

SOMMAIRE

	PAG ES
INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : ETUDE	
BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
CHAPITRE I : RAPPELS SUR LA DOULEUR.....	4
I. DEFINITION DE LA DOULEUR.....	4
II. RAPPELS ANATOMO-PHYSIOLOGIQUE DE LA DOULEUR.....	4
II.1. DIFFERENTS TYPES DE DOULEUR.....	4
II.2. TRANSMISSION DE LA DOULEUR.....	5
II.3. VOIES DE LA DOULEUR.....	6
II.3.1. La voie lemniscale.....	6
II.3.2. La voie extralemniscale.....	7
II.3.3. Les voies ascendantes.....	7
II.4. CENTRES DE LA DOULEUR.....	9
II.5. CONTROLE DE LA DOULEUR.....	9
II.5.1. Contrôle médullaire.....	9
II.5.2. Contrôle supra-médullaire.....	11
II.5.3. Système enképhalnergique médullaire endogène.....	11
III. ANTALGIQUES.....	11
III.1. ANALGESIQUES PERIPHERIQUES.....	12
III.1.1. Mécanisme d'action.....	12
III.1.2. Place des analgésiques périphériques dans la thérapie de la douleur.....	12
III.1.3. Effets indésirables et limite d'utilisation.....	12
III.2. QUELQUES ANALGESIQUES PERIPHERIQUES.....	13

III.2.1. Analgésiques centraux.....	14
III.2.2. Les récepteurs morphiniques.....	14
III.2.3. Place des analgésies centrales dans la thérapeutique.....	15
III.3. QUELQUES ANALGESIQUES CENTRAUX.....	16
IV. AUTRES DERIVES ANALGESIQUES.....	21
IV.1. LA CLOMETACINE.....	21
IV.2. LES DERIVES DE L'AMINO-QUINOLEINE.....	21
 <u>CHAPITRE II : TECHNIQUE D'EXPLORATION DE L'ACTIVITE ANALGESIQUE.....</u>	 22
I. TEST A L'ACIDE ACETIQUE.....	22
II. RANDALL-SELLI, I TO TEST.....	22
III. PLAQUE CHAUFFANTE.....	22
IV. PRESSION DE QUEUE.....	23
V. IMMERSION DE QUEUE.....	23
VI. ANTAGONISME PAR LA NALOXONE.....	23
VII. LA TECHNIQUE DE D'AMOUR ET SMITH.....	23
 <u>DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE.....</u>	 25
 <u>CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES.....</u>	 26
I. MATERIEL.....	26
I.1. MATERIEL VEGETAL.....	26
I.1.1. Origine et nature du matériel végétal.....	26
I.2. MATERIEL DE LABORATOIRE.....	26
I.2.1. Filtration et stérilisation.....	26
I.2.2. Matériel utilisé pour la détermination du pH.....	26
I.2.3. Matériel utilisé pour le screening chimique.....	26
I.2.4. Matériel utilisé pour le dosage des sels minéraux.....	27
I.2.5. Matériel utilisé pour l'étude de l'activité analgésique.....	27
I.2.6. Matériel utilisé pour l'expertise toxicologique.....	27
I.3. MATERIEL ANIMAL.....	27
I.3.1. Activité analgésique.....	27
I.3.2. Activité toxicologique.....	28
I.3.2.1. Toxicité aigüe.....	28

<i>II.3.2.2. Toxicité sub-aigüe</i>	28
<i>II.3.2.3. Matériel de prélèvement</i>	28
II. METHODE	29
II.1. FILTRATION ET STERILISATION.....	29
II.1.1. Filtration.....	29
II.1.2. Stérilisation.....	29
II.2. DETERMINATION DU pH ET CRIBLAGE CHIMIQUE.....	29
II.2.1. Détermination du pH.....	29
II.2.2. Criblage chimique.....	29
<i>II.2.2.1. Recherche des hétérosides anthracéniques.....</i>	29
<i>II.2.2.2. Recherche des hétérosides flavonoïques.....</i>	32
<i>II.2.2.3 Recherche des saponosides.....</i>	33
<i>II.2.2.4. Recherche des tanins.....</i>	33
<i>II.2.2.5. Recherche des hétérosides cardiotoniques.....</i>	35
<i>II.2.2.6. Recherche des alcaloides.....</i>	36
II.3. DOSAGE DES TANINS.....	37
II.3.1. Choix des méthodes colorimétriques.....	37
II.3.2. Principe du spectrophotomètre en ultraviolet visible.....	37
II.3.3. Principe du dosage des tanins.....	38
<i>II.3.3.1. Préparation du réactif de FOLIN-DENIS</i>	39
<i>II.3.3.2. Préparation de la gamme d'échelonnage.....</i>	39
<i>II.3.3.3. Dosage des phénols totaux.....</i>	40
<i>II.3.3.4. Dosage des phénols résiduels.....</i>	40
II.4. DOSAGE DES SELS MINERAUX.....	42
II.5. ETUDE DE L'ACTIVITE ANALGESIQUE.....	43
II.5.1. Détermination de l'extrait sec.....	43
II.5.2. Etude de l'activité analgésique.....	43
<i>II.5.2.1. Activité analgésique périphérique.....</i>	43
<i>II.5.2.2. Activité analgésique centrale.....</i>	44
II.6. ETUDE DE LA TOXICITE.....	47
II.6.1. Toxicité aiguë.....	47
II.6.2. Toxicité sub-aigüe.....	47
<i>II.6.2.1. Principe des déterminations hématologiques</i>	49
<i>II.6.2.2. Principes des dosages biochimiques</i>	49

<u>CHAPITRE II : RESULTATS</u>	51
I. RESULTATS DE LA DETERMINATION DU pH ET DU CRIBLAGE CHIMIQUE.....	51
I.1. RESULTAT DE LA DETERMINATION DU pH.....	51
I.2. RESULTATS DU CRIBLAGE OU SCREENING CHIMIQUE.....	51
I.2.1. Résultats des essais de caractérisation des hétérosides anthracéniques.....	51
I.2.1.1. Réaction à l'acétate de magnésium.....	51
I.2.1.2. Identification spécifique par chromatographie sur couche mince	51
I.2.2. Résultats des essais de caractérisation des hétérosides flavonoïques	52
I.2.3. Résultats des essais de caractérisation des saponosides	52
I.2.4. Résultats des essais de caractérisation des tanins	52
I.2.5. Résultats des essais de caractérisation des hétérosides cardiotoniques	52
I.2.6. Résultats des essais de caractérisation des alcaloïdes.....	53
I.3. RESULTATS DOSAGE DES TANINS.....	54
I.3.1. Courbe d'étalonnage.....	54
I.3.1.1. Dosage des phénols totaux.....	54
I.3.1.2. Dosage des phénols résiduels.....	55
I.3.2. La teneur en tanins.....	56
I.4. RESULTATS DU DOSAGE DES SELS MINERAUX.....	56
II. RESULTATS DE L'ETUDE DE L'ACTIVITE ANALGESIQUE	57
II.1. RESULTATS DE LA DETERMINATION DE L'EXTRAIT SEC.....	57
II.2. RESULTATS DE L'ACTIVITE ANALGESIQUE.....	57
II.2.1. Résultats de l'activité analgésique périphérique.....	60
II.2.2. Résultats de l'activité analgésique centrale.....	60
II.3. RESULTATS DE L'ETUDE DE LA TOXICITE.....	63
II.3.1. Toxicité aigüe.....	63
II.3.2. Toxicité sub-aigüe.....	63
II.3.2.1. Poids corporel.....	68
II.3.2.2. Analyses anatomo-pathologiques.....	71

<u>CHAPITRE III : DISCUSSION</u>	74
CONCLUSION	77
	
BIBLIOGRAPHIE	82
	
ANNEXES	85
	



INTRODUCTION

L'Homme s'est toujours efforcé de se donner les moyens de combattre les maladies et leurs conséquences. Parmi celles-ci, nous pouvons citer la douleur. Ces moyens souvent efficaces, lui sont fournis par son environnement naturel et sont essentiellement à base de plantes. Malgré le développement spectaculaire des sciences de la santé, la phytothérapie garde toute sa notoriété et toute son importance. Ceci est particulièrement avéré dans les pays du tiers monde où plus de 70 % de la population ont eu au moins une fois à bénéficier des soins de cette dernière.

