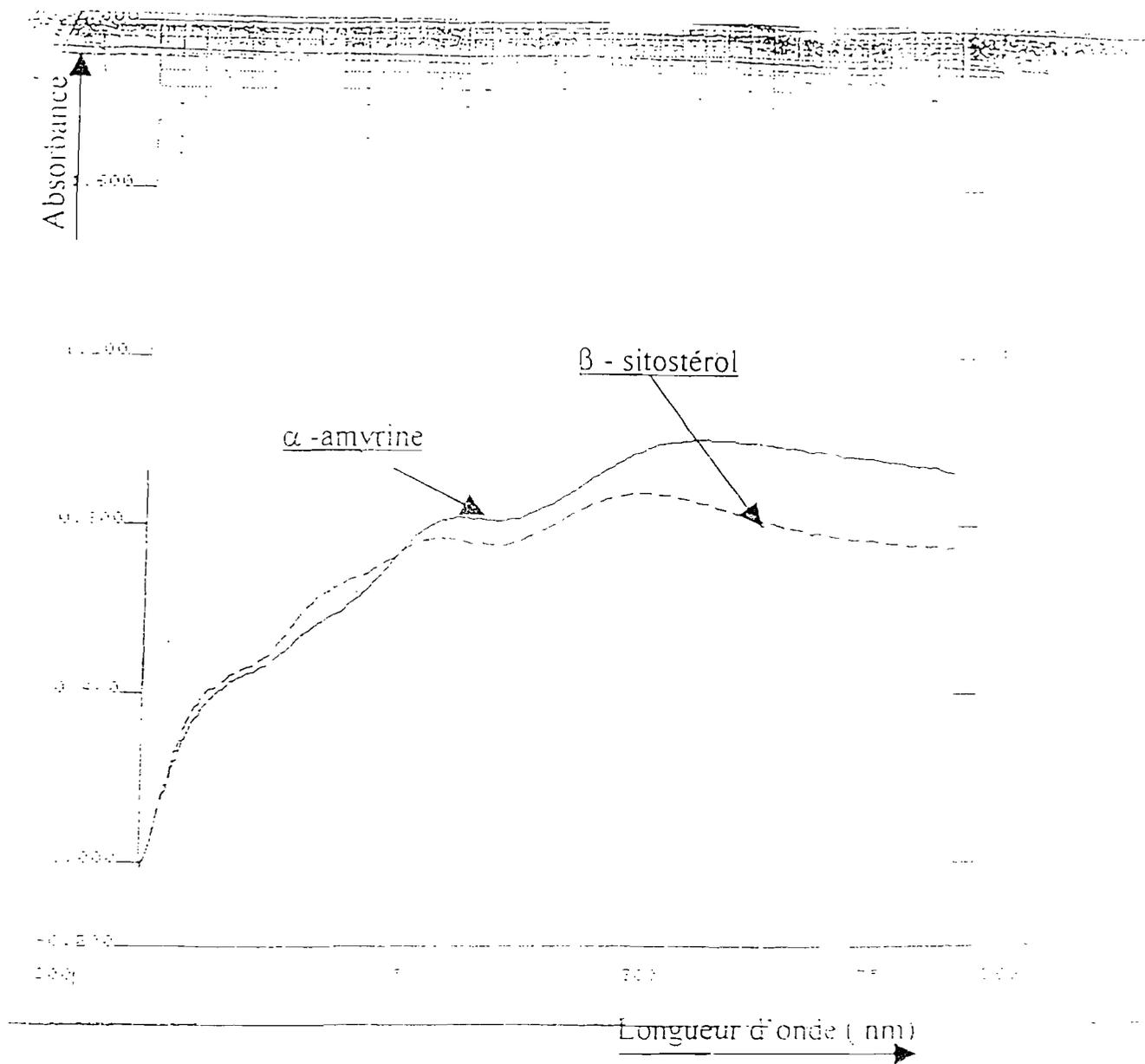


Figure 6: Spectres d'absorption(dans l'ultra-violet) du chromatogramme de la β -sitostérol et de l' α -amyrine.

Tableau IV : Correspondances entre les concentrations des macérés en poudre de la drogue et les concentrations des macérés en matières hydrosolubles

Concentrations des macérés en poudre de la drogue	Concentrations des macérés en matières hydrosolubles
1% (m/v)	1,2 mg/ml
3% (m/v)	4,0 mg/ml
6% (m/v)	7,3 mg/ml
9% (m/v)	12,5 mg/ml
12% (m/v)	14,4 mg/ml
16% (m/v)	18,0 mg/ml
20% (m/v)	24,2 mg/ml

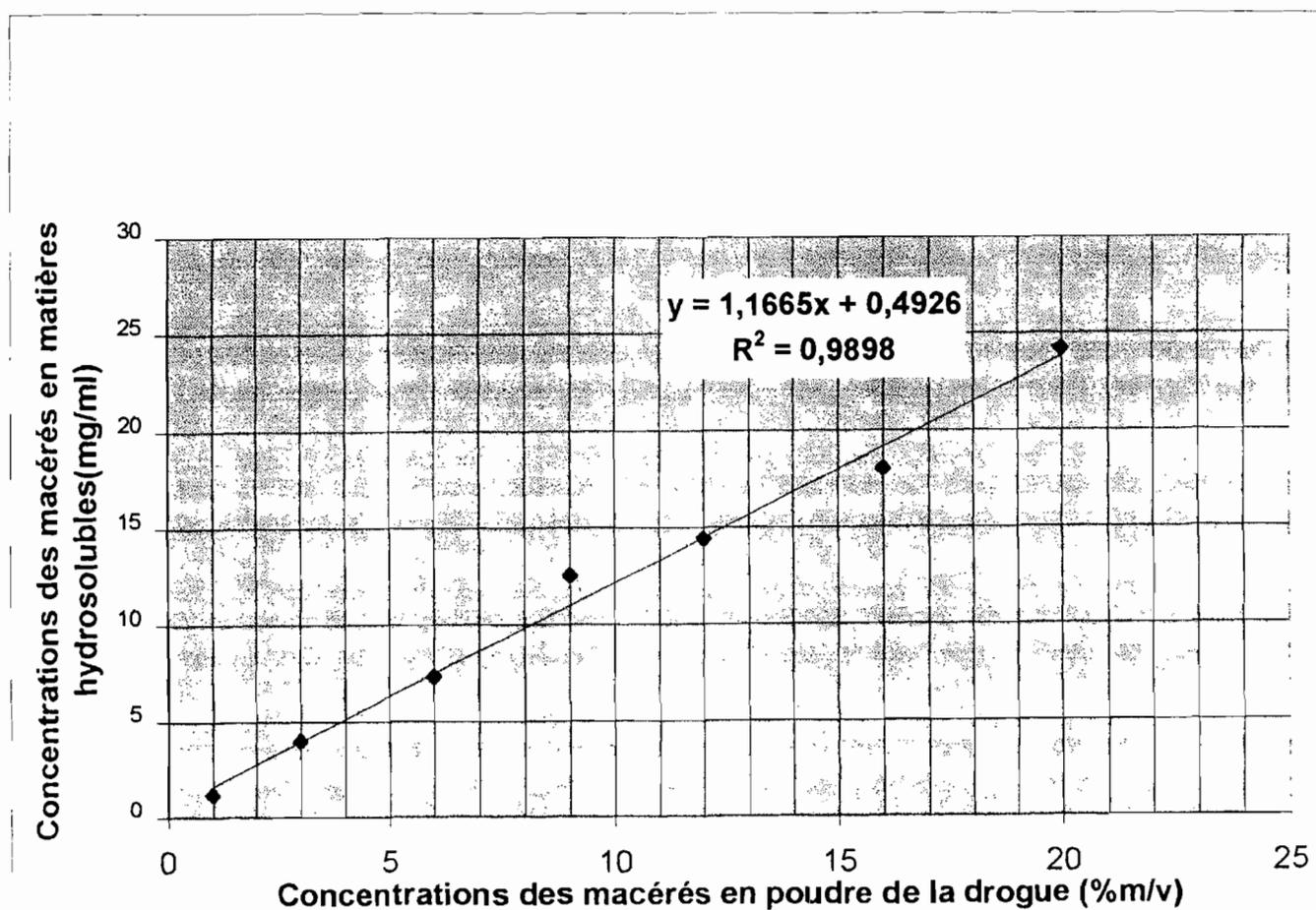


Figure 7: Courbe d'étalonnage des concentrations des macérés en matières hydrosolubles en fonctions des concentrations des macérés en poudre de la drogue.

II. ETUDES BIOLOGIQUES

II.1. La toxicité de *Calotropis procera* Ait.

II.1.1. La toxicité générale aiguë

II.1.1.1. Essai préliminaire :

Tableau V : Evolution du pourcentage de mortalité en fonction de la dose administrée.

Lots	Doses (mg/Kg)	Proportions de morts	Pourcentages de morts
Lot 1	100	0/3	0
Lot 2	500	0/3	0
Lot 3	1500	3/3	100

II.1.1.2. Détermination de la DL50

Tableau VI : Evolution du pourcentage de mortalité en fonction de la dose 2 heures après administration.

Lots	Doses(mg/kg)	Proportion de morts	Pourcentage de morts
Lot témoin	0	0/5	0
Lot 1	600	0/5	0
Lot 2	750	2/5	40
Lot 3	1000	3/5	60
Lot 4	1250	3/5	60
Lot 5	1500	4/5	80
Lot 6	1750	5/5	100

Tableau VII : Evolution du pourcentage de mortalité corrigé(et leur probit correspondant) en fonction de la dose , 2 heures après administration.

Doses(mg/kg)	Pourcentages de mortalité	Probits
600,0001	8,1	3,601376
750	40,0	4,747066
1000	60,0	5,252934
1250	60,0	5,252934
1500	80,0	5,841457
1750	94,8	6,626114

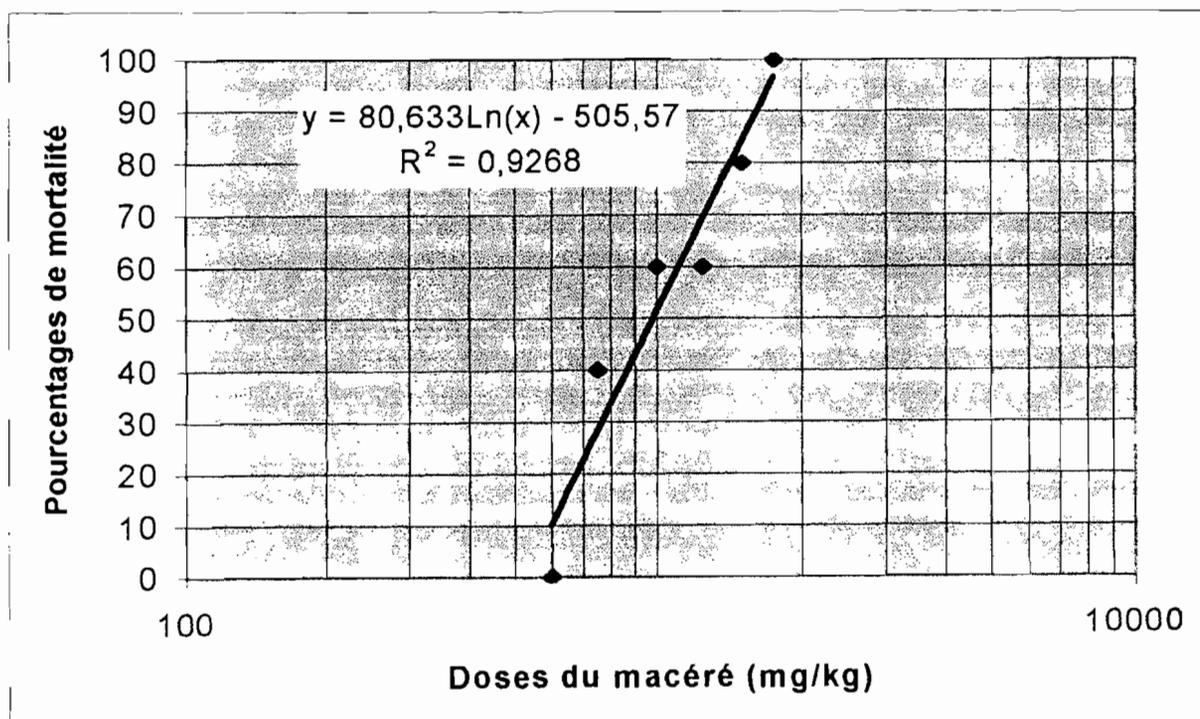


figure 8: Courbe de toxicité du macéré aqueux de la "drogue"

Relation entre probits et pourcentages de mortalité :
 Probit de 5% de mortalité = 3,354789

Probit de 50% de mortalité =5

Probit de 95% de mortalité =6,645211

DL50= 973mg/kg

- Limite inférieure de la DL50 =721mg/kg
- Limite supérieure de la DL50 =1312mg/kg

721mg/kg < DL50 < 1312mg/kg Pour p=0,05

χ^2_4 théorique =9,488

χ^2_4 calculé =1,178

χ^2_4 calculé < χ^2_4 théorique , la courbe de toxicité est valide pour p=0,05.

DL5= 487mg/kg

DL95= 1944mg/Kg

DL50/DL95 = 0,50

DL5/DL50 = 0,50

DL5/DL95 = 0,25

DL95 = 4DL5

II.1.1.3. Etude qualitative : symptômes

d'intoxication

Ces symptômes ont apparu aux doses létales. Ils se sont manifestés dans les deux heures suivant l'administration du macéré. Les signes suivants ont été observés :

- baisse de l'instinct d'exploration,
- refus momentané de s'alimenter (pendant au moins 30mn),
- troubles respiratoires de type polypnée,
- des convulsions ont toujours précédé la mort des animaux.

Les animaux qui ne sont pas morts dans les deux heures suivant l'administration du macéré aqueux ne mouraient plus pendant les 72 heures d'observation.

II.1.2. Test d'hémolyse in vitro

Tableau VIII : Réponses aux tests hémolytiques

	Témoin blanc	Témoin positif	Test (macéré)
Hémolyse	-	+	-

- :absence d'hémolyse

+ :présence d'hémolyse

II.1.3. Etude d'une activité intrinsèque spasmogène d'un macéré aqueux de la « drogue » à la concentration de 20%(m/v).