De nos jours, la médecine traditionnelle connaît un regain d'intérêt à cause non seulement de sa contribution dans la lutte contre certaines maladies tels que le SIDA et le cancer qui, constituent un véritable problème de Santé Publique mais également de l'apport des chercheurs africains sur les dosages, les contre-indications les limites d'indications et un meilleur conditionnement des médicaments traditionnels.

*C'est donc pour contribuer à l'essor de cette médecine traditionnelle en lui assignant un caractère scientifique et pratique, que nous nous sommes intéressés à la recette traditionnelle, dénommée « **DIABY 250302** ». Cette recette est préparée par un tradipraticien qui lui prête des vertus contre le syndrome du VIH/SIDA. Elle est sensée améliorer le confort et l'appétit chez des patients porteurs du virus.*

Nous avons choisi de rechercher une activité analgésique, d'étudier la toxicité, après avoir caractérisé la recette sur le plan physico-chimique.

PREMIERE PARTIE

ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : RAPPELS SUR LA DOULEUR

I - DEFINITION

La douleur est un symptôme subjectif commun à de nombreuses pathologies et omniprésent lors de la fin de vie des patients. La subjectivité de ce symptôme le rend inaccessible à une évaluation directe par autrui et donc difficile à appréhender et à quantifier par le thérapeute (2).

Selon l'«International Association for the Study of Pain (IASP) », la douleur est « *une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, liée à une lésion tissulaire réelle ou potentielle décrite en des termes évoquant une telle lésion* ».

La douleur est une sensation d'inconfort et de malaise qui entraîne l'éveil et la focalisation de l'attention sur le point algogène. Elle apparaît à la suite d'une inflammation, d'une infection locale, d'une contracture musculaire, d'un spasme vasculaire et, d'une atteinte cancéreuse (4).

II - RAPPELS ANATOMO-PHYSIOLOGIQUES

II.1. DIFFERENTS TYPES DE DOULEURS

La douleur peut être caractérisée en fonction de son profil évolutif. Nous distinguons :

- ☞ **la douleur aiguë** : c'est un symptôme, une sensation déclenchée par le système nerveux pour alerter l'ensemble de l'organisme et évoluant sur une durée inférieure à trois mois.
- ☞ **la douleur chronique** : sur une période allant de trois à six mois, la douleur persistante ou rebelle aux traitements usuels est dite chronique. La douleur doit être liée à une maladie ou à une déficience, elle se manifeste après un accident. Avec certaines types de douleurs chroniques, comme les migraines, la douleur est à répétition plutôt que constante. Il existe de nombreux types de douleurs chroniques

comme les douleurs post-chirurgicales, la cellulomyalgie, le syndrome temporo-mandibulaire.

La douleur peut aussi être classée selon la neurophysiologie en :

☞ douleurs par excès de nociception : *Elles sont dues à des lésions des tissus périphériques provoquant un excès d'influx douloureux dans le système nerveux. Il y a une stimulation excessive des nocicepteurs périphériques. Elles correspondent aux douleurs habituelles des brûlures, des traumatismes suite à une opération et d'un grand nombre de maladies entraînant soit des douleurs aiguës (pathologies post-opératoires, traumatiques, infectieuses, dégénératives), soit des douleurs chroniques (pathologies lésionnelles persistantes plus ou moins évolutives).*

☞ douleurs neurogènes : *Elles sont dues à des lésions du système nerveux en amont des nocicepteurs périphériques que ce soit au niveau périphérique (la section d'un nerf, zona, neuropathie diabétique) ou central comme le traumatisme médullaire, infarctus cérébral). Les douleurs neurogènes sont très invalidantes et s'accompagnent lorsqu'elles sont chroniques d'une anxiété ou d'un fond dépressif.*

☞ douleurs psychogènes : *c'est l'ensemble des douleurs n'entrant pas dans les deux précédentes catégories. Ce sont des douleurs sans lésions apparentes, malgré un bilan médical approfondi.*

II.2. TRANSMISSION DE LA DOULEUR

Le trajet parcouru par l'information sensorielle nociceptive commence à la périphérie de l'organisme, au niveau des nocicepteurs. Ces derniers sont constitués par les terminaisons libres situées dans la peau ou les viscères, des fibres nerveuses sensorielles fines.

L'information nerveuse nociceptive est propagée jusqu'à la moelle épinière par l'intermédiaire des fibres fines (appelées fibres A δ , si elles sont entourées d'une gaine de myéline, fibres C, si elles sont amyéliniques) des nerfs sensoriels.

Ces fibres sont les axones des neurones nociceptifs de premier ordre dont les corps cellulaires sont rassemblés au sein des ganglions rachidiens. Elles pénètrent dans la moelle épinière par la racine dorsale jusqu'aux couches superficielles de la corne dorsale.

Les terminaisons des fibres fines viennent établir une liaison synaptique avec les neurones nociceptifs de deuxième ordre dont les corps cellulaires sont situés plus ou moins dans la corne dorsale. Ces neurones que l'on rencontre dans tous les segments de la moelle épinière (cervical, thoracique, lombaire et sacré) sont présents dans le système trigéminal (au niveau du bulbe), lequel intervient dans la nociception de la face et de la cavité buccale.

II.3. VOIES DE LA DOULEUR

Elles assurent la transmission de l'influx nociceptif à partir des nocicepteurs, jusqu'à l'intégration du message au niveau cérébral (1). Les fibres nociceptives convergent vers la moelle par les racines antérieures et postérieures.

On distingue jusqu'à trois types de voies :

II.3.1. Voie lemniscale (13)

Support de la sensibilité discriminatoire de la douleur épicritique, elle met en jeu les fibres myéliniques A δ de gros calibre. Au niveau de ces fibres trois neurones sont impliqués dans la transmission du message nociceptif :

- le neurone périphérique dont le corps cellulaire est situé dans le bulbe rachidien. Il conduit le message dans les couches postérieures de la moelle épinière

où les fibres A forment le faisceau de GOLL et BURDACH dont le premier relais est localisé au niveau du bulbe rachidien ;

- le second neurone se projette dans le noyau thalamique et gagne ensuite le noyau ventro-postéro-latéral du thalamus où il y'a un relais avec le troisième neurone ;

- le troisième neurone permet la projection d'influx vers les aires corticales somesthésiques S1 et S2.

II.3.2. Voie extralemniscale (13)

Support de la sensibilité non discriminative chez la plupart des mammifères, c'est une voie multisynaptique, lente.

La transmission des influx (tactiles grossiers, thermiques et douloureux) est assurée par les fibres A δ et C qui représentent les protoneurones. Ces dites fibres transmettent les afférences nociceptives thermiques issues des terminaisons nerveuses libres et des thermorécepteurs jusqu'au niveau des noyaux de la corne dorsale de la moelle épinière où ils font relais avec d'autres neurones qui se projettent dans les centres supra médullaires.

Elle est le prolongement des terminaisons nerveuses libres et des thermorécepteurs, elle conduit une sensibilité grossière tactile ou thermique. Après le relais au niveau de la moelle, les fibres ascendantes par le cadran antérolatéral se projettent dans les centres supra médullaires.

II.3.3. Voies ascendantes (figure 1)

II.3.3.1. Voie spinothalamique

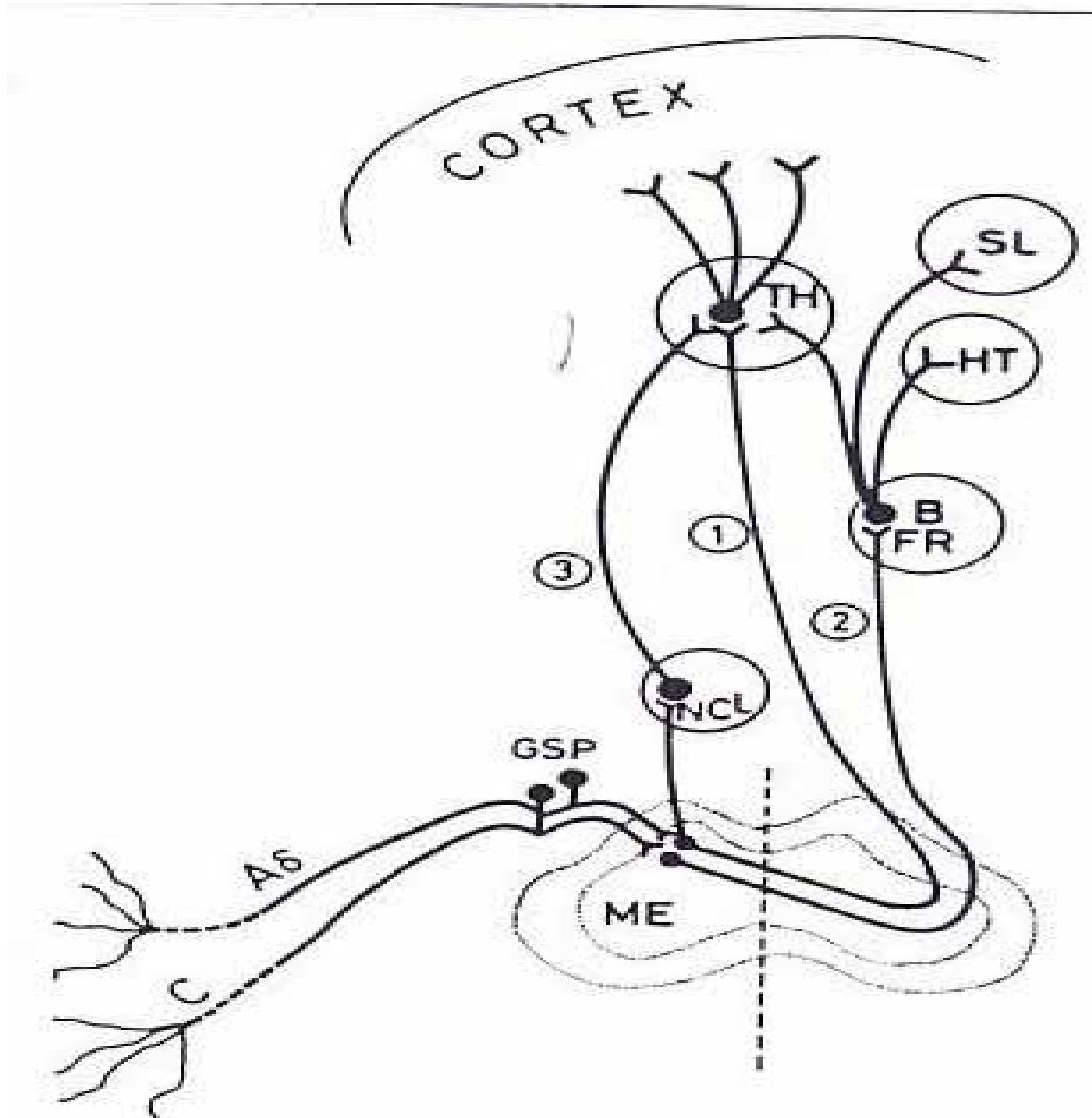
C'est une voie qui sollicite le complexe ventrobasal postérieur et les noyaux intra laminaires médiants du thalamus avant de se projeter au niveau de l'aire corticale.

II.3.3.2. Voie spinoréticulaire

C'est la voie qui fait intervenir la formation réticulaire, bullaire, portique et mésencéphalique. Elle est relayée dans ces structures par la voie spinoréticulothalamique, qui projette vers le thalamus, l'hypothalamus et le système limbique.

II.3.3.3. Voie spinocervicothalamique

Elle est le prolongement de la voie lemniscale. Elle emprunte les neurones ascendants, atteint le noyau cervical latéral, les structures thalamiques et se projette dans les aires corticales S1 et S2.



- ① Voie spinothalamique.
- ② Voie spinoréticulaire.
- ③ Voie spinocervicothalamique.

Abréviations: A_δ: Fibres A_δ | C: Fibres C | afférences nociceptives

GSP:	ganglions spinaux postérieurs
ME:	moelle épinière
NCL:	noyau cervical latéral
FR:	formation réticulaire
B:	bulbe
HT:	hypothalamus
TH:	thalamus
SL:	système limbique
	relais neuroneuronaux synaptiques

Figure 1 : Voies ascendantes (7)

II.4. CENTRE DE LA DOULEUR (13)

Les structures mises en jeu dans la physiologie de la nociception sont nombreuses et il est impossible de privilégier le rôle de l'un ou de l'autre. Les plus étudiées sont les sites de projection des voies ascendantes qui sont :

- *l'aire sensorielle du cortex cérébral* : c'est le site de la projection d'une grande quantité de neurones nociceptifs de quatrième ordre qui répondent aux-mêmes types de propriété que les neurones thalamiques.
- *le complexe ventro-basal du thalamus latéral* : renfermant une grande quantité de neurones nociceptiques impliqués dans la discrimination de la douleur.
- *l'hypothalamus* : certaines structures de l'hypothalamus interviennent dans la composante neurovégétative de la douleur (pression artérielle, fréquence cardiaque, sudation).
- *le système limbique* : il intervient dans la composante émotive de la douleur.

II.5. CONTROLE DE LA DOULEUR

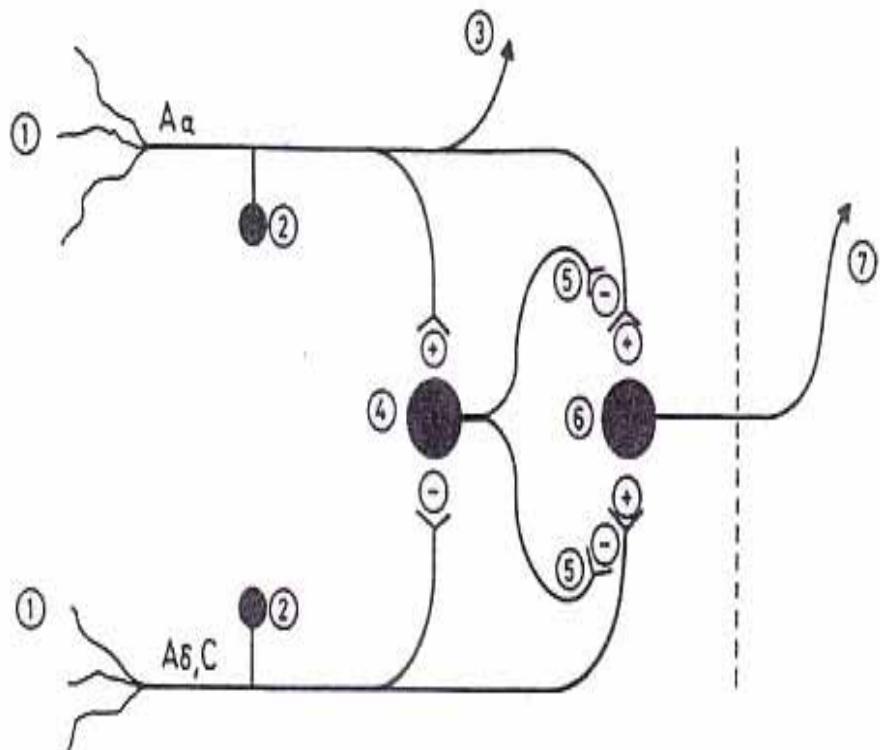
Ce contrôle s'exerce à trois niveaux du trajet de l'influx :

- contrôle médullaire ;
- contrôle supra médullaire ;
- système enképhalinergique médullaire endogène.

II.5.1. Contrôle médullaire

La propagation des messages de la moelle vers les centres supérieurs est éventuellement modulée, voire inhibée par des mécanismes segmentaires ou « *guichets de contrôle* ».

En 1965 MELZACK et WALL exposent dans la théorie du « *Gate control* » les différentes influences inhibitrices exercées sur des neurones, relais de la moelle. (*figure 2*).