Tableau IX: Effets de l'interaction de l'atropine sulfate sur les pics de contractions induites par le macéré à 20%.

	macéré	Macéré+ atropine
Moyenne des hauteurs des pics (cm)	3,83	0,36
Ecart-type (cm)	0,29	0,15

Tableau X :Pourcentages d'inhibition des contractions (induites par le macéréà 20%) par l'atropine (26mg/ml)

	Atropine à 26mg/ml
Moyenne (%)	91
Ecart-type (%)	4

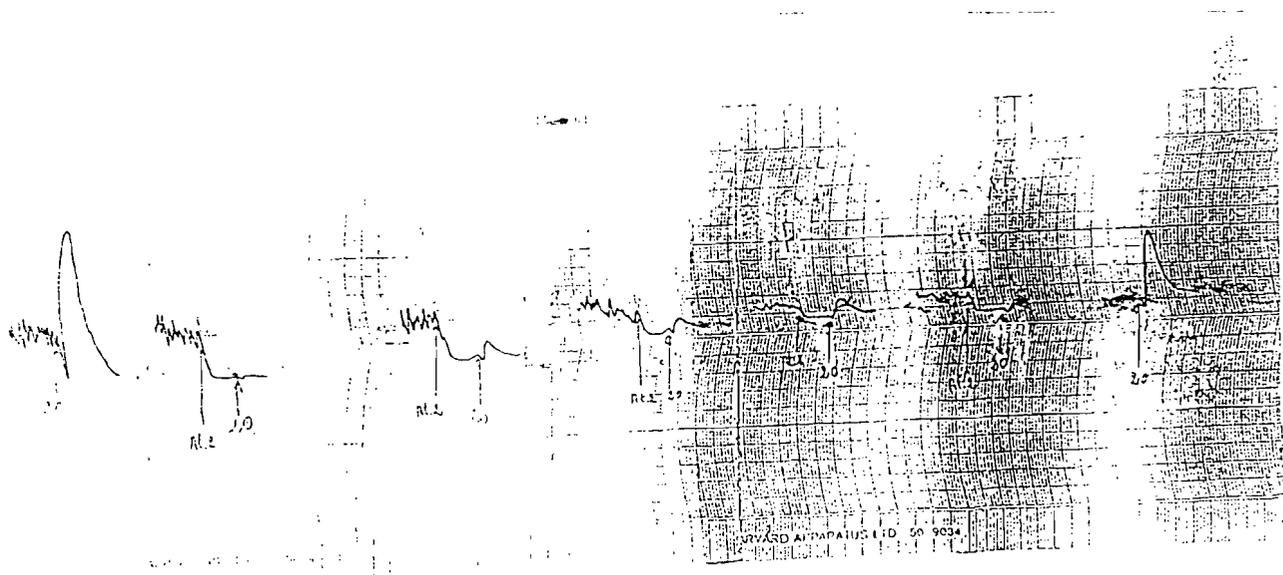


Figure 9 : Effets de l'interaction de l'atropine sur les contractions provoquées par le macéré à la concentration de 20%(m/v).

↑20 : Administration du macéré 20%(m/v)

↑at.2 : administration d'atropine 26mg/ml

II.2. L'activité antifalcémiant

Tableau XI: Activité antifalcémiant du macéré à la concentration de 0,5% en fonction du temps de contact.

Temps de contact	15mn	30mn	45mn	60mn	90mn	120mn
\bar{P}_0	75	75	74	75	75	76
s_0	1	2	1	2	1	1
\bar{P}_1	30	35	32	36	29	38
s_1	2	5	3	8	8	8

Tableau XII: Activité antifalcémiant du macéré à la concentration 1% en fonction du temps de contact.

Temps de contact	15mn	30mn	45mn	60mn	90mn	120mn
\bar{P}_0	75	75	74	75	75	76
s_0	1	2	1	2	1	1
\bar{P}_1	32	26	26	20	35	33
s_1	3	2	3	4	8	10

\bar{P}_0 = moyenne des pourcentages de drépanocytes sur les lames témoins blancs; s_0 leur écart-type .

\bar{P}_1 = moyenne des pourcentages de drépanocytes sur les lames tests ; s_1 leur écart-type.

A.A= activité antifalcémiant.

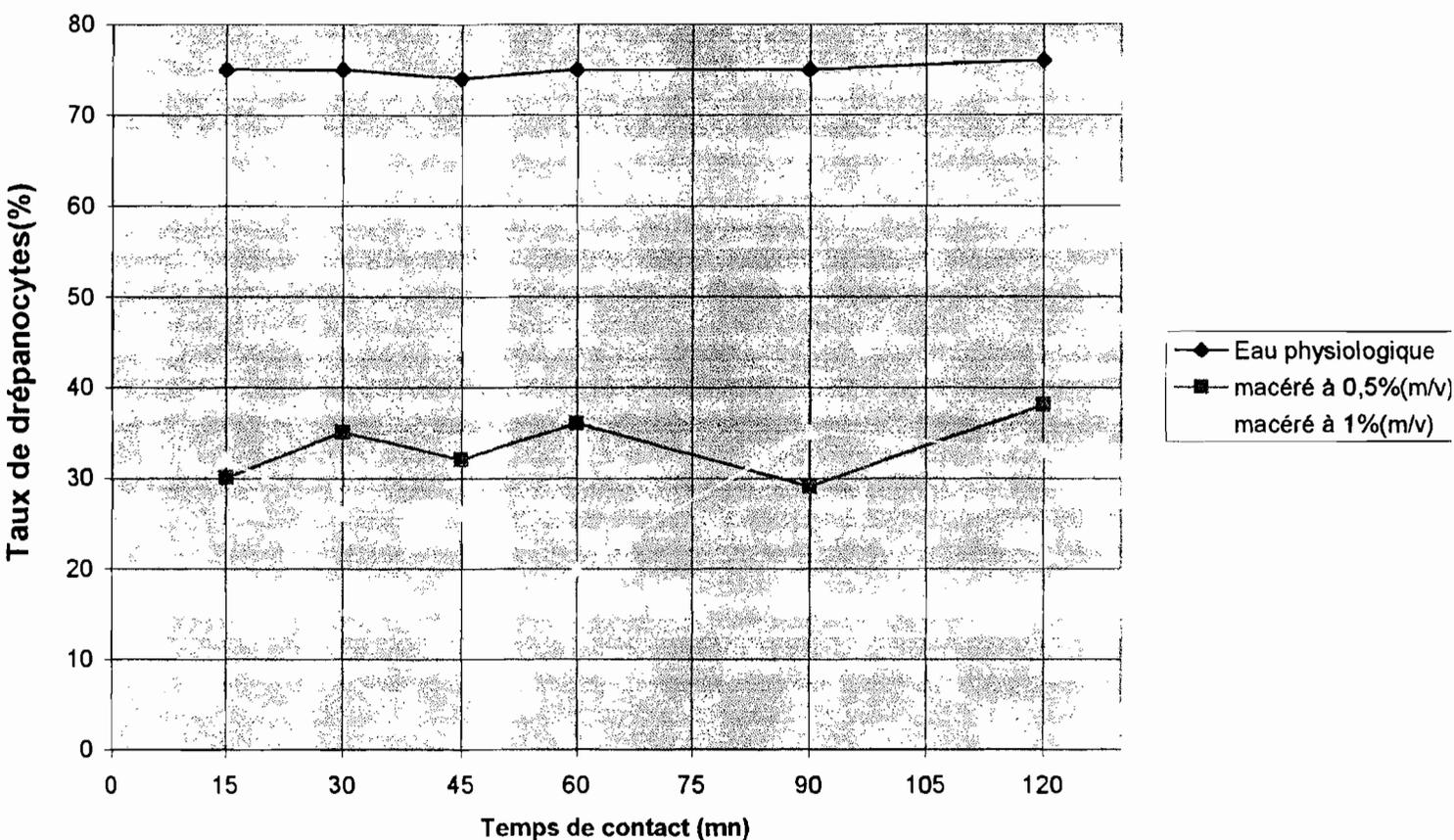


Figure 10: Courbes d'évolution des taux de drépanocytes en fonction du temps de contact

Tableau XIII : Pourcentages d'inhibition de la falciformation (Activité antifalcémiante) en fonction des doses du macéré.

Temps de contact	15mn	30mn	45mn	60mn	90mn	120mn
macéré à 0,5%	60%	53%	57%	52%	61%	50%
macéré à 1%	57%	65%	65%	73%	53%	57%

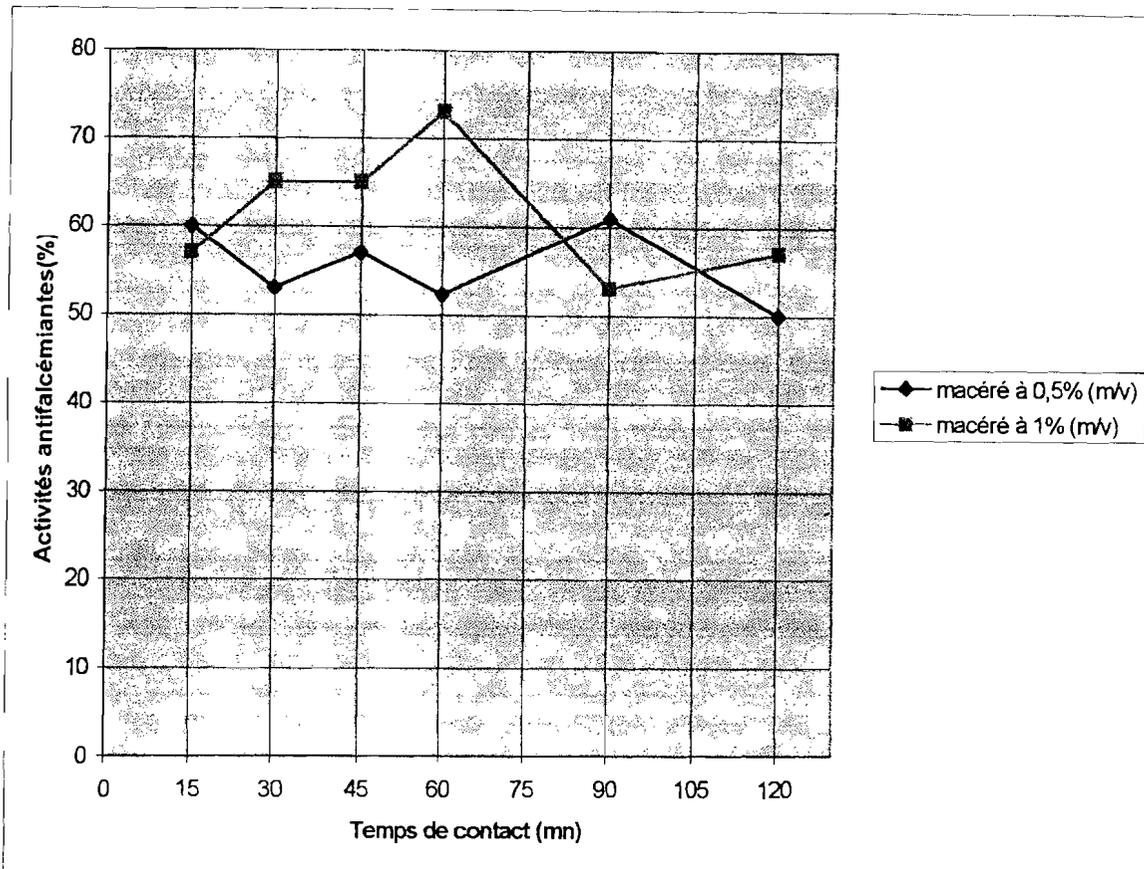


Figure 11: Courbes d'évolution des activités antifalcémiantes en fonction du temps de contact

II.3. L'activité anti-inflammatoire

Tableau XIV : Evolution du pourcentage d'augmentation du volume des pattes en fonction du temps (heure) chez le lot témoin blanc

	P ₁ M(%)	P ₂ M(%)	P ₃ M(%)	P ₄ M(%)	P ₅ M(%)	P ₆ M(%)
moyenne	56	68	92	99	71	69
écart-type	16	16	16	20	10	19

Tableau XV : Evolution du pourcentage d'augmentation du volume des pattes en fonction du temps (heure) chez le lot de référence (Betaméthasone à la dose de 2mg/Kg).

	P ₁ M(%)	P ₂ M(%)	P ₃ M(%)	P ₄ M(%)	P ₅ M(%)	P ₆ M(%)
moyenne	55	53	42	39	47	49
écart-type	12	8	12	9	8	10

Tableau XVI : Evolution du pourcentage d'augmentation du volume des pattes en fonction du temps (heure) chez le lot 1 (macéré aqueux à la dose de 85mg/Kg).

	P ₁ M(%)	P ₂ M(%)	P ₃ M(%)	P ₄ M(%)	P ₅ M(%)	P ₆ M(%)
moyenne	53	54	48	45	47	46
écart-type	22	17	15	21	16	19

Tableau XVII : Evolution du pourcentage d'augmentation du volume des pattes en fonction du temps (heure) chez le lot 2 (macéré aqueux à la dose de 170mg/Kg)

	P ₁ M (%)	P ₂ M (%)	P ₃ M (%)	P ₄ M (%)	P ₅ M (%)	P ₆ M (%)
moyenne	40	44	41	39	39	43
écart-type	24	20	22	27	24	24

Tableau XVIII : Pourcentages d'inhibition de l'œdème en fonction du temps et des doses.

	1 heure	2 heures	3 heures	4 heures	5 heures	6 heures
Betamé- sone à 2mg/Kg	1,78 %	22,05 %	54,35 %	60,61 %	33,80 %	28,99 %
Macéré à 85mg/Kg	5,36 %	20,59 %	47,83 %	54,55 %	33,80 %	33,33 %
Macéré à 170mg/ Kg	28,57 %	35,29 %	55,43 %	60,61 %	45,07 %	37,68 %

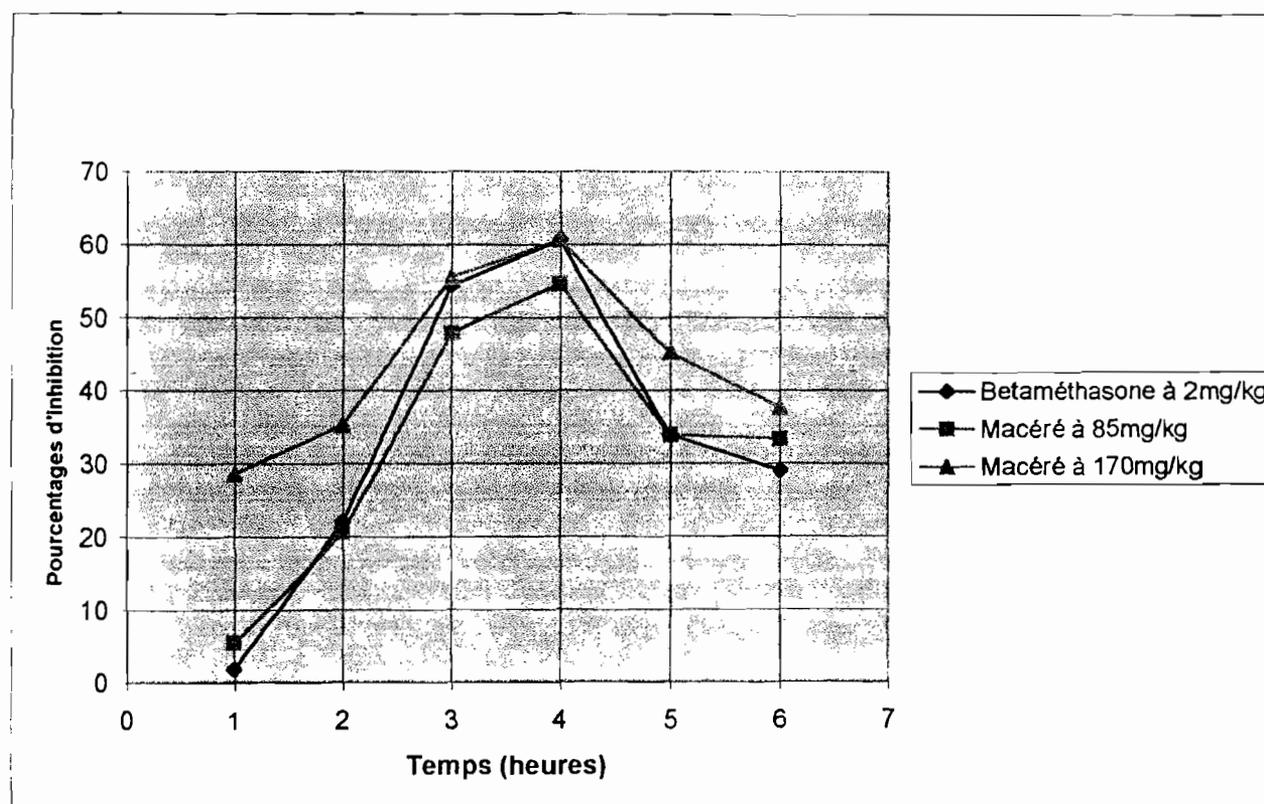


Figure 12: Courbes d'évolution des pourcentages d'inhibition de l'œdème en fonction du temps

II.4. L'activité relaxante des muscles**lisses****II.4.1. Etude de l'activité antispasmodique****II.4.1.1. Effet du macéré sur l'action de l'acétylcholine****Tableau XIX : Effets du macéré sur les contractions de l'intestin induites par l'acétylcholine**

	macéré à 1%	macéré à 3%	macéré à 6%	macéré à 12%	macéré à 16%	macéré à 20%
\bar{X}_1 (cm)	2,9	5,5	3,4	4,7	4,1	5,0
s_1 (cm)	0,1	0,0	0,2	0,3	0,2	0,1
\bar{X}_2 (cm)	2,9	3,7	1,8	3,8	3,0	2
s_2 (cm)	0,0	0,1	0,3	0,4	0,7	1

\bar{X}_1 = moyenne des hauteurs(cm) des pics dus à l'acétylcholine seule ;
 s_1 leur écart-type.