- ① Terminaisons cutanées, musculaires et viscérales des fibres A_α , A_δ et C.
- ② Corps cellulaires des fibres A_α , A_δ et C (ganglions spinaux postérieurs).
- ③ Voie discriminative de la localisation spatio-temporelle et de l'intensité du stimulus (non nociceptif).
- ④ Interneurone de la substance gélatineuse, activé par les collatérales de A_α (+) et inhibé par celles de A_δ et C (-). L'activation de ④ renforce en ⑤ l'inhibition présynaptique (-), donc réduit le passage des impulsions se dirigeant par le neurone médullaire ⑥ vers le faisceau spinothalamique ⑦ (voie nociceptive, Figure 2). Inversement, l'inhibition de ④ par les fibres A_δ et C supprime l'inhibition présynaptique en ⑤, et favorise par conséquent la propagation des messages nociceptifs vers le faisceau spinothalamique. Si les fibres A_α sont détruites (varicelle, zona, herpes, etc.), l'inhibition présynaptique en ⑤, relayée par ④ est supprimée: les messages nociceptifs propagés par les fibres A_δ et C ne sont plus soumis aux systèmes de contrôle inhibiteur opérationnel en ⑤ et la douleur est amplifiée.

Figure 2 : Théorie du Gate Control

II.5.2. Contrôle supra médullaire

Plusieurs régions du cerveau sont impliquées dans le contrôle de la douleur : il s'agit de la substance grise autour de l'aqueduc, l'hypothalamus, le thalamus et certains noyaux bulbaires, en particulier le noyau du raphé. Une stimulation de ces noyaux provoque une analgésie.

II.5.3. Système enképhalinergique médullaire endogène

Dans la corne dorsale de la moelle, au niveau de la substance de Rolando, les terminaisons des neurones sont riches en un polypeptide formé de onze acides aminés appelés : substance P.

La substance P est un neuromédiateur libéré au niveau des terminaisons de fibres fines. Elle a pour rôle de transmettre l'influx aux neurones post-synaptiques qui conduisent l'influx vers les centres supérieurs (7).

III - ANTALGIQUES

Le traitement de la douleur comporte des thérapeutiques médicamenteuses (antalgiques) et non médicamenteuses (chirurgie, stimulations, électrothérapie, acupuncture), ces dernières sont encore insuffisamment prises en compte (3).

Les antalgiques ont pour but :

- *d'abolir la transmission des messages nociceptifs au niveau des récepteurs périphériques de la douleur au niveau de la moelle ;*
- *de renforcer les contrôles physiologiques inhibiteurs des messages nociceptifs s'exerçant au niveau médullaire ;*
- *de diminuer les contrôles physiologiques excitateurs des messages nociceptifs s'exerçant au niveau médullaire.*

Selon le lieu d'action, les analgésiques sont classés en deux groupes principaux :

- *les analgésiques périphériques ;*
- *les analgésiques centraux.*

III.1. ANALGESIQUES PERIPHERIQUES

Ce sont des composés chimiques de structures variables signalés dans les douleurs légères à modérées.

III.1.1. Mécanisme d'action

Ces médicaments ont la particularité d'agir au niveau du siège de la douleur. Ils réduisent la synthèse des prostaglandines par inhibition des cyclo-oxygénases (Cox). Les prostaglandines sensibilisent les nocicepteurs aux médiateurs algogènes (histamine, serotonin, bradykinine) qui sont libérés lors d'une lésion tissulaire.

Le blocage de la biosynthèse prostaglandines explique l'activité anti-inflammatoire et antipyrrétique de certaines analgésiques périphériques : c'est le cas de l'acide acétylsalicylique et les dérivés du para-amiphénol (7).

III.1.2. Place des analgésiques périphériques dans la thérapie de la douleur

Les analgésiques périphériques n'induisent pas de pharmacodépendance contrairement aux analgésiques centraux. Ils sont très consommés en automédication et sont employés dans les céphalées, douleurs dentaires, douleurs rhumatismales et musculaires, fièvres modérées et fortes (10).

III.1.3. Effets indésirables et limite d'utilisation

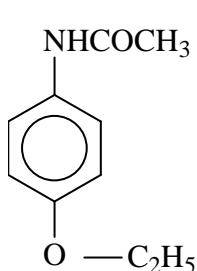
Les analgésiques périphériques présentent des effets indésirables qui limitent leur utilisation :

- un effet irritant sur la muqueuse de l'estomac. Cet effet s'explique par leur action sur la synthèse des prostaglandines qui jouent le rôle de régulateur des

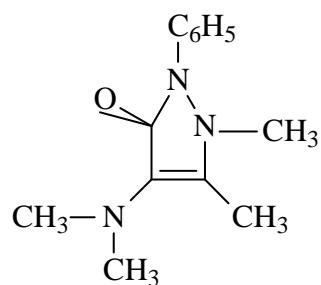
sécrétions gastro-intestinales. Ceci induit une augmentation des lésions de la muqueuse gastrique observées chez l'ulcéreux.

- une action complexe sur la coagulation qui se traduit par une diminution de l'agrégation plaquettaire (acide acétyle-salicylique) à faible dose.
- des troubles hématologiques à type d'agranulocytose rencontrés lors des traitements par les pyrazolés.

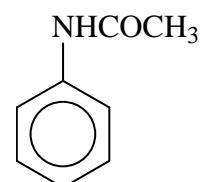
III.1.2. Quelques analgésiques périphériques



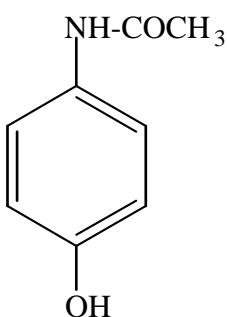
Phénacétine



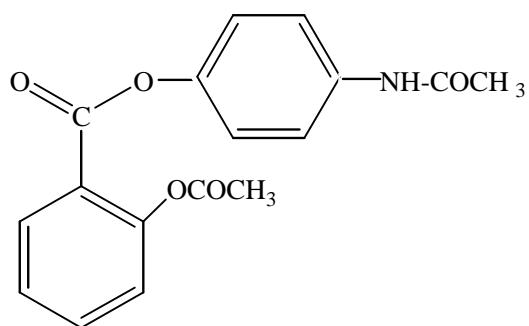
Acétanilide



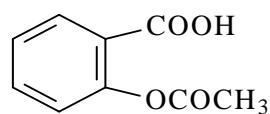
Aminophénazone



Paracétamol



Bénorilate



Acide acétylsalicylique

III.2. ANALGESIQUES CENTRAUX

Ils suppriment ou abolissent les sensations douloureuses, sans modifier les autres sensibilités ou entraîner la perte de conscience. La morphine, alcaloïde du pavot [*Papaver somniferum* (papavéracées)], amine tertiaire dérivée du phényle-4 pipéridine, est l'analgésique central de référence. La plupart des analgésiques centraux, qu'ils s'agissent des dérivés synthétiques ou hémisynthétiques sont des morphiniques (4).

III.2.1. Les récepteurs morphiniques

L'action analgésique de la morphine dépend de sa fixation au niveau des structures qui contrôlent la transmission et l'intégration des influx nociceptifs.

III.2.1.1. Localisations des récepteurs morphiniques

Ils sont situés à la surface de la membrane synaptique des différentes parties du système nerveux central en particulier dans la substance gélatineuse de ROLANDO, le tronc cérébral, le thalamus, le système limbique, le striatum, l'*Aera prostrrema* et également les tissus périphériques (fibres lisses du tube digestif), des poumons (8).

III.2.1.2. Classification (12)

Les travaux de KOSTERTITZ et collaborateurs ont permis d'isoler au moins trois types de récepteurs :

- les **récepteurs op1 (delta)** : ils sont impliqués dans la régulation du transport des ions intestinaux ainsi que le contrôle émotionnel douloureux et comportemental ;
- les **récepteurs op2 (kappa)** : ils interviennent dans l'analgésie et seraient responsables des myosis et de la sédation. Ils n'interviennent pas dans la survenue des dépressions respiratoires liées aux phénomènes de tolérance et de dépendance ;
- les **récepteurs op3 (mu)** : leur activation entraîne l'analgésie supra spinale, l'euphorie, la dépression respiratoire et la dépendance due aux narcotiques.

● Mécanismes d'action

Au niveau médullaire, le chef de file est la morphine. Il agit en renforçant le contrôle inhibiteur existant au niveau des couches II et III de la substance gélatineuse de ROLANDO encore appelée guichets. Au niveau de ces couches, les fibres fines périphériques (A δ et C) et des fibres ascendantes de la voie spinothalamique forment des connexions.

En outre, il faudrait noter que la substance gélatineuse de ROLANDO riche en récepteurs morphiniques (interneurones enképhalinergiques et en substance P) est le siège d'une inhibition physiologique de la douleur au niveau des guichets.

Cette inhibition physiologique serait renforcée par la morphine et les morphinomimétiques qui mimeraient l'action des enképhalines et inhiberaient la libération de la substance P.

Action renforçatrice indirecte des contrôles inhibiteurs descendants. Physiologiquement, les voies ascendantes de la douleur exercent par l'intermédiaire des neurones sérotoninergiques un contrôle sur la douleur.

La sérotonine agirait en favorisant la libération d'enképhalines au niveau de la moelle épinière. Ces pentapeptides inhiberaient le message nociceptif ou inhiberaient l'action de la substance P.

Ainsi, la morphine et les morphinomimétiques activeraient les neurones inhibiteurs sérotoninergiques descendants dont les corps cellulaires sont situés dans le raphé. Cette activation renforcerait l'inhibition de la transmission de la nociception au niveau des relais médullaires.

III.2.2. Place des analgésiques centraux dans la thérapeutique de la douleur

Les analgésiques centraux sont des médicaments des douleurs aiguës fortes ; la puissance de leur effet et la rapidité de leur action constituent les principaux avantages de ces produits. Ils sont les principaux, analgésiques utilisées dans les douleurs fortes et chroniques, comme les douleurs cancéreuses (7).

III.2.3. Effets indésirables et limites d'utilisation

Tous les morphiniques à l'exception de la codéine et du dextropropoxyphène sont toxicomanogènes ; à des doses répétées, ils entraînent une pharmacodépendance. Cette dépendance est à la fois psychique et physique, elle est traduite par l'apparition du phénomène de sevrage qui s'accompagne de douleurs diffuses, de troubles digestifs, d'hypertension et de mydriase (15).

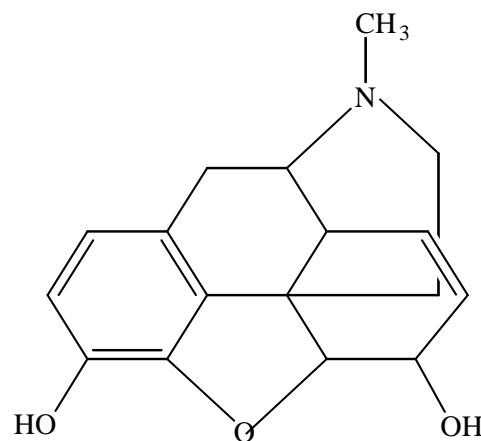
La tolérance est une composante de la pharmacodépendance. Elle est constatée par la diminution de l'intensité et de la durée de l'effet après administration d'une même dose de morphine. Elle explique la nécessité d'augmenter les doses pour le toxicomane.

La plupart des effets indésirables, des analgésiques centraux découlent de leurs propriétés pharmacologiques. Il s'agit notamment, de somnolence, de constipation, de dépression respiratoire et de convulsion (notamment chez les nourrissons), d'encombrement bronchique ou de rétention d'urine (7).

Le phénomène d'overdose ou intoxication aiguë par les morphiniques est responsable d'une mortalité élevée chez les toxicomanes.

III. 2.4. Quelques analgésiques centraux

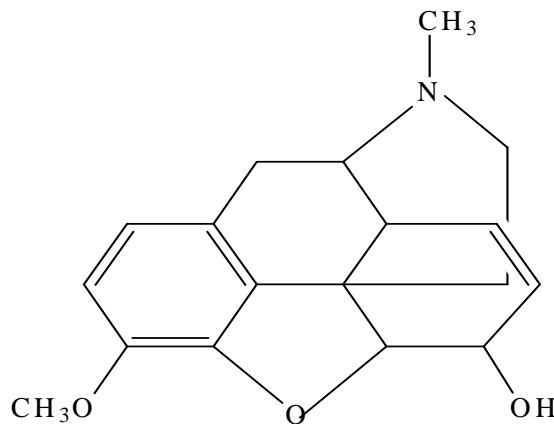
a) La morphine



b) Les morphinomimétiques

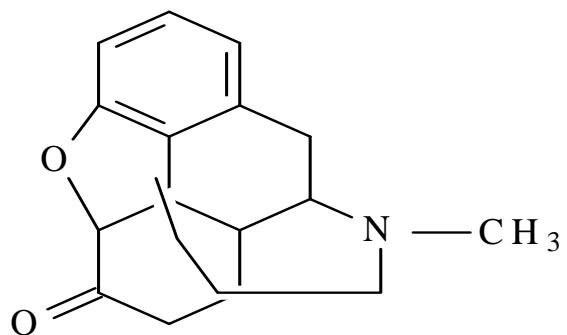
Ils ont une action similaire à celle de la morphine. Ils peuvent être d'origine naturelle :

- **la codéine** : elle est le seul alcaloïde naturel de l'opium ayant une structure analogue à celle de la morphine, mais 6 à 7 fois plus faible.



D'origine hémisynthétique

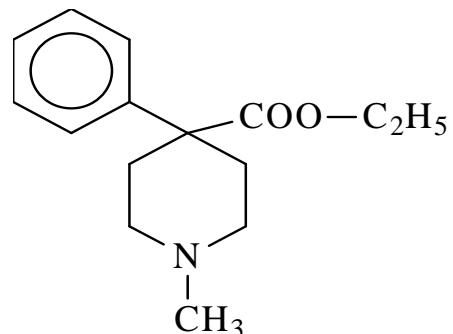
- **Oxycodone** : dérivé de la morphine et de l'héroïne, elle engendre une analgésie comparable à celle de la morphine.



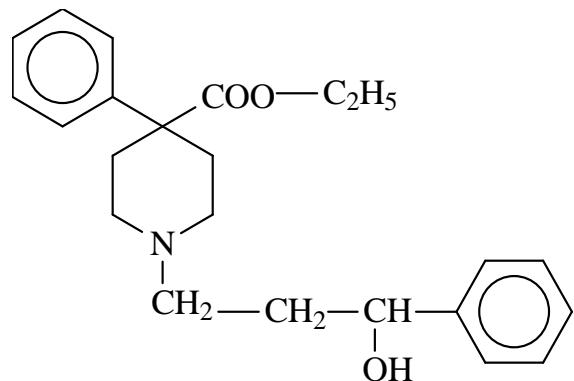
- **Héroïne** : elle provient de l'acétylation de la morphine. Elle est abandonnée en médecine à cause de son effet toxicomanogène. Mais, elle demeure très puissante 4 à 8 fois plus active que la morphine.

D'origine synthétique

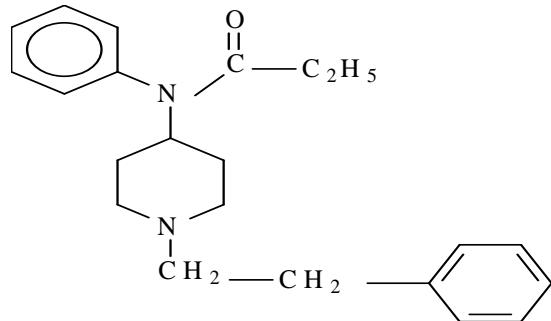
- **Péthidine**



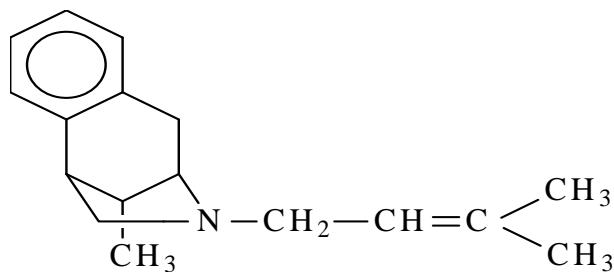
- **Phénopéridine**



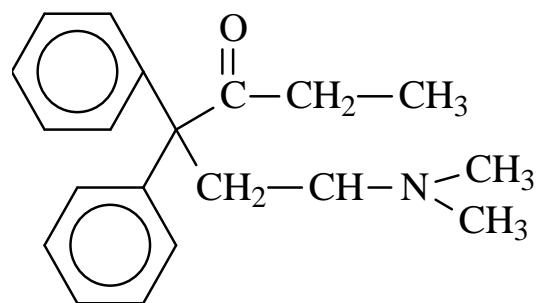
• **Le fentanyl** : son action est 100 fois supérieure à celle de la morphine. Il est utilisé pour traiter les douleurs d'origine néoplasique et en anesthésiologie.