\bar{X}_2 = moyenne des hauteurs(cm) des pics dus à l'interaction acétylcholine-macéré; s_2 leur écart-type.

Tableau XX : Pourcentages d'inhibition des contractions induites par l'acétylcholine en fonction de la concentration du macéré.

	macéré à 1%	macéré à 3%	macéré à 6%	macéré à 12%	macéré à 16%	macéré à 20%
Moyenne (%)	0,00	32	48	20	27	51
Ecart-type (%)	0,00	2	8	8	17	18

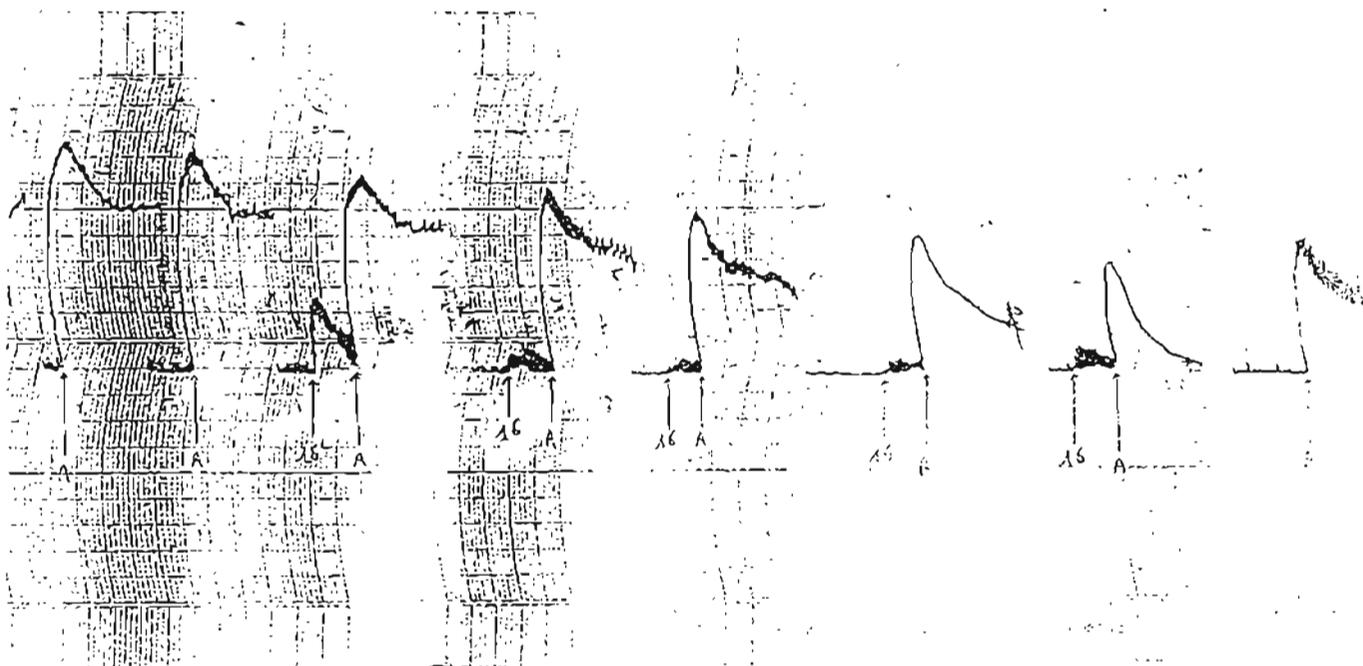


Figure 13 : Effets du macéré aqueux sur les contractions de l'intestin dues à l'acétylcholine (administration préventive)

↑ 16 : administration du macéré à 16%(m/v)

↑ A : administration de l'acétylcholine

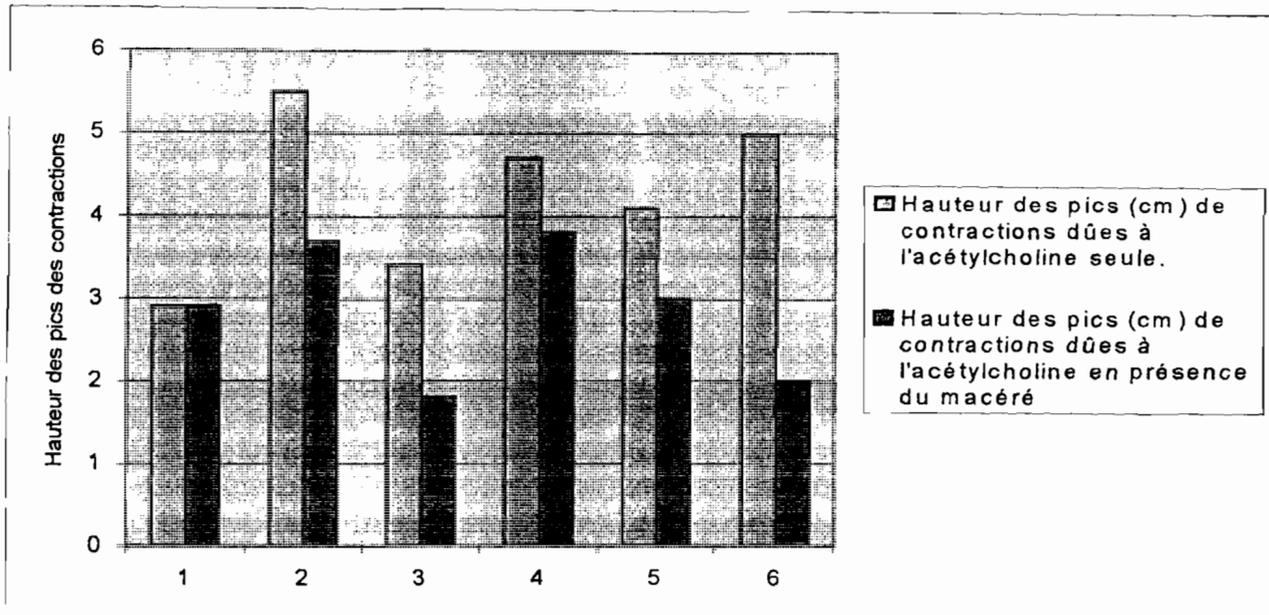


figure 14: Effet du macéré sur l'action de l'acétylcholine

1, 2, 3, 4, 5, 6 correspondent respectivement aux concentrations du macéré de 1, 3, 6, 12, 16, 20%

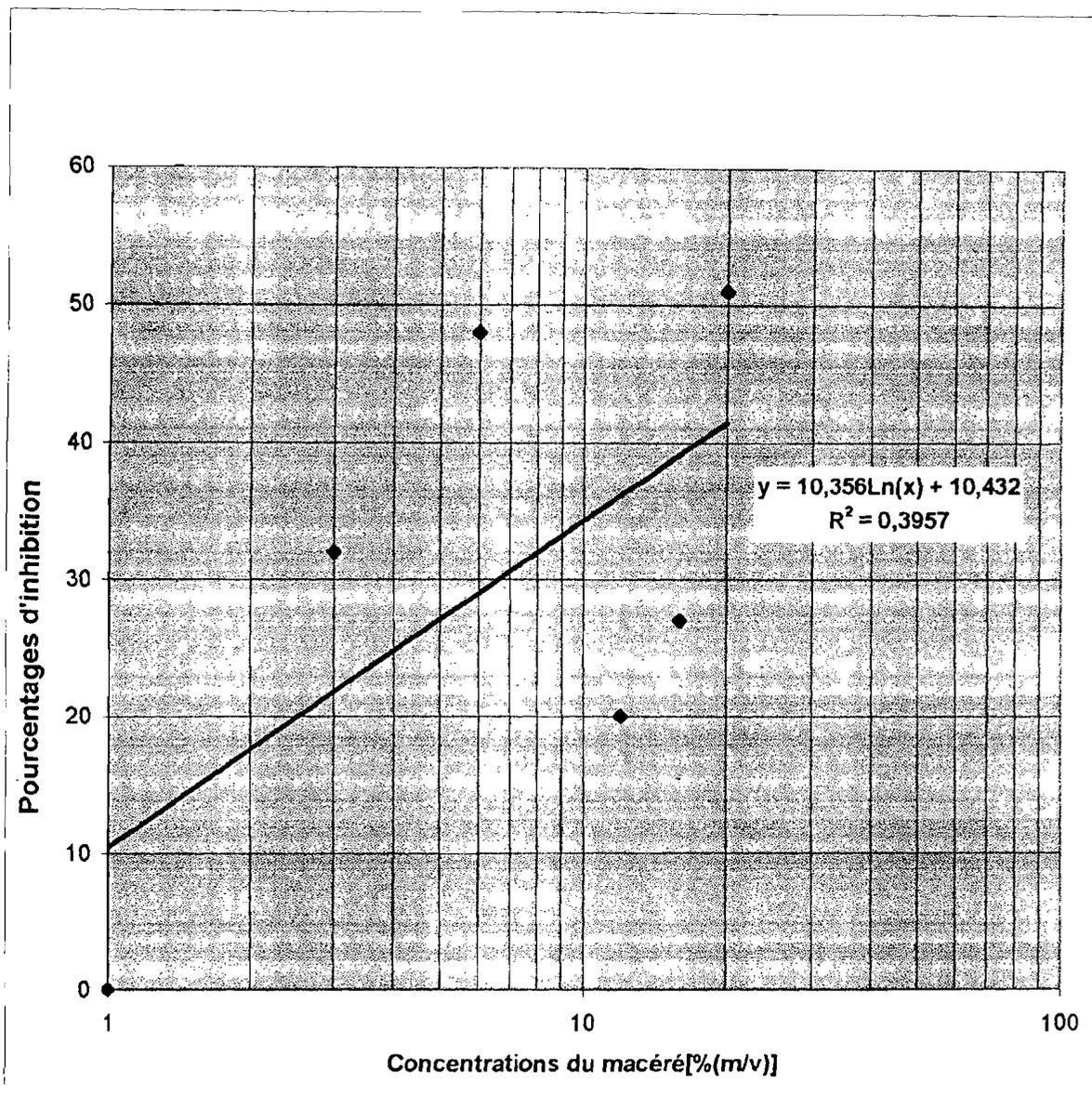


Figure 15: Courbe d'évolution des pourcentages d'inhibition des contractions (induites par l'acétylcholine) en fonction des concentrations du macéré (administration préventive)

II.4.1. 2. Effet du macéré sur l'action du chlorure de baryum

Tableau XXI: Effets du macéré sur les contractions de l'intestin induites par le chlorure de baryum

	macéré à 1%	macéré à 3%	macéré à 12%	macéré à 16%
\bar{X}_1 (cm)	5,1	4,1	5,7	4,1
s_1 (cm)	0,2	0,2	0,0	0,0
\bar{X}_2 (cm)	4	2	2	0,5
s_2 (cm)	1	1	2	0,8

\bar{X}_1 = moyenne des hauteurs (cm) des pics de contraction dus au chlorure de baryum seul ; s_1 leur écart-type.

\bar{X}_2 = moyenne des hauteurs (cm) des pics de contraction dus à l'interaction chlorure de baryum- macéré ; s_2 leur écart-type.

Tableau XXII : Pourcentages d'inhibition des contractions induites par le chlorure de baryum en fonction de la concentration du macéré.

	macéré à 1%	macéré à 3%	macéré à 12%	macéré à 16%
Moyenne (%)	31	60	71	87
Ecart-type (%)	26	24	39	21

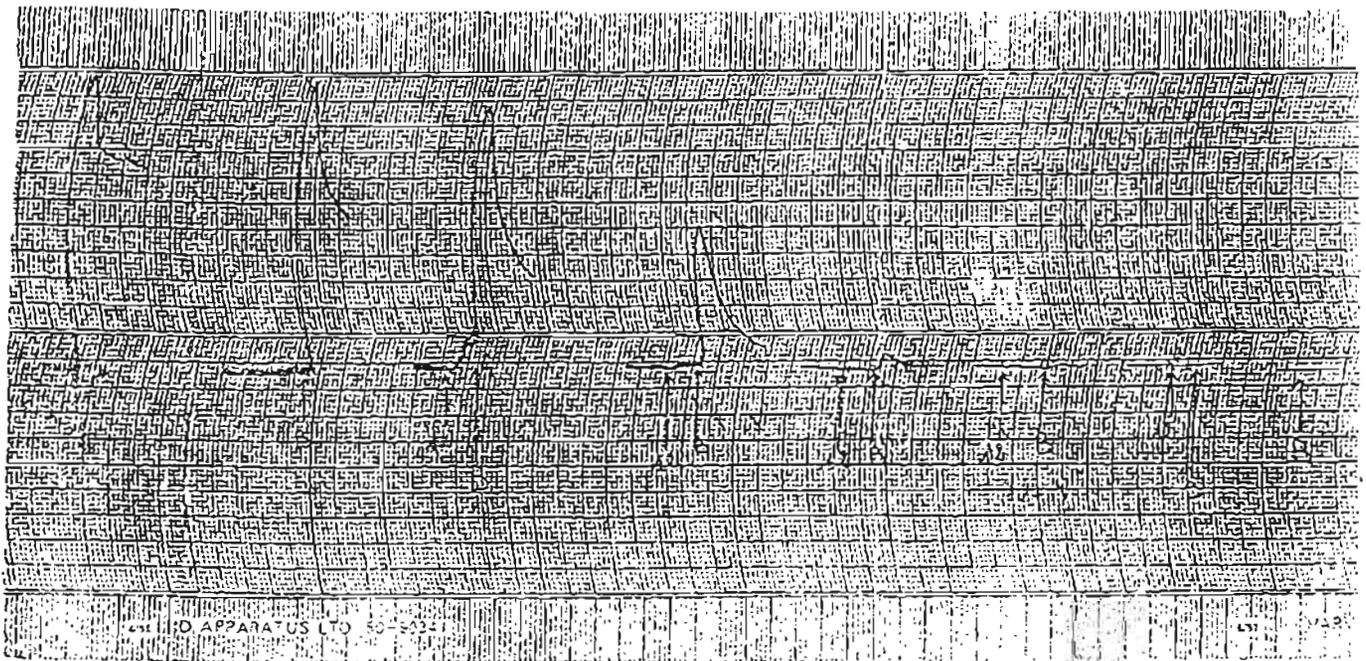


Figure 16 : Effets du macéré aqueux sur les contractions dues au chlorure de baryum(méthode préventive)