• **La phénozocine ou Fortal^R**

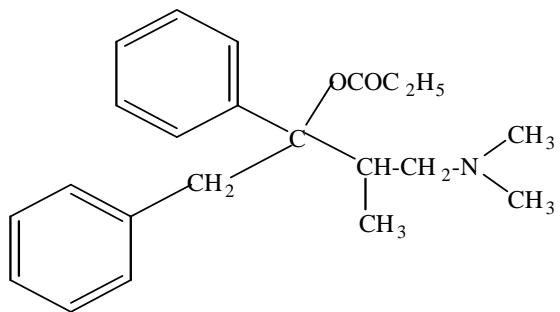


• **La Méthadone** : son action analgésique est supérieure à celle de la morphine. Elle est utilisée en cure de désintoxication chez les morphinomanes.

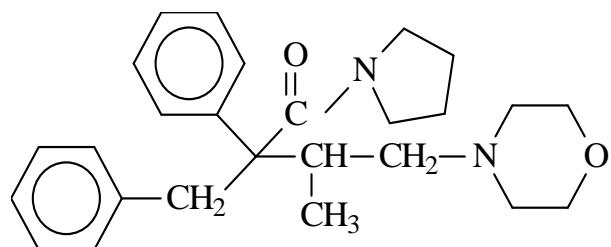


c) Le dextropropoxyphène

Son activité antalgique se situe entre les analgésiques centraux et les analgésiques périphériques. Il est utilisé dans diverses algies, associé au paracétamol et également en cancérologie.



- **Dextromoramide**: utilisé par voie orale, son pouvoir analgésique est 5 fois, supérieur à celui de la morphine.

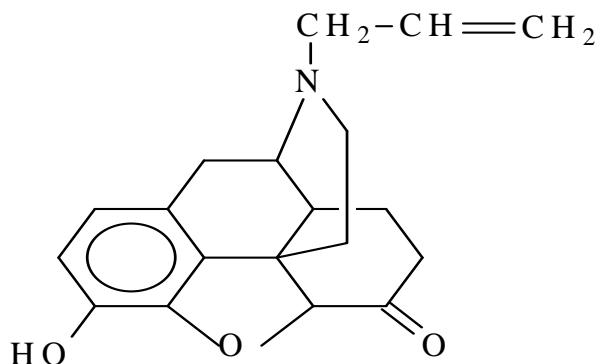


d) Les antimorphiniques (11)

De nombreux dérivés antimorphiniques ont été synthétisés dans le but de s'opposer à la dépression respiratoire induite par la morphine sans diminuer sensiblement l'effet analgésique. Cette action antimorphinique varie, selon qu'elle est administrée seule ou associée.

Antagonistes purs

- **La Naloxone**

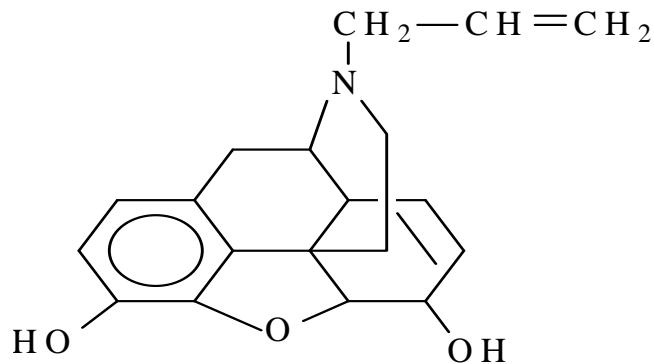


La Naloxone permet de lutter contre le coma, la dépression respiratoire et tous les autres signes associés à l'intoxication par surdosage opioïde. Il est proposé dans le

traitement de l'intoxication alcoolique aiguë, dans les états de choc dans le traitement de l'obésité et celui de l'amnésie.

Antagonistes mixtes

- **Le N-allynormorphine**



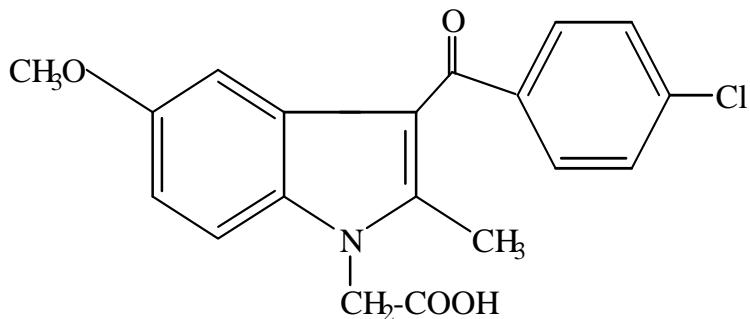
Le N-allynormorphine est proposé dans le traitement de la dépression respiratoire provoquée par la morphine et les morphinomimétiques, en anesthésiologie et en néonatalogie.

III.2.4. Autres dérivés analgésiques

III.2.4.1. La Clométacine

C'est un isomère de l'indométacine, présentant une activité analgésique périphérique non anti-inflammatoire. Elle est préconisée dans différentes formes de douleurs musculaires et rhumatismales, et dans les algies cancéreuses (4).

Structure



III.2.4.2. Les dérivés de l'Amino-4-quinoléine

Ce sont des analgésiques périphériques d'action plus rapide que celle des analgésiques antipyrétiques. L'effet anti-inflammatoire est très faible aux doses analgésiques ; ce qui leur a valu le nom d'analgésiques purs.

Ils sont indiqués dans différents types d'algies :

- rhumatismales ;
- viscérales ;
- cancéreuses.

CHAPITRE II : TECHNIQUE D'EXPLORATION DE L'ACTIVITE ANALGESIQUE

I - TEST A L'ACIDE ACETIQUE

Comme produit, les contorsions caractéristiques sont obtenues en injectant par voie intrapéritonéale à des souris, de l'acide acétique dilué. Le test utilise comme référence l'acide acétylsalicylique ou de la morphine. Des doses croissantes du produit à étudier sont administrées à des animaux répartis en lots. Après un temps

convenable, de l'acide acétique leur est injecté et on compare le nombre de contorsions. Les produits qui possèdent les propriétés analgésiques entraînent une diminution significative du nombre de contorsions. (4)

II - RANDALL- SELLITO TEST (3)

Les animaux utilisés sont des rats sur lesquels une injection d'une suspension à 20 % de levure de bière (0,1ml) en sous cutanée est effectuée au niveau de la plante de la patte. L'extrait à étudier est administré une heure avant l'injection.

III - PLAQUE CHAUFFANTE

Des souris, d'un poids compris entre 20 et 25g, sont réparties en six groupes de 10. Le test est pratiqué en 30 ; 60 ; 80 ; 120 ; 150 et 180 mn, après administration de l'extrait du produit à étudier. L'eau distillée sert de véhicule de contrôle. La température de la plaque se trouve à $56 \pm 1^\circ C$.

Le procédé consiste d'abord à effectuer un test de contrôle pour déterminer la capacité de réponse des animaux qui se traduit par un saut ou un retrait de la patte. La sélection portera sur des souris qui donnent une réponse en dix secondes au stimulus thermique. Les animaux sont répartis en lots qui reçoivent une dose différente du produit par voie orale. Le temps de réaction est mesuré 30 mn après administration de l'extrait.

IV - PRESSION DE QUEUE

Des souris, d'un poids compris entre 20 et 25g, sont réparties en six groupes de 10. Le test est pratiqué en 30 ; 60 ; 80 ; 120 ; 150 et 180 mn, après administration de l'extrait du produit à étudier. L'eau distillée sert de véhicule de contrôle. Les produits de référence sont soit la morphine, soit l'acide acétylsalicylique. Des doses croissantes du produit à étudier sont administrées par voie orale ou intrapéritonéale.

Le temps de réaction à la douleur induite par la pression exercée sur la queue est mesuré pour chaque dose (17).

V - IMMERSION DE QUEUE

Les souris sont mises dans des boîtes à contorsion, la queue à l'extérieur est trempée dans un bain immersion à 55°C. Les animaux sont répartis par lots de six et le produit testé est administré à des doses différentes pour chaque lot. Le test est pratiqué en 30 ; 60 ; 90 ; 150 et 180 mn après administration. On mesure le temps de réaction en seconde par le retrait de la queue du bain à immersion (14).