↑ 2 : administration du macéré à 12%(m/v)

↑ B : administration du chlorure de baryum

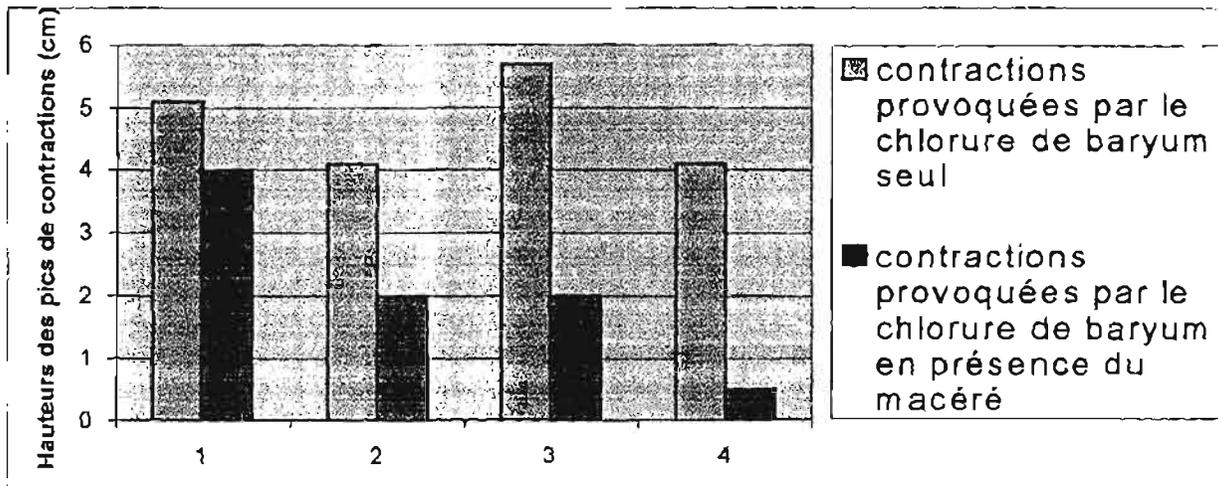


Figure 17 : Effet du macéré sur l'action du chlorure de baryum

1, 2, 3, 4 correspondent respectivement aux concentrations du macéré de 1, 3, 12, 16%.

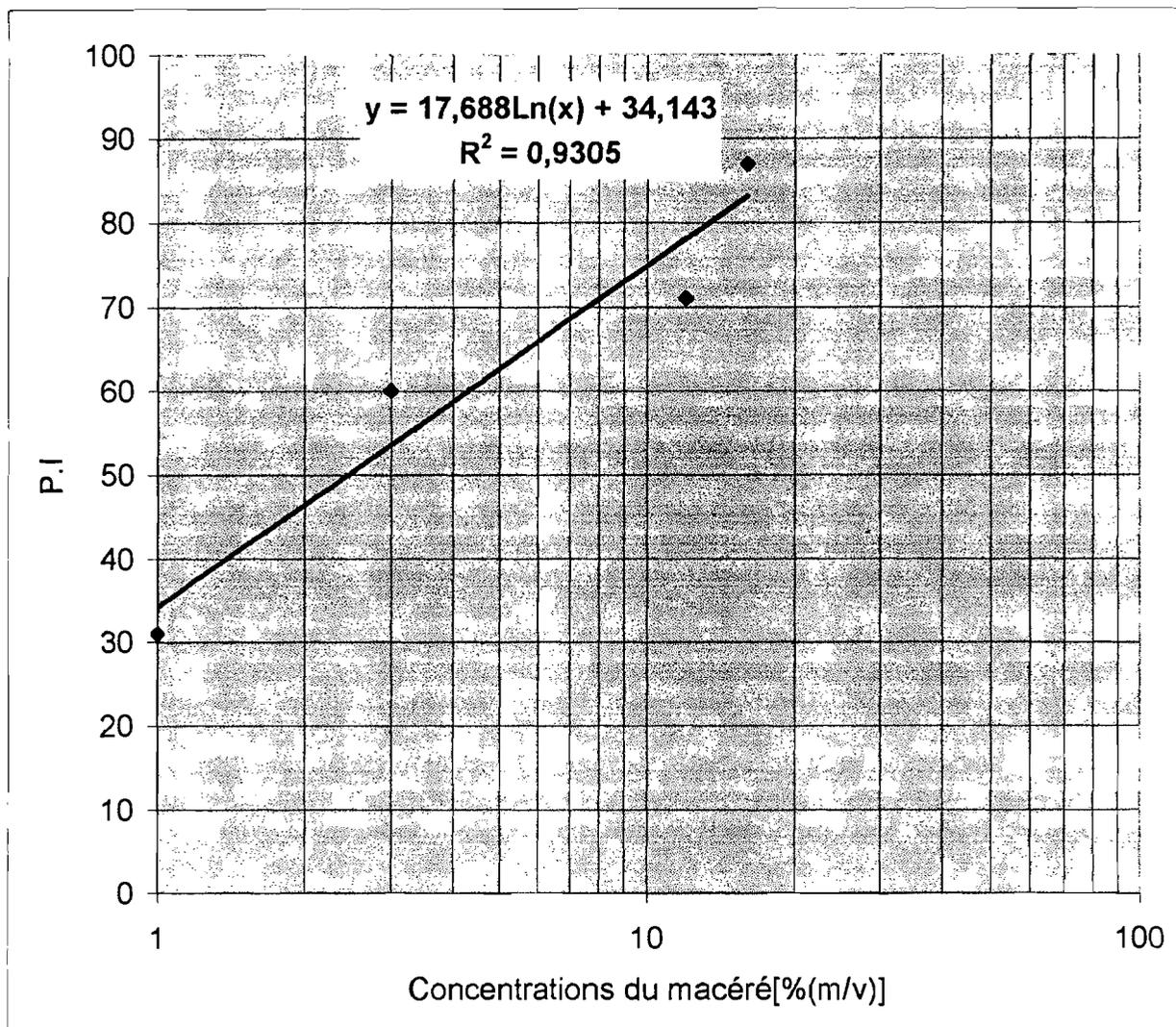


Figure 18: courbe d'évolution des pourcentages d'inhibition(P.I) des contractions (induites par le chlorure de baryum) en fonction des concentrations du macéré (administration préventive)

C.I.50% = 2,5%(m/v)

II.4.2. L'activité spasmolytique

II.4.2.1. Effet du macéré sur l'action de l'acétylcholine.

Tableau XXIII : Effet du macéré sur les contractions induites par l'acétylcholine.

	macéré à 1%	macéré à 3%	macéré à 6%	macéré à 9%	macéré à 12%
\bar{X}_3 (cm)	3,2	3,3	4,8	5,7	2,4
s_3 (cm)	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1
\bar{X}_4 (cm)	3,0	2,3	2,2	1,9	0,0
s_4 (cm)	0,2	0,5	0,6	1,2	0,0

\bar{X}_3 = moyenne des hauteurs (cm) des plateaux dus à l'acétylcholine seule; s_3 leur écart-type.

\bar{X}_4 = moyenne des hauteurs (cm) des plateaux dûs à l'interaction macéré – acétylcholine; s_4 leur écart-type.

Tableau XXIV : Pourcentages d'inhibition des contractions induites par l'acétylcholine en fonction de la concentration du macéré.

	macéré à 1%	macéré à 3%	macéré à 6%	macéré à 9%	macéré à 12%
Moyenne (%)	6	34	55	66	100,00
Ecart-type (%)	5	10	13	21	0,00

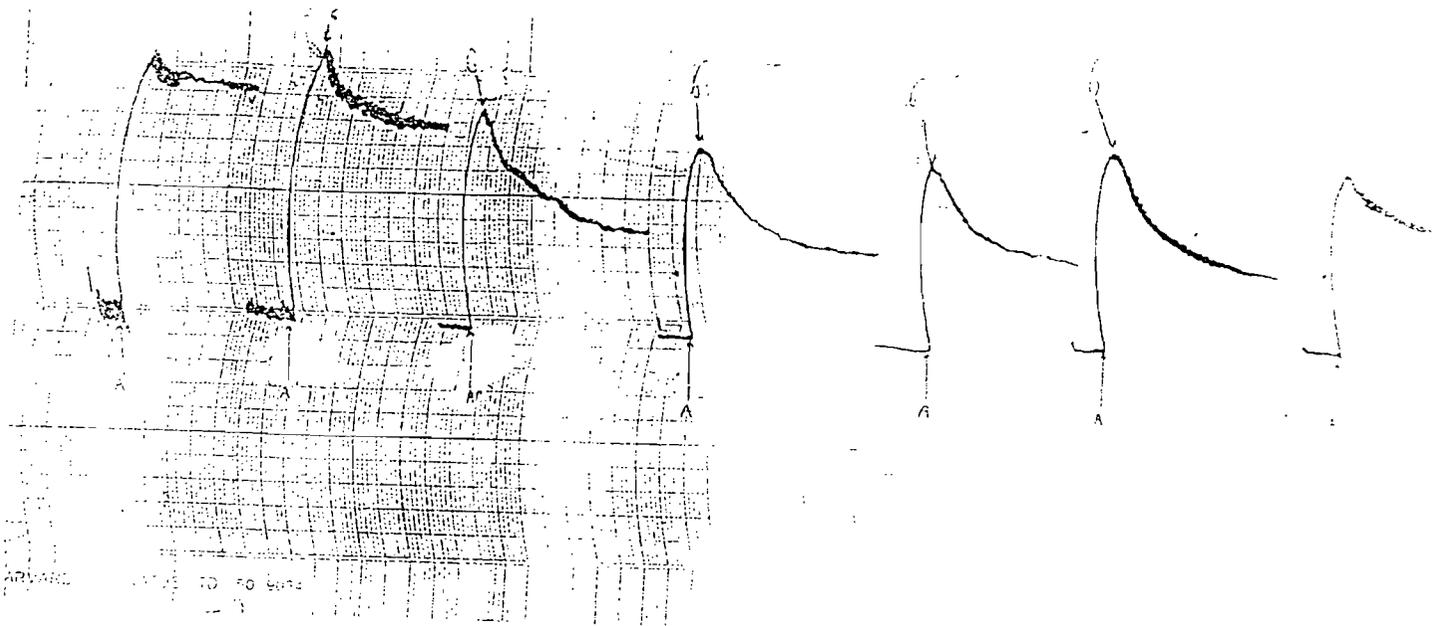


Figure 19 : Effet du macéré aqueux sur les contractions dues à l'acétylcholine(administration curative)

↓ 6 :administration du macéré à 6%(m/v)

↑ A :administration de l'acétylcholine

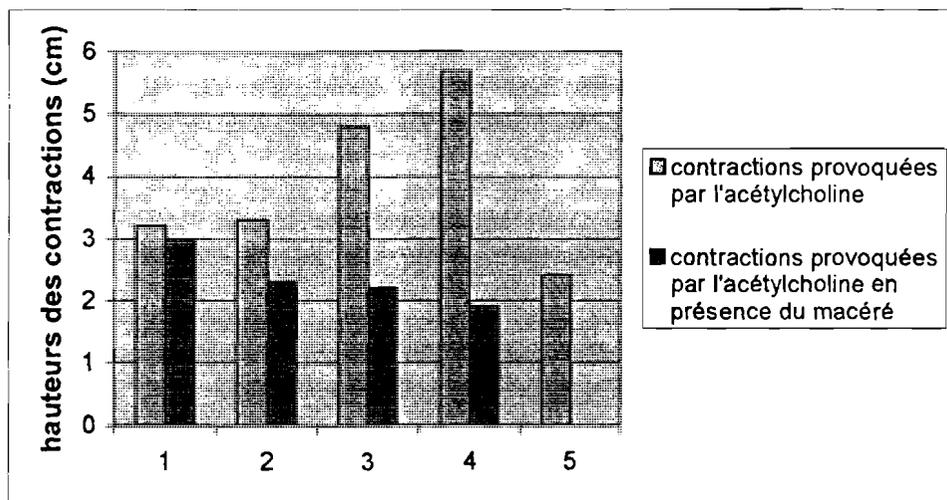


Figure 20 : Effet du macéré sur l'action de l'acétylcholine

1, 2, 3, 4, 5 correspondent respectivement aux concentrations du macéré de 1, 3, 6, 9, 12%

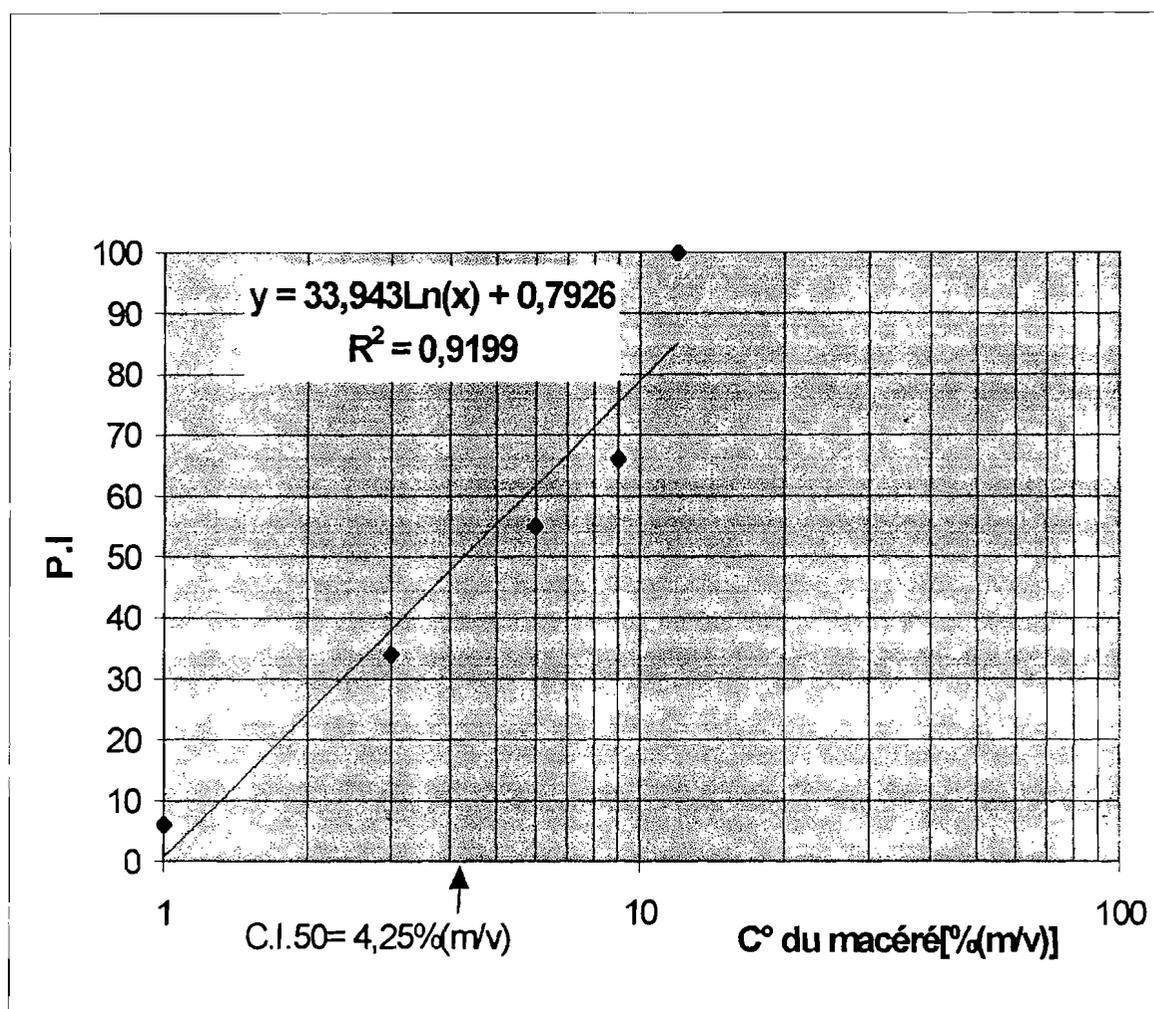


Figure 21: Courbe d'évolution des pourcentages d'inhibition(P.I) des contractions en fonction des concentrations du macéré(C°)

C.I.₅₀ = 4,25%(m/v)

II.4.2.2. Effet du macéré sur l'action du chlorure de baryum

Tableau XXV: Effet du macéré sur les contractions induites par le chlorure de baryum.

	macéré à 1%	macéré à 3%	macéré à 6%	macéré à 9%	macéré à 12%
\bar{X}_3 (cm)	3,3	3,1	2,9	3,5	2,1
s_3 (cm)	0,1	0,3	0,1	0,1	0,2
\bar{X}_4 (cm)	2,5	0,5	0,2	0,1	0,0
s_4 (cm)	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0

\bar{X}_3 = moyenne des hauteurs (cm) des plateaux de contractions dus au chlorure de baryum; s_3 leur écart-type.

\bar{X}_4 = moyenne des hauteurs (cm) des plateaux de contractions dus à l'interaction macéré - chlorure de baryum; s_4 leur écart-type.

Tableau XXVI : Pourcentages d'inhibition des contractions induites par le chlorure de baryum en fonction de la concentration du macéré.

	macéré à 1%	macéré à 3%	macéré à 6%	macéré à 9%	macéré à 12%
Moyenne (%)	24	83	93,10	97	100,00
Ecart-type (%)	4	1	0,00	2	0,00

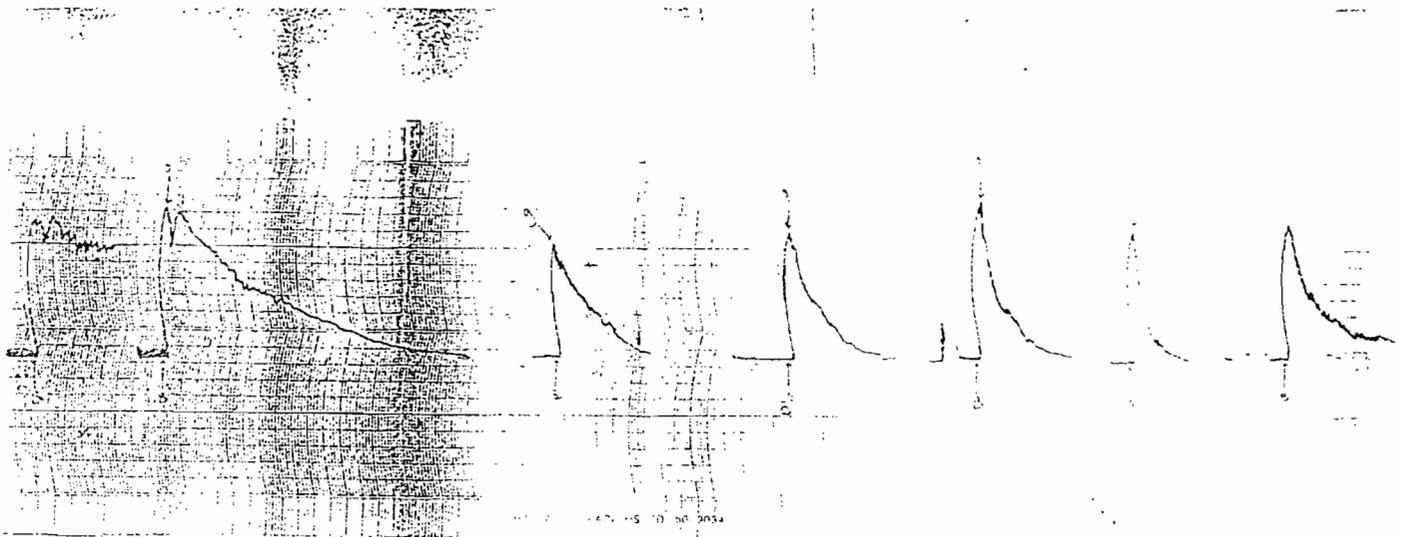


Figure 22 : Effets du macéré aqueux sur les contractions dues au chlorure de baryum(administration curative)

↓ 9 :administration du macéré à 9%(m/v)

↑ B :administration du chlorure de baryum

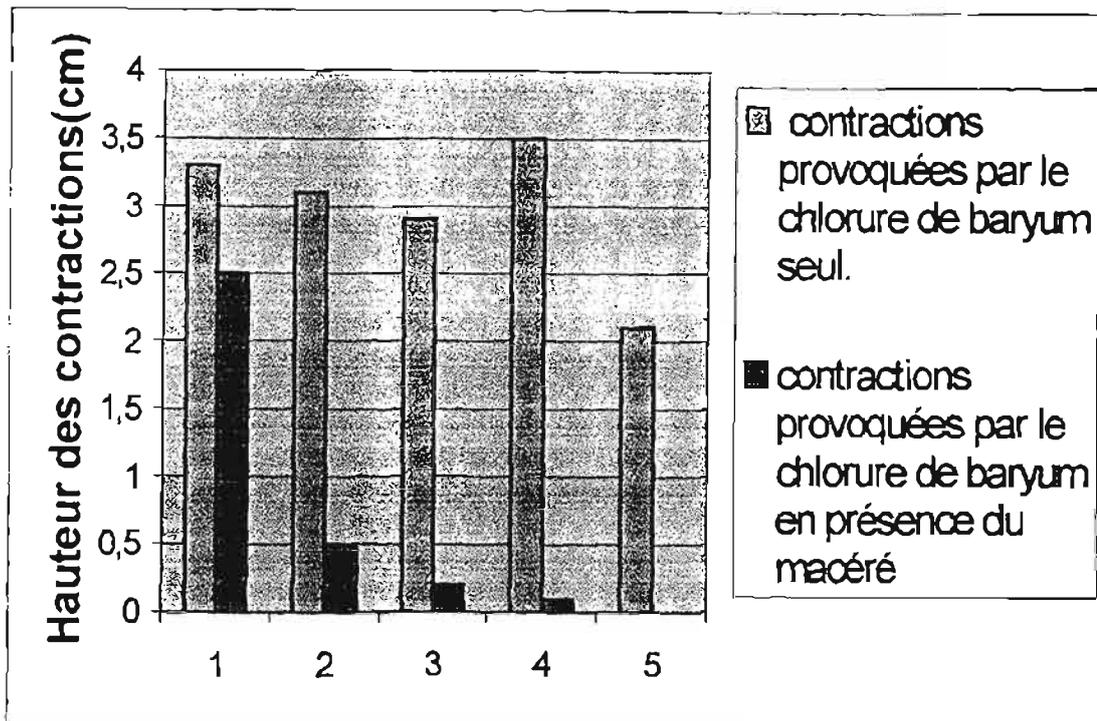
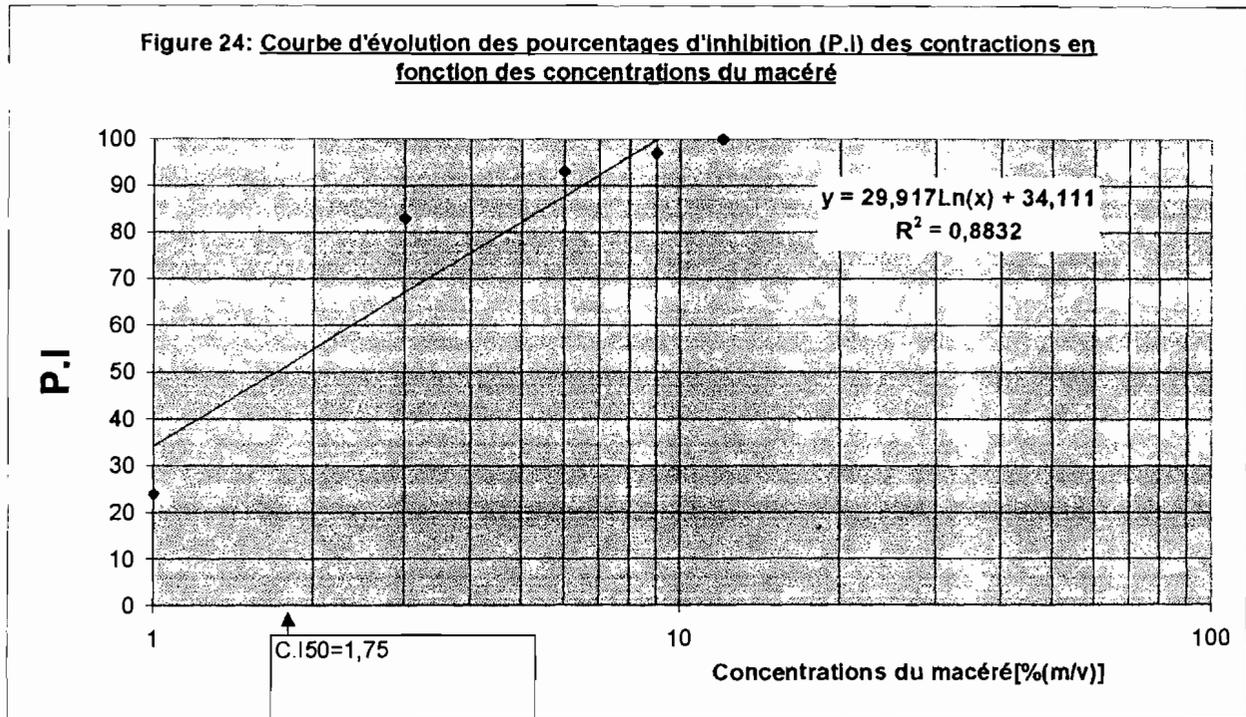


Figure 23 : Effet du macéré sur l'action du chlorure de baryum

1, 2, 3, 4, 5 correspondent aux concentrations respectives du macéré de 1, 3, 6, 9, 12%.



$C.I.50 = 1,75\% (m/v)$

COMMENTAIRES / DISCUSSIONS

Chapitre III : COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS.

I. ETUDES PHYTOCHIMIQUES

Le screening chimique du macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepiadaceae*) a révélé la présence d'alcaloïdes, de saponines, de triterpènes et de stérols (sous forme hétérosidique) . Les spectres d'absorption des spots de l'hydrolysate ont eu la même évolution que ceux du β -sitostérol et de l' α -amyrine. On pourrait dire que ces spots sont du même groupe chimique (stérol ou triterpène) que le β -sitostérol ou l' α -amyrine. Leur absorbance maximale dans l'ultraviolet a été obtenue à une longueur d'onde située entre 290 et 315nm. Les composés chimiques mis en évidence par chromatographie sur couche mince ont confirmé les résultats des réactions de caractérisation usuelles sur tube à essai. Les coumarines, les flavonoïdes , les tannins n'ont pas été retrouvés dans le macéré selon les réactions de caractérisation.

Les alcaloïdes pourraient participer aux effets anticontracturant ou antifalcémiant du macéré aqueux de la drogue. Les alcaloïdes sont connus comme susceptibles d'avoir ces propriétés physiologiques [PARIS et coll.,1965; BRUNETON,1993]. Les stéroïdes sont à la base des anti-inflammatoires stéroïdiens de la médecine moderne.

L'activité anti-inflammatoire du macéré pourrait s'expliquer par la présence des saponosides , des triterpènes , ou des stérols. Ces groupes phytochimiques sont le plus souvent impliqués dans cette activité [PARIS et coll.,1965; LOMPO,1999 ; BRUNETON,1993].

MOSSA et coll.(1991) ont trouvé que l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepiadaceae*) contenait des alcaloïdes , des hétérosides cardiotoniques , des flavonoïdes, des tannins, des saponines, des stérols et /ou triterpènes .

Le screening chimique, Le dosage des alcaloïdes du macéré, les différents chromatogrammes et les spectres d'absorptions du chromatogramme 3 (figure 5) pourraient constituer des traceurs chimiques de la poudre d'écorces de racines de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepiadaceae*) .

Le chromatogramme 3 (figure 4) a montré que les spots 4 et 5 avaient respectivement les mêmes références frontales que le β -sitostérol et l' α -amyrine. Cela pourrait laisser penser à la présence de ces substances dans l'hydrolysate. Cependant, la seule chromatographie sur couche mince ne nous permet de nous prononcer sur la structure chimique exacte de ces spots.

II. ETUDES BIOLOGIQUES

Le choix d'étude de la toxicité aiguë des propriétés antifalcémiantes, anti-inflammatoires, et relaxantes des muscles lisses s'est fait sur la base de la physiopathologie de la maladie drépanocytaire et sur la recherche d'innocuité; Ceci pour voir la part de *Calotropis procera* Ait. dans l'effet thérapeutique du FACA®.

II.1. La toxicité de *Calotropis procera* Ait.

II.1.1. La toxicité générale aiguë

La DL50 de 973mg/Kg (par voie intrapéritonéale) du macéré aqueux de la drogue nous permet de le classer comme composé faiblement toxique selon l'échelle de toxicité de HODGE et STERNER (1949). L'égalité des rapports DL5/DL50 et DL50/DL95 indique la validation de la courbe de toxicité. Le rapport DL95/DL5 étant de 4 montre que l'intervalle de sécurité d'utilisation du macéré est étroit. Il faudrait donc l'utiliser en respectant scrupuleusement les doses prescrites au risque d'atteindre des doses toxiques.

DIEYE et coll.(1993) ont trouvé que le macéré aqueux des écorces de tiges de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepiadaceae*). a une DL50 de 5,50g/Kg (par voie orale) chez les souris; donc pratiquement sans toxicité. MOSSA et coll.(1991) ont trouvé que l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepiadaceae*). n'a pas provoqué de mort ou de symptômes d'intoxication jusqu'à une dose de 3g/Kg (par voie orale).

Cette différence de toxicité (d'avec nos résultats) s'explique par la différence de voies d'administration et des parties de la plante utilisée. La voie intrapéritonéale (assurant une plus grande biodisponibilité) que nous avons utilisée s'avère plus favorable à une intoxication.

Une étude de toxicité générale aiguë menée par LOMPO et coll. (1999) sur l'extrait aqueux de FACA® (mélange de poudre

d'écorces de racines de deux plantes dont *Calotropis procera Ait*) a conduit à une DL50 de 600mg/Kg (par voie intrapéritonéale). Le macéré aqueux du FACA s'avère un peu plus toxique que celui des écorces de racines de *Calotropis Procera Ait.(Asclepiadaceae)* du fait d'une synergie d'effet entre les deux plantes. Cependant, il reste classé, comme le macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera Ait.(Asclepiadaceae)* dans la catégorie des substances faiblement toxiques (selon l'échelle de toxicité de HODGE et STERNER).