VI - ANTAGONISME PAR LA NALOXONE

La Naloxone est antagoniste spécifique de récepteur morphinique. Elle est injectée à la dose de 1 mg/kg par voie intra-péritonéale à des souris 15 mn avant administration du produit dans le but de déterminer si l'activité analgésique est d'origine centrale. Les animaux témoins reçoivent la Naloxone dans les mêmes conditions (16).

VII - LA TECHNIQUE DE D'AMOUR ET SMITH

Elle mesure l'effet d'un antalgique central après irradiation calorique de la queue d'un rat ou d'une souris.

Un faisceau de chaleur radiante d'une lampe chauffante est dirigé sur l'extrémité de la queue d'un rat. La distance lampe-queue est ajustée en vue d'obtenir retrait de la queue pour un temps compris entre 5 et 7 secondes.

Des tests de contrôle effectués à trois reprises de quinze minutes avant l'injection de la substance à étudier. Après administration du produit, le temps maximum d'irradiation sera de dix minutes afin d'éviter les brûlures de la queue.

Les mesures se font à TO = 0 ; T1 = 30 mn ; T2 = 60 mn ; T3 = 120 mn. Après administration par voie orale du produit à des lots de 5 rats par dose (5).

DEUXIEME PARTIE
ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

I - M A T E R I E L

I.1. MATERIEL VEGETAL

I.1.1. Origine et nature du matériel végétal

Le matériel végétal est une préparation médicamenteuse à base de plante fournie par un tradipraticien. L'extrait est utilisé tel quel pour le screening chimique, les études des activités analgésiques et toxicologiques. Pour la détermination du pH, le dosage des tanins et des sels minéraux, nous avons utilisé l'extrait filtré et stérilisé.

I.1.2. Matériel de laboratoire

I.1.2.1. Filtration et stérilisation

Les matériels utilisés sont :

- filtre en verre fritté de porosité 4 ;
- pompe à vide ;
- marmites en aluminium.

I.1.2.2. Matériels utilisés pour la détermination du pH

- Papier pH : plage de pH 1 à pH 14.

I.1.2.3. Matériels utilisés pour le screening chimique

- Etuve
- Enlenmeyer ;
- Bêcher ;
- Pipettes ;
- Ampoule à décanter ;
- Tube à essai ;
- Fioles ;
- Ballon rodé ;
- Agitateur magnétique.

I.1.2.4. Matériels utilisés pour le dosage des sels minéraux

- Spectrophotomètre de Flamme Screen Lyte Hospitex Diagnostic.

I.1.2.5. Matériels utilisés pour l'étude de l'activité analgésique

- Balance de précision METTLER AE 50 ;

- Balance pèse souris ;
- Chronomètre ;
- Sonde pour gavage ;
- Solution d'acide acétique à 3% ;
- Eau physiologique ;
- Un appareil ATRALUX PHILIPS (par 51 spots de 300 watts) équipé d'un potentiomètre qui permet de régler la température d'irradiation ;
- Des boîtes à contention, numérotées.

I.1.2.6. Matériels utilisés pour toxicologique

- compteur de globules ABX Micro-60 permettant de faire la numération des éléments figurés du sang ;
- un spectrophotomètre d'absorption SECOMA Basic programmable pour les dosages biochimiques.

I.2. MATERIEL ANIMAL

I.2.1. Activité analgésique

I.2.1.1. Activité analgésique central

Il s'agit des rats des deux sexes de souches « *Wistar* » pesant entre 170 et 226g. Les animaux ont été élevés à l'Animalerie du Laboratoire de Pharmacologie de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de l'UCAD.

I.2.1.2. Activité analgésique périphérique

Il s'agit des souris des deux sexes de poids compris entre 18 et 30g, fournies par l'Institut Pasteur de Dakar.

I.2.2. Activité toxicologique

I.2.2.1. Toxicité aiguë

Nous avons disposé de souris des deux sexes pesant entre 18 et 22g. Ces animaux sont fournis par l’Institut Pasteur de DAKAR.

I.2.2.2. Toxicité sub-aiguë

Il s’agit de rats de souches « *Wistar* » des deux sexes dont le poids est compris entre 140 et 150g en début d’expérimentation. Ils ont été fournis par l’Animalerie du Laboratoire de Toxicologie de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de l’UCAD.

I.2.2.3. Matériel de prélèvement

Les urines sont prélevées dans des pots en plastique gradués, après séjour dans des cages à métabolisme où ils ont un libre accès à l’eau et l’alimentation.

Les prélèvements de sang sont effectués dans deux types de tubes :

- tubes à EDTA pour les analyses hématologiques ;
- tubes secs pour les analyses biochimiques.

Les organes destinés à l’examen anatomo-pathologiques sont conservés dans des pots contenant du formol.

II - METHODES

II.1. FILTRATION ET STERILISATION

II.1.1. Filtration

On procède à une filtration sous vide réalisée par une pompe. En faisant passer l'extrait à travers un filtre de verre fritté de porosité 4, on obtient un filtrat qui est recueilli dans une fiole.

II.1.2. Stérilisation

C'est une opération dont le but est de débarrasser l'extrait à étudier des micro-organismes vivants. Les flacons contenant l'extrait filtré sont immersés dans une marmite contenant de l'eau et on porte à ébullition pendant 45 mn. Ils sont ensuite conservés à l'abri de la lumière.

II.2. DETERMINATION DU PH ET CRIBLAGE CHIMIQUE

II.2.1. Détermination du pH

Le bout du papier pH est immergé dans un bêcher contenant l'échantillon. La nouvelle coloration du papier pH obtenue est comparée à celles des différentes zones de pH indiqués sur le boîtier.

II.2.2. Criblage chimique

Le criblage chimique est effectué dans le but de déterminer la composition chimique de l'échantillon étudié. L'étude a été réalisée au Laboratoire de Pharmacognosie et Botanique de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et Odontologie de l'UCAD.

II.2.2.1 Recherches des hétérosides anthracéniques

Les anthracènes sont des substances phénoliques dérivées du noyau anthracène plus ou moins oxydé et le plus souvent engagées dans une liaison hétérosidique d'où leurs propriétés physiologiques communes. Leur caractérisation générale repose sur la réaction à l'acétate de magnésium. Leur caractérisation spécifique se fera par chromatographie sur couche mince (CCM).

II.2.2.1.1. Réaction à l'acétate de magnésium

a) Principe

Les génines anthracéniques en présence d'acétate de magnésium donnent une coloration rouge permettant de les identifier. Cette coloration est d'autant plus intense que les génines sont oxydées.

b) Mode opératoire

Le procédé débute par l'extraction des génines libres non actives. Pour cela, 10 ml de l'extrait sont introduites dans une ampoule à décanter avec une goutte d'acide chlorhydrique. L'ampoule est ensuite agitée avec 10 ml de CHCl_3 puis mise au repos pour permettre la séparation des couches. L'étape suivante est d'écarter la couche chloroformique.

La phase aqueuse recueillie dans un ballon rodé est mélangée avec 0,2 ml de solution de carbonate de sodium 5% afin d'ajuster le pH à 7, avec 20 ml de solution de chlorure ferrique à 10%. Tout en bien mélangeant, le ballon est adapté au réfrigérant et le tout porté au bain-marie bouillant pendant 20 mn.

Dans un second temps l'hydrolyse des génines est faite, en ajoutant 1 ml de HCl concentré à la solution précédente. Après avoir mélangé soigneusement, on chauffe à nouveau 20 mn au bain-marie bouillant en agitant souvent pour dissoudre le précipité formé.

Enfin, on extrait les génines oxydées. Après refroidissement, on transvase quantitativement le contenu du ballon dans une ampoule à décanter de 500 ml. Le contenu est épuisé à 3 reprises par 25 ml de chloroforme. Chaque fraction chloroformique est lavée dans une autre ampoule par 25 ml d'eau, tout en conservant la même eau, nous transvasons avec soin la totalité des phases chloroformiques dans une fiole jaugée de 100 ml en ajustant au chloroforme.

La solution est divisée en deux parties égales : l'une utilisée pour la caractérisation ; l'autre servira à l'identification par CCM.