Outre les symptômes d'intoxications (dyspnées, convulsions, anorexie et passivité) que nous avons notés dans notre étude, PAHWA (1988) a noté dans une étude de toxicité subaiguë (10 jours) , une hématurie, des rectorragies, des diarrhées chez certains rats ; Ceci après une administration quotidienne de latex de *Calotropis procera Ait.(Asclepiadaceae)* par voie orale. Ils ont enregistré des morts d'animaux dans les 10 jours suivant cette administration quotidienne. Ces résultats pourraient confirmer les propriétés toxiques immédiates du latex rapportées par certains auteurs [KERHARO et coll.,1974].

Dans notre étude, les symptômes d'intoxications et les morts ont été observés dans les deux heures suivant l'administration des macérés de la « drogue » aux doses toxiques. Aucun mort n'a plus été enregistré après ces deux d'observation. On pourrait donc dire que la toxicité aiguë du macéré aqueux de la « drogue » est immédiate.

II.1.2. Test d'hémolyse *in vitro*

In vitro, la concentration du macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera Ait.* n'a pas provoqué d'hémolyse à la dose de 20% ; Ceci malgré la présence de saponosides dans le macéré. Le risque d'hémolyse après administration du macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera Ait.* est donc peu probable.

II.1.3. L'activité intrinsèque spasmodogène d'un macéré aqueux de la « drogue » à la concentration de 20% .

Le macéré aqueux de la « drogue » à 20% a provoqué une contraction de l'intestin isolé . Cette contraction a été précédée d'un

relâchement (inhibition) des contractions spontanées de l'intestin (Figure 18). L'activité spasmogène de l'extrait aqueux et éthanolique des racines de *Calotropis procera* a déjà été signalée par KERHARO J et coll. (1974).

La contraction provoquée par le macéré a été inhibée par l'atropine sulfate. Pour la même dose d'atropine sulfate, les pourcentages d'inhibition des contractions ont augmenté au fur et à mesure que les tests sont répétés sur le même intestin (figure 18). Ce phénomène pourrait conforter l'hypothèse (que nous avons émises plus haut) selon laquelle le macéré contiendrait et des substances antispasmodiques se fixant fortement sur leur(s) site(s) d'action, et des substances spasmogènes qui, elles, se fixeraient de manière réversible sur leur(s) récepteur(s). Ces substances pourraient être les alcaloïdes, qui du reste ont été caractérisés dans le macéré aqueux. En effet, ils sont réputés doués d'activités spasmogènes ou antispasmodiques [BRUNETON, 1993].

Nos résultats corroborent ceux de MOSSA et coll. (1991) qui ont rapporté que l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) a induit des contractions de l'intestin isolé de cobaye; lesquelles contractions sont antagonisées par l'atropine.

DOMO (1998) a trouvé que l'extrait alcoolique des écorces de racines de *Ximenia americana* contractait (de façon irréversible) l'intestin isolé de rat après une phase d'inhibition. Ceci a été constaté aux doses supérieures ou égales à 4mg/ml; alors qu'aux doses inférieures l'extrait s'était révélé antispasmodique.

L'activité spasmogène du macéré aux fortes doses pourrait expliquer les convulsions, les dyspnées (peut-être par bronchoconstriction) constatées lors du test de toxicité générale aiguë chez la souris N.M.R.I., et aussi la relative faible activité anticholinergique du macéré. La mise en évidence de l'activité spasmogène pourrait expliquer l'utilisation traditionnelle de cette plante comme fortifiant stomacal signalée par HANS-JÜRGEN VON MAYDELL (1990).

On pourrait alors dire que le macéré aqueux contient différents principes, qui les uns sont capables d'inhiber les contractions, les autres induisant des contractions; les seconds ne s'exprimant qu'à des doses fortes.

L'inhibition des contractions (provoquées par le macéré à 20%) par l'atropine laisse penser que l'atropine antagonise de manière compétitive certains principes actifs du macéré. L'atropine

étant un anticholinergique de référence, le macéré à 20% aurait donc une activité cholinomimétique. Cette activité cholinomimétique pourrait être à l'origine d'une activité vasodilatatrice (du macéré). En effet, en injection intraveineuse, l'acétylcholine provoque de manière indirecte une vasodilatation par libération d'oxydes nitriques (NO) des cellules endothéliales vasculaires [ELGHOZI et coll., 1989].

L'activité cholinomimétique du macéré à la forte dose suggère des précautions d'emploi de la poudre d'écorces de racines de *Calotropis procera Ait.* chez les sujets asthmatique, hypotendu, parkinsonien.

II.2. L'activité antifalcémiant

Le macéré aqueux de la « drogue » aux doses de 0,5% et 1% ont inhibé la formation de drépanocytes. Cette activité anti-drépanocytaire a été maximale en 1 heure 30mn de contact (les hématies avec le macéré) à la dose de 0,5%. Cette activité maximale a été atteinte en 1 heure à la dose de 1%. L'effet maximal a été donc plus précoce à la plus forte dose (figure 20).

L'activité antifalcémiant (antidrépanocytaire) maximale du macéré a augmenté avec la dose du macéré. En effet, le maximum de l'activité antifalcémiant a été de 61,77% à la dose de 0,5%, et a atteint 72,77% à la dose de 1% .

Nos résultats corroborent ceux de OUATTARA (1991) qui avait déjà fait cas de l'activité antifalcémiant du macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera Ait.* (Asclepiadaceae) à la dose de 1% .

L'hypothèse selon laquelle une neutralisation du pH du milieu sanguin pourrait inhiber la falciformation [MIALE, 1982] est très peu probable car le pH de nos macérés était acide (pH=6).

Une autre hypothèse est que l'hypotonie du milieu extraglobulaire favoriserait une hydratation des hématies , réduisant ainsi la falciformation [LONDORFER et coll., 1988]. Cette dernière est aussi moins probable car nos macérés ont été faits avec de l'eau physiologique (solution de chlorure de sodium à 0,9% isotonique au milieu intraglobulaire), empêchant donc le mouvement ionique du sodium à travers la membrane. .

II.3. L'activité anti-inflammatoire :

Les macérés aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepiadaceae*) (aux doses de 85mg/kg et 170mg/kg) ont inhibé pendant au moins six heures l'œdème induit par la carragénine. Cette inhibition (induite aussi par la betaméthasone à la dose de 2mg/kg) a été maximale à la quatrième heure suivant l'administration de la carragénine. L'activité anti-inflammatoire du macéré a la même cinétique que celle de la betaméthasone (figure 9). Cette activité serait due aux stérols ou aux triterpènes caractérisés dans le macéré (Tableau I). MASCOLO et coll.(1988) ont trouvé que l'extrait éthanolique des fleurs de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepiadaceae*) avait une activité anti-inflammatoire. Cependant, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique des parties aériennes (à la dose de 500mg/kg) n'est pas significative chez le rat selon MOSSA et coll.(1991). Une différence de composition chimique (ou de concentration en principes chimiques) des différentes parties de la plante pourrait être à l'origine de ces différences d'activités.

Les pourcentage d'inhibition maximal de l'œdème ont été de 54,60% et de 55,04% respectivement aux doses de 85mg/kg et de 170mg/kg du macéré. Ces doses sont inférieures à la dose atoxique de 600mg/Kg. L'activité anti-inflammatoire de la betaméthasone est nettement supérieure à celle des macérés aqueux. En effet, le pourcentage d'inhibition maximal de l'œdème par la betaméthasone a été de 61,21% à la dose de 2mg/kg.

Le mécanisme d'action de cette activité anti-inflammatoire pourrait être l'action anticalcique ou l'inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique (qui est un métabolite important de tout processus inflammatoire). En effet, SEN (1988) a montré que l'extrait chloroformique des racines de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepiadaceae*) inhibait le métabolisme de l'acide arachidonique induit par la 5-lipoxygénase.

II.4. L'activité relaxante des muscles lisses :

Les macérés aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepiadaceae*) ont inhibé les contractions (de l'intestin

isolé) provoquées par l'acétylcholine et par le chlorure de baryum. Ils sont doués donc d'activités antispasmodiques neurotrophe et musculotrope; ceci tant en administrations préventive que curative .

En administration curative , les pourcentages d'inhibition des contractions ont augmenté toujours avec les doses du macéré (figure 15 et 17). L'activité antispasmodique du macéré en administration curative est dose – dépendante.

Par contre en administration préventive , les pourcentages d'inhibition des contractions dues à l'acétylcholine fluctuent beaucoup avec les doses du macéré comme l'atteste le faible coefficient de corrélation dose-effet ($R^2 = 0,3957$).

En administration curative, la concentration de macéré capable d'inhiber à 50% les contractions (concentration inhibitrice 50%) provoquées par l'acétylcholine a été de 4,25% (m/v). Elle est supérieure à celle capable d'inhiber à 50% les contractions provoquées par le chlorure de baryum : $C.I_{50\%} = 1,75\%$ (m/v).

En administration préventive, la concentration inhibitrice 50% du macéré vis à vis des contractions provoquées par le chlorure de baryum est égale à 2,5%(m/v). Du fait du faible coefficient de corrélation dose-effet en administration préventive, il nous a été difficile d'extrapoler une $C.I_{50\%}$ vis à vis des contractions dues à l'acétylcholine.

L'activité antispasmodique musculotrope s'est avéré plus marquée que la neurotrophe. Il s'agit d'un effet d'inhibition de l'activité du calcium sur les muscles lisses.

Le macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait.(Asclepiadaceae) inhibent mieux les contractions provoquées par l'acétylcholine ou le chlorure de baryum en administration curative qu'en administration préventive.

Dans une étude d'activité antispasmodique, LOMPO et coll. ont trouvé qu'en curative , le macéré aqueux des écorces de tronc de *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss inhibait plus les contractions provoquées par le chlorure de baryum que celles provoquées par l'acétylcholine; ceci à la même dose du macéré. Mais en administration préventive, les pourcentages d'inhibitions des contractions provoquées par l'acétylcholine ou le chlorure de baryum étaient égaux.

Au fur et à mesure que les tests sont répétés sur le même intestin , nous avons observé une tendance à une diminution progressive des pics ou des plateaux de contractions aux même doses de macéré. Nous pourrions penser à un effet cumulatif des doses lorsque les essais sont répétés successivement. Certaines

substances actives du macéré créeraient de fortes liaisons (lentement réversibles) avec leurs sites d'action qu'un simple lavage (à la solution de TYRODE) n'arrive pas à rompre.

En effet, après la réalisation de cinq tests (macéré plus contracturant), l'administration du contracturant seul donnent des pics ou des plateaux de contraction inférieurs à ceux obtenus avec le contracturant seul avant administration du macéré aqueux de la « drogue » (figure 12). Le macéré aqueux des racines de *Calotropis procera Ait.* est donc doué d'une activité antispasmodique dont la réversibilité n'est pas totale et immédiate.

En administration préventive, le macéré aqueux a une activité intrinsèque spasmogène précédée d'une inhibition des contractions de base de l'intestin. Ces activités ne se sont exprimées de façon nette qu'à la dose de 20% du macéré. Malgré ce phénomène, le macéré à 20% a inhibé les contractions provoquées par le contracturant tout en exprimant dans un premier temps son activité intrinsèque spasmogène. Des substances actives spasmogènes et des substances actives antispasmodiques « cohabiteraient » donc dans le macéré. Les substances actives spasmogènes n'atteindraient leurs doses actives qu'aux fortes concentrations du macéré d'où une nécessité de respecter les posologies.

CONCLUSION

CONCLUSION

Le screening phytochimique du macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. a révélé la présence de saponines, d'alcaloïdes sels, et de terpènes et/ou stérols. Suivant notre protocole d'extraction, les rendements de la « drogue » en alcaloïdes sels, en matières sèches hydrosolubles, et en hydrolysate acide ont été respectivement de 0,40% (m/m), de 13,73% (m/m), et de 0,76% (m/m).

La dose létale 50% (DL₅₀) du macéré chez des souris a été de 973mg/kg (par voie intrapéritonéale); avec un intervalle de confiance de 721mg/kg à 1312mg/kg pour p = 0,05. Cette DL₅₀ fait du macéré aqueux une substance faiblement toxique selon l'échelle de toxicité de Ac. HODGE et J.H. STERNER. Les symptômes d'intoxication ont été caractérisés par une baisse de l'instinct d'exploration et de l'appétit, une polypnée et des convulsions précédant la mort des animaux. L'intoxication aiguë a été manifeste dans les deux heures suivant l'administration du macéré. Les animaux n'ayant pas présenté de signes d'intoxication dans ce laps de temps ne les ont plus présentés dans les 72 heures. L'intoxication aiguë au macéré semble seulement immédiate mais non retardée.

Le macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. n'a pas été hémolytique *in vitro* à la concentration de 20% .

Le macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. (*Asclepiadaceae*) a provoqué des contractions de l'intestin isolé lorsqu'il a été administré seul à la dose de 20% m/v. Ces contractions ont été précédées de légères inhibitions des contractions de base de l'intestin. L'activité spasmogène du macéré à 20% a été inhibée par un antispasmodique neurotrope de référence (atropine sulfate). Le macéré aurait une activité cholinomimétique aux fortes doses.

In vitro , le macéré aqueux aux doses de 0,5% et 1% ont inhibé la formation de drépanocytes provoquée par le métabisulfite de sodium. L'activité antifalcémiant maximale est plus forte et plus précoce à la plus forte dose. Elle a été de 72,77% après 60 mn de contact des hématies avec le macéré à 1% , alors que cette activité

maximale a été de 61,77% après 90mn de contact avec le macéré à 0,5%.

Le macéré aqueux a été doué d'activité anti-inflammatoire chez la souris par voie intrapéritonéale. Cette activité s'est avérée dose-dépendante. La maximale a été atteinte à la quatrième heure suivant l'administration de la carragénine. A la dose de 85mg/kg du macéré l'activité anti-inflammatoire maximale a été de 54,60% ; alors qu'à la dose de 170mg/kg elle a été 55,04% .

L'activité antispasmodique du macéré aqueux a été manifeste . Il a inhibé les contractions provoquées par le chlorure de baryum ou par l'acétylcholine. Il est antispasmodique musculotrope et neurotrope tant en administration curative que préventive. L'activité antispasmodique musculotrope du macéré a été plus marquée que celle neurotrope : en curative la concentration du macéré inhibant la contraction à 50% (=1,75% m/v) la contraction provoquée par le chlorure de baryum est inférieure à celle provoquée par l'acétylcholine (4,25% m/v); en préventive, cette concentration inhibitrice a été de 2,5%(m/v). Le macéré aqueux est plus efficace en administration curative qu'en préventive.

Deux hypothèses peuvent être retenues pour expliquer une éventuelle activité vasodilatatrice du macéré aqueux de la drogue. La première est que l'activité intrinsèque cholinergique du macéré pourrait provoquer de manière indirecte une vasodilatation par libération d'oxydes nitriques des cellules endothéliales vasculaires. La deuxième est que le macéré relaxerait directement le muscle lisse vasculaire grâce à sa très grande activité antispasmodique musculotrope (anticalcique).

L'étude a justifié les bases pharmacochimiques de l'utilisation de la poudre d'écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. dans la formulation du FACA® , phytomédicament antidrépanocytaire, par une activité myorelaxante, antifalcémiant et anti-inflammatoire. Elle est active aux doses atoxiques.

PERSPECTIVES

PERSPECTIVES

1. Isoler le ou les principe(s) actif(s) responsable(s) des différentes activités pharmacologiques établies.

2. Etudier la toxicité chronique du macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae).

3. Explorer d'autres mécanismes d'actions des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) dans le traitement de la crise drépanocytaire :
 - a. activité analgésique
 - b. activité vasodilatatrice directe

BIBLIOGRAPHIE

REFERENCES :

1. **ADJANOHOUN E J** . Contribution aux études botaniques et floristiques au Togo. Tournai : Gédit S. A. , 1987 : 671 .
2. **ANDRE L J**. Mesures médico-sociales pour la drépanocytose. Med. Afr. Noire 1989 ; 36(7) : 599.
3. **ATHALE U H, CHINTU C**. Clinical analysis of mortality in hospitalized Zambian children with sickle cell anaemia . East african medical journal 1994 ; vol 71 N°6 : 388-91 .
4. **BEGUE P**. La maladie drépanocytaire. Paris : Sandoz éditions, 1984 :309.
5. **BERHAUT J**. Flore du Sénégal. Dakar : Clairafrique, 1967 : 475 .
6. **BERHAUT J**. Flore illustrée du Sénégal tome I. Dakar : Clairafrique Dakar, 1971 : 626 .
7. **BERNARD J, LEVY J P, VARET B, CLAUVEL J P , RAIN J D, SULTAN Y**. Hématologie. 8^e édition. Paris : Masson, 1996 :349.
8. **BOUREE P**. Examens de laboratoire en médecine tropicale. Paris : Masson , 1987 : 151 .
9. **BOURIN M, LIEVRE M, ALLAIN H**. Cours de pharmacologie. 3^eédition. Paris : Edition marketing, 1993 : 351 .
10. **BROUSSAL G, NACOULMA O, SAWADOGO A**. Hémoglobinoses et drépanocytose en Haute -Volta. Imprimerie presses africaines, 1982 : 86.
11. **BRUNETON J**. Phytochimie, plantes médicinales. 2^e édition. Paris : Techniques et documentations LAVOISIER , 1993 : 915.

12. **CHOUCHANE N, GHERIDA K, TOUMI A, CHEMLI R.** Activité anti-inflammatoire d'un extrait des parties aériennes d'AJUVA IVA (L.). 1^{er} congrès international plantes médicinales et phytothérapie, Tunisie 1993 : p.115 .
13. **CLAUDE J R .** Investigations toxicologiques pour un nouveau médicament. Dans : Giroud J P et coll. , eds. Pharmacologie clinique/ bases de la thérapeutique. 2^e édition. Paris : Expansion scientifique française, 1988 : 3-14.
14. **COHEN Y.** Pharmacologie. Paris: Editions Masson, 1997 :466.
15. **DIEYE A.M, TIDJANI M.A, DIOUF A, BASSENE E, FAYE B.** Pharmacopée sénégalaise : étude de la toxicité aiguë et de l'activité antitussive de *Calotropis procera* Ait. (*asclepediaceae*).Dakar médical 1993 ; 38 : 69-72.
16. **COLOT M.** Notions techniques de pharmacologie générale. Paris : Masson & C^{ie}, 1972 : 137 .
17. **DOMART A , BOURNEUF J.** Nouveau Larousse médical. Paris : Larousse, 1991 :1143.
18. **DOMO Y.** Etude de l'action des écorces de racines de *Ximenia americana* linn.(*olacaceae*) sur les intoxications aux insecticides de synthèse. Mémoire de D.E.A en Physiologie animale. Université de Ouagadougou, 1998 :55
19. **DUCHENE-MARULLAZ P , KRAHENBUHL B.** Médicaments des affections artérielles périphériques. Dans : Giroud et coll. , eds. Pharmacologie clinique/bases de la thérapeutique. 2^e édition. Paris : Expansion scientifique française, 1988 : 411-22 .
20. **ELGHOZI J.L., DUVAL D.** Aide-mémoire de Pharmacologie. Editions Flammarion, 1989 :331.
21. **FONDU P.** Nouvelles tendances dans la prise en charge de la drépanocytose. Burkina médical 1999 ; numero spécial : p.4 .
22. **GALACTEROS F.** Anémies par hémoglobinopathies. Dans : HamburgerJ, Godeau P, eds. Traité de médecine. Paris :Flammarion Médecine-sciences, 1981 :2519-32.

23. **LOMPO M, OUATTARA A, OUEDRAOGO S, SOME N, GUISSOU I.P.** Toxicologie comparée de FACA et de ses différentes composantes. *Burkina médical* 1999 ; numéro spécial : P.87 .
24. **GUISSOU I P , SAWADOGO M, SAWADOGO A, OUATTARA A.** Etude de l'activité antidrèpanocytaire de gélules FACA chez les enfants en milieu hospitalier de Ouagadougou(C.H.N.Y.O) . *Pharm. Méd. Trad. Afr.* 1995 ; 1 : 29-38.
25. **HANS-JÜRGEN VON MAYDELL.** Arbres et arbustes du sahel, leurs caractéristiques et leurs utilisations. 2^e édition. Weikersheim : Verlag josef margraf scientific books, 1990 : 532 . .
26. **KERHARO J, ADAM J G.** La pharmacopée sénégalaise traditionnelle : plantes médicinales et toxiques. Paris : Vigot , 1974 : 1071 .
27. **KUMAR V L , BASU N.** Antiinflammatory activity of latex of *Calotropis procera*. *Journal of ethnopharmacology* 1994 ; 44 : 123-25 .
28. **LANDRY Y, GIES J P.** Pharmacologie moléculaire. Mécanismes d'action des médiateurs et des médicaments. Nantes : Cid éditions, 1989 : 617.
29. **LE BRAS M.** L'avenir du drépanocytaire. *Bull.Méd. Pharm.* 1987 ; 1 : 1-4.
30. **LE M.** Insecticidal activity of *Calotropis procera* extracts of the flesh fly , *Sarcophaga haemorrhoidalis* fallen. *J Egypt Soc parasitol* 1997 ; 27(2) : 505-14 .
31. **LOMPO M, GUISSOU I P, SOME N.** Inhibition des contractions intestinales du rat par l'extrait aqueux (macération) des écorces de tronc de *khaya senegalensis (desr.) a. juss.(meliaceae)*. *OCCGE-informations* ; N°102-103 : 31-7.
32. **LONDORFER A .** De l'action antifalcémiant de *Fagara xanthoxyloïdes*. *Pharm. Méd.Trad.Afr.* 1988 :71-3 .

33. **MAGNUS (R.)** – Versuche am überbunden Dünndarm Von Säugetieren. Arch.Ges. physiol. , 1904 , 102 , 123.
34. **MANUILA A, MANUILA L, NICOLE M, LAMBERT H.**
Dictionnaire français de médecine et de biologie 1. Paris : Masson & Cie, 1970 : 865 .
35. **MASCOLO N, SHARMA R, JAIN S C, CAPASSO F.**
Ethnopharmacology of *Calotropis procera* flowers. J. Ethnopharmacol. 1988 ; 22(2) : 211-20 .
36. **MERCK E, SCHUCHARDT ET CO.**Réactifs diagnostica produits chimiques. Overijse : Merck, 1987 : 875 .
37. **MIALE J B** . Laboratory medicine hematology . 6th edition. St. Louis, toronto, london : the C.V Mosby company , 1982 : 1084 .
38. **MOSSA ET COLL.** Pharmacological studies on aerial parts of *Calotropis procera*. American journal of chinese medicine 1991 ; 19 : 223-31.
39. **NACOUлма/OUEDRAOGO O G** . Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso. Cas du plateau central. Thèse de doctorat ès sciences naturelles. FA.S.T Ouagadougou,1996. Tome II : 285 .
40. **NEAL M.** Pharmacologie médicale.3^eédition.Bruxelles : De Boeck Université, 1999 :104.
41. **OUATTARA A.** Approche thérapeutique de la maladie drépanocytaire . étude préliminaire comparée du traitement par une présentation galénique moderne de deux plantes médicinales :*Fagara xanhoxylodes* et *Calotropis procera* et un médicament usuel de référence(la dihydroergotoxine). Thèse de Doctorat d'Etat en médecine. ESSSA Ouagadougou, 1991 :72 .

42. **PAHWA R, CHATTERJEE V C.** The toxicity of Indian *Calotropis procera* rbr latex in the black rat, *rattus rattus linn*. Vet Hum toxicol 1988 ; 30(4) : 305-8 .
43. **PARIS R. R , MOYSE H.** Matière médicale Tome I. Paris : Masson & Cie, 1965 : 416 .
44. **PEGUINOT H, DORMONT J, ETIENNE J.P , LAURENT D, LIOT F, MAGDELAINE M.** Précis de pathologie médicale III. Paris : Masson & Cie, 1964 : 761 .
45. **ROUGEMONT A, BRUNET-JAILLY J.** Introduction générale. Dans : ROUGEMONT A, BRUNET-JAILLY J, eds : Planifier, gérer, évaluer. La santé en pays tropicaux. Paris : Doin Editeurs, 1989 : 1-31 .
46. **SANGARE A.** Essai thérapeutique du kétoprofène (Profénid ®) dans le traitement des crises douloureuses de la drépanocytose. Med. Afr. Noire 1990 ;37(11) : 693-99 .
47. **SANGARE A.** Traitement de la crise douloureuse vaso-occlusive drépanocytaire par du kétoprofène intramusculaire relayé rapidement par une formulation orale du médicament. Med. Afr. Noire 1989 ; 36(7) :599 .
48. **SEN T, BASU A, CHAUDHURI A K.** Studies on the possible mechanism of the gastric mucosal protection by *Calotropis procera* involvement of 5-lipoxygenase pathway. Fundam clin pharmacol 1988 ; 12(1) : 82-7 .
49. **SOFOWORA E.A, ISAACS W.A.** Reversal of sickling and crenation in erythrocytes by the root extract of *Fagara xanthoxyloides*. Lloydia 1971 ; 34(4) :383-85 .
50. **SOSSOU R, KIKI A, BOKO V, TOPANOU R, SOROHEYE P.** Drépanocytose et pathologies infectieuses chez l'enfant en milieu rural. 8^e journées scientifiques de l'université du Bénin-Lomé 1998 : p.136 .
51. **TESTA J, NGONDY J.J, SANGBA-ZERO M , DIMANCHE L.** Etude comparative de quatre techniques de dépistage de la drépanocytose. Med. Afr. Noire 1989 ; 36(12) : 925-28.

52. **VOHORA S B, KHANNA T, ATHAR M, AHMAD B.** Analgesic activity of bacosine , a new triterpene isolated from *Bacopa monnieri*. *Fitoterapia* 1997 ; volume LXVIII N°4 :361-5.

53. **WAJCMAN H, LANTZ B, GIROT R.** Les maladies du globule rouge. Paris : éditions Inserm/Médecine-sciences flammariion, 1992 :516.

54. **WEPIERRE J.** Abrégé de pharmacodynamie générale. Paris : Masson,1977 : 191.

Résumé :

La drépanocytose est un problème de santé publique en Afrique noire. Maladie génotypique de l'hémoglobine, son traitement fait encore l'objet de nombreuses controverses bien que sa physiopathologie soit bien connue.

Afin de trouver les supports phytochimiques et pharmacologiques explicatifs de l'efficacité clinique d'une drogue (poudre d'écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. (Asclepediaceae)) utilisée dans la prise en charge des crises drépanocytaires, nous avons mené des études phytochimique, de toxicité aiguë, d'activité anti-inflammatoire, d'activité antispasmodique et d'activité antifalcémiant du macéré aqueux de la drogue.

Le screening phytochimique du macéré a révélé la présence d'alcaloïdes, de saponines, de triterpènes et/ou de stérols.

Par voie intrapéritonéale, la dose létale 50% (DL₅₀) du macéré chez des souris mâles a été de 973mg/kg avec un intervalle de 721mg/kg à 1312mg/kg, pour $p = 0,05$.

A la dose de 20%, le macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. n'a pas présenté d'hémolyse *in vitro*.

Le macéré a montré une activité anti-inflammatoire qui est maximale à la quatrième heure après l'administration de la carragénine. Les pourcentages d'inhibition maximal de l'oedème ont été de 55,04% et de 54,60% respectivement aux doses de 170mg/kg et de 85mg/kg.

En curative, la concentration de macéré capable d'inhiber à 50% les contractions provoquées par le chlorure de baryum a été de 1,75%(m/v) contre 4,25 % (m/v) pour les contractions provoquées par l'acétylcholine. En préventive, cette concentration inhibitrice 50% a été de 2,5%(m/v) .

A la dose de 20% m/v le macéré a une activité intrinsèque spasmogène inhibée par l'atropine.

Les macérés aqueux à 0,5% et 1% ont inhibé de manière dose-dépendante la formation de drépanocytes provoquée par le métabisulfite de sodium. L'activité antidrépanocytaire maximale a été de 61,77% à la dose de 0,5% contre 72,77% à la dose de 1%.

Les résultats de toutes ces études sont susceptibles d'expliquer le fait que la poudre d'écorces de racines de *Calotropis*

procera Ait. (Asclepediaceae) soit cliniquement efficace dans le traitement des crises vaso-occlusives de la drépanocytose.

ANNEXES

Annexes

1. Etude de l'activité anti-inflammatoire

Vo = volume de la patte avant injection de la carragénine.

Vi = Volume de la patte à la i ème heure après l'injection de la carragénine.

Tableau XXVII : Evolution du volume des pattes en fonction du temps chez le lot témoin

N°souris	Vo	V1h	V2h	V3h	V4h	V5h	V6h
1	0,13	0,22	0,22	0,25	0,29	0,23	0,23
2	0,13	0,17	0,24	0,24	0,29	0,22	0,21
3	0,13	-	-	-	-	-	-
4	0,13	0,21	0,21	0,22	0,22	0,24	0,21
5	0,14	0,25	0,26	0,30	0,30	0,24	0,23
6	0,14	0,20	0,23	0,25	0,25	0,25	0,21
7	0,13	0,21	0,22	0,27	0,27	0,22	0,23
8	0,12	0,20	0,22	0,25	0,25	0,21	0,25
9	0,13	0,20	0,21	0,25	0,25	0,20	0,23
10	0,14	0,19	0,19	0,25	0,25	0,22	0,20
moyenne	0,13	0,21	0,22	0,25	0,26	0,23	0,22
Ecart type	0,01	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02

- :souris morte

Tableau XXVIII: Evolution du volume des pattes en fonction du temps chez le lot de référence (Betaméthasone à 2mg/kg)

N°souris	Vo	V1h	V2h	V3h	V4h	V5h	V6h
1	0,16	0,28	0,26	0,27	0,23	0,24	0,24
2	0,16	0,26	0,23	0,22	0,24	0,23	0,25
3	0,16	0,24	0,25	0,22	0,23	0,23	0,26
4	0,17	0,27	0,28	0,22	0,22	0,26	0,24
5	0,18	0,25	0,27	0,23	0,22	0,26	0,24
6	0,17	0,23	0,25	0,24	0,25	0,24	0,25
7	0,17	0,26	0,25	0,24	0,22	0,26	0,24
8	0,17	0,27	0,27	0,25	0,23	0,24	0,27
9	0,16	0,27	0,25	0,24	0,23	0,26	0,25
10	0,17	0,26	0,24	0,23	0,24	0,23	0,24
moyenne	0,17	0,26	0,26	0,24	0,23	0,25	0,25
Ecart type	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01

Tableau XXIX: Evolution du volume des pattes en fonction du temps chez le lot 1(macéré aqueux à la dose de 85mg/kg)

N°souris	Vo	V1h	V2h	V3h	V4h	V5h	V6h
1	0,14	0,19	0,22	0,20	0,20	0,20	0,22
2	0,13	0,22	0,24	0,22	0,23	0,22	0,22
3	0,15	0,24	0,24	0,24	0,22	0,24	0,23
4	0,14	0,27	0,25	0,24	0,25	0,23	0,25
5	0,16	0,23	0,23	0,25	0,22	0,24	0,24
6	0,15	0,23	0,22	0,22	0,24	0,24	0,21
7	0,15	0,20	0,21	0,19	0,21	0,22	0,20
8	0,17	0,24	0,25	0,23	0,20	0,21	0,23
9	0,17	0,21	0,25	0,24	0,21	0,22	0,22
10	0,18	0,32	0,24	0,24	0,23	0,23	0,21
moyenne	0,15	0,24	0,24	0,23	0,22	0,23	0,22
ecart type	0,02	0,04	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02

Tableau XXX: Evolution du volume des pattes en fonction du temps chez le lot 2 (macéré aqueux à la dose de 170mg/kg)

N°souris	Vo	V1h	V2h	V3h	V4h	V5h	V6h
1	0,12	0,23	0,22	0,22	0,23	0,21	0,22
2	0,15	0,21	0,23	0,22	0,22	0,24	0,26
3	0,15	0,22	0,23	0,23	0,24	0,24	0,22
4	0,17	0,22	0,22	0,22	0,23	0,24	0,24
5	0,15	0,18	0,18	0,17	0,17	0,17	0,19
6	0,18	0,18	0,18	0,18	0,17	0,17	0,18
7	0,16	0,21	0,22	0,21	0,19	0,21	0,21
8	0,15	0,22	0,22	0,22	0,20	0,19	0,20
9	0,18	0,21	0,23	0,22	0,20	0,19	0,20
Moyenne	0,15	0,22	0,22	0,21	0,21	0,21	0,22
Ecart type	0,02	0,03	0,03	0,02	0,03	0,03	0,03

Tableau XXXI: Evolution du pourcentage d'augmentation du volume des pattes en fonction du temps chez le lot témoin blanc

N°souris	P1M	P2M	P3M	P4M	P5M	P6M
1	69,23	69,23	92,31	123,08	76,92	76,92
2	30,77	84,62	84,62	123,08	69,23	61,54
3	-	-	-	-	-	-
4	61,54	61,54	69,23	69,23	84,62	61,54
5	78,57	85,71	114,29	114,29	71,42	64,29
6	42,86	64,29	78,57	78,57	78,57	50,00
7	61,54	69,23	107,69	107,69	69,23	76,92
8	66,67	83,33	108,33	108,33	75,00	108,33
9	53,85	61,54	92,31	92,31	53,85	76,92
10	35,71	35,71	78,57	78,57	57,14	42,86
moyenne	56	68	92	99	71	69
Ecart type	16	16	16	20	10	19

- :souris morte

Tableau XXXII: Evolution du pourcentage d'augmentation du volume des pattes en fonction du temps chez le lot de référence (Betaméthasone à la dose de 2mg/kg).

N°souris	P1M	P2M	P3M	P4M	P5M	P6M
1	75,00	62,50	68,75	43,75	50,00	50,00
2	62,50	43,75	37,50	50,00	43,75	56,25
3	50,00	56,25	37,50	43,75	43,75	62,50
4	58,82	64,71	29,41	29,41	52,94	41,18
5	38,89	50,00	27,78	22,22	44,44	33,33
6	35,29	47,06	41,18	47,06	41,18	47,06
7	52,94	47,06	41,18	29,41	52,94	41,18
8	58,82	58,82	47,06	35,29	41,18	58,82
9	68,75	56,25	50,00	43,75	62,50	56,25
10	52,94	41,18	35,29	41,18	35,29	41,18
Moyenne	55	53	42	39	47	49
Ecart type	12	8	12	9	8	10

Tableau XXXIII: Evolution du pourcentage d'augmentation du volume des pattes en fonction du temps chez le lot 1 (macéré aqueux à la dose de 85mg/kg).

N°souris	P1M	P2M	P3M	P4M	P5M	P6M
1	35,71	57,14	42,86	42,86	42,86	57,14
2	69,23	84,62	69,23	76,92	69,23	69,23
3	60,00	60,00	60,00	46,67	60,00	53,33
4	92,86	78,57	71,43	78,57	64,29	78,57
5	43,75	43,75	56,25	37,50	50,00	50,00
6	53,33	46,67	46,67	60,00	60,00	40,00
7	33,33	40,00	26,67	40,00	46,67	33,33
8	41,18	47,06	35,29	17,65	23,53	35,29
9	23,53	47,06	41,18	23,53	29,41	29,41
10	77,78	33,33	33,33	27,78	27,78	16,67
Moyenne	53	54	48	45	47	46
Ecart type	22	17	15	21	16	19

Tableau XXXIV: Evolution du pourcentage d'augmentation du volume des pattes en fonction du temps chez le lot 2(macéré aqueux à la dose de 170mg/kg).

N°souris	P1M	P2M	P3M	P4M	P5M	P6M
1	91,67	83,33	83,33	91,67	75,00	83,33
2	40,00	53,33	46,67	46,67	60,00	73,33
3	46,67	53,33	53,33	60	60,00	46,67
4	29,41	29,41	29,41	35,29	41,18	41,18
5	20,00	20,00	13,33	13,33	13,33	26,67
6	31,25	37,50	31,25	18,75	31,25	31,25
7	46,67	46,67	46,67	33,33	26,67	33,33
8	16,67	27,78	22,22	11,11	5,56	11,11
Moyenne	48	51	46	45	45	51
Ecart type	31	28	25	31	29	33

2. Etude de l'activité relaxante des muscles lisses

2.1. Etude de l'activité antispasmodique

2.1.1. Effet du macéré sur l'action de l'acétylcholine

Tableau XXXV: Effets de l'interaction des macérés sur les contractions de l'intestin dues à l'acétylcholine

	macéré à 1%	macéré à 3%	macéré à 6%	macéré à 12%	macéré à 16%	macéré à 20%
Essai 1	3,0	5,5	3,5	5,0	3,9	5,0
Essai 2	3,0	5,5	3,2	4,5	4,3	4,9
Essai 3	2,8	5,5	3,5	4,7	4,0	5,0
\bar{X}_1	2,9	5,5	3,4	4,7	4,1	5,0
s1	0,1	0,0	0,2	0,3	0,2	0,1
Essai 1	2,9	3,6	2,1	4,2	3,7	3,8
Essai 2	2,9	3,8	1,7	4,1	3,5	3,0
Essai 3	2,9	3,8	1,7	3,7	3,1	1,9
Essai 4	2,9	3,7	2,0	3,5	2,7	1,6
Essai 5	2,9	3,7	1,4	3,3	2,0	2,0
\bar{X}_2	2,9	3,7	1,8	3,8	3,0	2
s2	0,0	0,1	0,3	0,4	0,7	1

\bar{X}_1 = moyenne des hauteurs des pics dus à l'acétylcholine seule (cm);
s1 leur écart-type.

\bar{X}_2 = moyenne des hauteurs des pics dus à l'interaction acétylcholine-macéré (cm); s2 leur écart-type.

2.1.2. Effet du macéré sur l'action du chlorure de baryum

Tableau XXXVI: Effets de l'interaction des macérés sur les contractions de l'intestin dues au chlorure de baryum

	macéré à 1%	macéré à 3%	macéré à 12%	macéré à 16%
Essai 1	5,3	4,0	5,7	4,1
Essai 2	5,0	4,3	5,7	4,1
Essai 3	5,0	4,0	5,7	4,1
\bar{X}_1	5,1	4,1	5,7	4,1
s1	0,2	0,2	0,0	0,0
Essai 1	4,8	3,1	5,1	2,0
Essai 2	4,8	2,0	2,7	0,5
Essai 3	3,5	1,5	0,3	0,2
Essai 4	3,0	0,8	0,1	0,0
Essai 5	1,6	0,7	0,0	0,0
\bar{X}_2	4	2	2	0,5
s2	1	1	2	0,8

\bar{X}_1 = moyenne des hauteurs des pics de contraction dus au chlorure de baryum seul (cm); s1 leur écart-type.

\bar{X}_2 = moyenne des hauteurs des pics de contraction dus à l'interaction chlorure de baryum- macéré (cm); s2 leur écart-type.

2.2. Etude de l'activité spasmolytique

2.2.1. Effet du macéré sur l'action de l'acétylcholine.

Tableau XXXVII: Effets de l'interaction du macéré sur les contractions dues à l'acétylcholine.

	macéré à 1%	macéré à 3%	macéré à 6%	macéré à 9%	macéré à 12%
Essai 1	3,2	3,3	4,9	5,8	2,40
Essai 2	3,2	3,3	4,8	5,6	2,40
Essai 3	3,2	3,2	4,8	5,6	2,30
\bar{X}_3	3,2	3,3	4,8	5,7	2,4
s3	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1
Essai 1	3,2	2,7	3,2	3,6	0,0
Essai 2	3,1	2,0	2,1	2,5	0,0
Essai 3	3,0	2,3	1,9	1,8	0,0
Essai 4	2,9	2,0	2,0	1,1	0,0
Essai 5	2,8	1,9	1,6	0,6	0,0
\bar{X}_4	3,0	2,3	2,2	1,9	0,0
s4	0,2	0,5	0,6	1,2	0,0

\bar{X}_3 = moyenne des hauteurs des plateaux dus à l'acétylcholine seule (cm); s3 leur écart-type.

\bar{X}_4 = moyenne des hauteurs des plateaux dûs à l'interaction macéré - acétylcholine(cm); s4 leur écart-type.

2.2.2. Effet du macéré sur l'action du chlorure de baryum

Tableau XXXVIII: Effets de l'interaction du macéré sur les contractions dues au chlorure de baryum.

	macéré à 1%	macéré à 3%	macéré à 6%	macéré à 9%	macéré à 12%
Essai 1	3,4	3,3	2,9	3,5	2,0
Essai 2	3,3	3,3	2,9	3,5	2,3
Essai 3	3,2	2,7	2,8	3,4	2,0
X3	3,3	3,1	2,9	3,5	2,1
s3	0,1	0,3	0,1	0,1	0,2
Essai 1	2,6	0,5	0,2	0,2	0,0
Essai 2	2,6	0,6	0,2	0,1	0,0
Essai 3	2,6	0,5	0,2	0,1	0,0
Essai 4	2,3	0,5	0,2	0,1	0,0
Essai 5	2,4	0,5	0,2	0,0	0,0
X4	2,5	0,5	0,2	0,1	0,0
s4	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0

X3= moyenne des hauteurs des plateaux de contractions dus au chlorure de baryum (cm); s3 leur écart-type.

X4= moyenne des hauteurs des plateaux de contractions dus à l'interaction macéré - chlorure de baryum(cm); s4 leur écart-type.

Tableau XXXIX: Effets de l'interaction de l'atropine sulfate 26mg/ml sur les pics de contraction dus au macéré 20%.

Hauteurs (cm) des pics de contraction	macéré	macéré + atropine
Essai 1	3,50	0,20
Essai 2	4,00	0,50
Essai 3	4,00	0,40
Essai 4		0,50
Essai 5		0,20
Moyenne	3,83	0,36
Ecart-type	0,29	0,15

Solution de TYRODE de (composition):

NaCl.....	8g
KCl.....	0,2g
CaCl ₂	0,2g
MgCl ₂	0,01g
NaH ₂ PO ₄	0,05g
NaHCO ₃	1g
Glucose.....	1g
Eau distillée.....	Q.S.P 1L

Solution C.P.D.A:

Acide citrique(anhydre).....	0,30g
Citrate de sodium. 2 H ₂ O.....	2,63g
Monophosphate de sodium. 1H ₂ O.....	0,222g
Dextrose. 1 H ₂ O.....	3,19g
Adénine.....	0,0275g
Eau pour préparation injectable.....	Q.S.P 100ml

Réactif de Draggendorf:

Sous-nitrate de bismuth.....	30mg
Iodure de potassium.....	700mg
Acide acétique glacial.....	7ml
Eau.....	3ml
Acétate d'éthyle.....	90ml

Abréviations:

C.H.N.Y.O :Centre hospitalier national Yalgado Ouédraogo

C.I50% : Concentration inhibitrice 50%

DL50: Dose létale 50%

« Drogue » : écorces de racines de *Calotropis procera* Ait.

g : gramme

h : heure

I.R.S.S : Institut de recherche en sciences de la santé

kg: Kilogramme

L :litre

mg: milligramme

ml : millilitre

m/m : masse/masse

ME.PHA.TRA./PH : Médecine et Pharmacopée traditionnelles /
Pharmacie

m/v : masse/volume

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 jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Résumé :

La drépanocytose est un problème de santé publique en Afrique noire. Maladie génotypique de l'hémoglobine, son traitement fait encore l'objet de nombreuses controverses bien que sa physiopathologie soit bien connue.

Afin de trouver des supports pharmaco-chimiques explicatifs de l'efficacité clinique d'une drogue (poudre d'écorces de racines de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepadiaceae*)) utilisée dans la prise en charge des crises drépanocytaires, nous avons mené une étude chimique du macéré aqueux de la drogue et recherché ses activités antifalcémiantes, anti-inflammatoire, et relaxante des muscles lisses. La toxicité aiguë du macéré a été évaluée par la détermination de la DL50, le test d'hémolyse et l'activité intrinsèque spasmogène du macéré à forte dose.

Le screening phytochimique du macéré a révélé la présence d'alcaloïdes, de saponines, de triterpènes et de stérols.

Par voie intrapéritonéale, la dose létale 50%(DL₅₀) du macéré chez des souris mâles a été de 973mg/kg avec un intervalle de 721mg/kg à 1312mg/kg, pour $p = 0,05$.

A la concentration de 20%, le macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* Ait. n'a pas présenté d'hémolyse *in vitro*. A la même dose, il a eu une activité intrinsèque spasmogène inhibée par l'atropine.

Les macérés aqueux à 0,5% et 1% ont inhibé de manière dose-dépendante la formation de drépanocytes provoquée par le métabisulfite de sodium. L'activité antidrépanocytaire maximale a été de 61,77% à la dose de 0,5% contre 72,77% à la dose de 1%.

Le macéré a montré une activité anti-inflammatoire qui est maximale à la quatrième heure après l'administration de la carragénine. Les pourcentages d'inhibition maximal de l'œdème ont été de 55,04% et de 54,60% respectivement aux doses de 170mg/kg et de 85mg/kg.

En curative, la concentration de macéré capable d'inhiber à 50% les contractions provoquées par le chlorure de baryum a été de 1,75%(m/v) contre 4,25 % (m/v) pour les contractions provoquées par l'acétylcholine. En préventive, cette concentration inhibitrice 50% a été de 2,5%(m/v) .

Les résultats de toutes ces études sont susceptibles d'expliquer l'efficacité clinique de la poudre d'écorces de racines de *Calotropis procera* Ait.(*Asclepadiaceae*) dans le traitement de la maladie drépanocytaire.

Mots clés : Drépanocytose – Phytothérapie – *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) – Pharmacologie – Toxicité aiguë.

Adresse : OUEDRAOGO Moustapha 01 BP5154 Ouagadougou 01 Burkina Faso

E-mail: omoustaph@hotmail.com

Le Directeur de Thèse

Le président du jury

et P.O. vu corrections

P. J. Guissson



11/07/01

Le Directeur de l'U.F.R./SDS