• Réaction à l'acétate de magnésium

50 ml du filtrat sont évaporés à l'air libre. Au résidu obtenu, nous ajoutons une solution d'acétate de magnésium. L'apparition d'une coloration jaune virant au rouge par chauffage au bain-marie indique la présence de dérivées anthracéniques.

II.2.2.1.2. Identification spécifique par chromatographie sur couche mince

a) Extraction

50 ml de la solution chloroformique précédente, est évaporé à sec. Le résidu sec obtenu est repris par 1 ml de méthanol et analysé par CCM.

b) Dépôt

- Solution extractive : 20 µl ;
- Aloé – émodine : 60 µl } solution méthanolique à 1% ;
- Chrysophanol : 60 µl ;
- Rhéine : 60 µl ;
- Support : kielselgel GF 254.

c) Eluant

- Ether de pétrole : 4 v ;
- Acide acétique : 1 v ;
- Acétate d'éthyle : 1 v.

d) Révélation

La plaque après séchage est examinée sous lumière UV à 366 nm. On pulvérise par de l'acétate de magnésium à 0,05% dans l'éthanol. La plaque est chauffée à l'étuve pendant quelques minutes pour mieux observer la coloration des spots obtenus puis on procède au calcul des Rf des témoins et de l'extrait.

II.2.2.2. Recherches des hétérosides flavoniques

Les flavonoïdes sont des pigments jaunes très répandus chez les végétaux. Leur génine polyphénolique dérive du noyau phényl-2-chromone.

II.2.2.2.1. Réactions de caractérisations

La caractérisation des hétérosides flavoniques se fait par coloration en milieu alcalin, par coloration par le perchlorure de fer et par la réaction de la cyanidine qui est la réaction de référence.

a) Coloration en milieu alcalin

Principe

En milieu alcalin, les flavonoïdes se dissolvent facilement en donnant des colorations allant du jaune au brun.

Mode opératoire

2 ml d'extrait sont mélangés avec 3 ml d'une solution de soude au 1/10^e. L'apparition d'une coloration jaune-orange indique la présence de flavonoïdes.

b) Coloration par le perchlorure de fer (FeCl_3)

Principe

Les flavonoïdes donnent des colorations variées avec des solutions diluées de FeCl_3 du fait de la présence des fonctions phénoliques dans leurs génines.

Mode opératoire

A 2 ml d'extrait, nous avons ajouté 2 à 3 gouttes d'une solution diluée de FeCl_3 à 2%. L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence de flavonoïdes.

c) Réaction de la cyanidine

Principe

C'est la réaction spécifique des flavonoïdes qui donnent des colorations variées allant du rouge-orange au violet, en solution alcoolique, en présence d'hydrogène naissant produit *in situ* par action de l'acide chlorhydrique sur du magnésium.

Mode opératoire

Nous avons ajouté à 2 ml de l'extrait 2 ml d'alcool chlorhydrique, puis quelques fragments de magnésium. Le développement lent d'une coloration rose puis rouge révèle la présence de flavonoïdes.

II.2.2.3. Recherches des saponosides

Les saponosides sont des hétérosides à génines stéroïdiques ou tri-terpéniques, ce qui leur confère un pouvoir aphrogène, c'est-à-dire moussant.

Principe

La caractérisation des saponosides est basée sur la détermination de « *l'indice de mousse* » de l'extrait.

Mode opératoire

Dans une série de 10 tubes calibrés, numérotés de 1 à 10, sont répartis successivement 1, 2, 3...10 ml de l'extrait. Dans chaque tube, le volume est ajusté à 10 ml par addition d'eau distillée. Chaque tube est agité pendant 15 secondes dans le sens de la longueur. Après un repos de 15 mn, la hauteur de mousse de chaque tube est mesurée. Le tube dans lequel la hauteur de mousse est de 1 cm, sert de base au calcul de l'indice.

II.2.2.4. Recherche des tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques ayant la propriété de tanner la peau.

II.2.2.4.1. Réactions de caractérisation

La caractérisation des tanins se fait par les réactions avec le chlorure ferrique et l'acide phosphotungstique. La différenciation des tanins n'est possible que grâce aux deux types de réactions suivantes :

- par précipitation par le réactif de Stiasny ;
- par oxydation des tanins condensés.

a) Réaction de mise en évidence des tanins

• Caractérisation par le chlorure ferrique (FeCl_3)

Dans un tube à essai contenant 5 ml de l'extrait, nous avons ajouté quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique à 2%. Après agitation, l'apparition de coloration brun-vert indique la présence de tanins.

• Caractérisation par l'acide phosphotungstique

L'extrait est dilué au 1/10. A 1 ml de l'extrait dilué nous avons 1 ml d'une solution d'acide phosphotungstique ; puis, 9 ml d'une solution aqueuse de carbonate de sodium à 25%. En présence de tanins il apparaîtra une coloration bleue.

b) Différenciation des tanins

• Précipitation par le réactif de STIASNY

Principe

Les tanins condensés précipitent à chaud par addition à l'extrait de réactif de STIASNY. En cas de présence de tanins hydrolysables l'addition de chlorure ferrique à 2% (FeCl_3) sur le filtrat entraîne une précipitation bleu-noire.

Mode opératoire

A 15 ml de l'extrait, nous avons ajouté 8 ml de réactif de STIASNY. Après chauffage à 30 mn au bain-marie, l'apparition d'un précipité montre la présence de tanins condensés.

A 1 ml du filtrat saturé par l'acétate de sodium nous avons ajouté quelques gouttes de la solution de chlorure ferrique à 2%. L'apparition de précipité bleu-noir indique la présence de tanins hydrolysables non précipités par le réactif de STIASNY.

• Oxydation des tanins condensés

Principe

Par chauffage en milieu chlorhydrique, les tanins condensés s’oxydent en phlobaphènes colorés en rouge.

Mode opératoire

A 5 ml de l’extrait, nous avons ajouté 1 ml d’acide chlorhydrique. Le tout est porté à ébullition. S’il y a formation de phlobaphènes, il se développe une coloration rouge.

II.2.2.5. Recherche des hétérosides cardiotoniques

Les hétérosides cardiotoniques constituent des substances très homogènes par leur structure et par leur activité pharmacologique. Sur le plan chimique se sont des O-hétérosides dont la génine est de nature stéroïdique.

Principe

La caractérisation des hétérosides cardiotoniques est déterminée par l’action des dérivés nitrés en milieu alcalin sur l’extrait dégraissé.

Les trois réactifs utilisés sont :

- *le réactif de BALJET (acide picrique : trinitrophénol) qui donne une coloration rouge-orangée stable ;*
- *le réactif de KEDDE (acide dinitro 3-5 benzoïque) qui donne une coloration rouge-pourpre stable ;*
- *et le réactif de Raymond MARTHOUD (dinitro benzène) qui donne une coloration violet-fugace.*

Mode opératoire

• Dégraissage

20 ml de l’extrait sont mis en contact deux fois de suite avec 4 ml d’éther de pétrole pendant 3 mn puis séchés à l’air libre.

• Extraction

Au résidu obtenu, nous avons ajouté 5 ml de mélange chloroforme/éthanol (4:1 v/v). En laissant macérer pendant 1h, agiter de temps à autre, le mélange est filtré.

Le filtrat recueilli est réparti dans trois tubes à essai. Nous avons versé respectivement dans chaque tube :

- **tube 1** : 0,5 ml de réactif de BALJET ;
- **tube 2** : 0,5 ml de réactif de KEDDE ;
- **tube 3** : 0,5 ml de réactif de Raymond MARTHOUD.

Dans chaque tube, nous avons ajouté 2 gouttes de lessive de soude diluée au 1/5 dans l'alcool à 95°. Après avoir secoué énergiquement, nous avons vérifié si le pH est alcalin.

L'apparition de coloration rouge-orangée stable dans le tube 1 indique la présence d'hétéroside cardiotonique.

Une coloration rouge-pourpre au niveau du tube 2 indique la présence d'hétéroside cardiotonique.

Enfin, la présence dans le tube 3 d'une coloration violet-fugace montre la présence d'hétéroside cardiotonique.

II.2.2.6. Recherche des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances azotées d'origine végétale. Ils présentent des réactions de précipitations avec les réactifs généraux des alcaloïdes.

Principe

Les réactions générales de caractérisations des alcaloïdes sont des réactions de précipitations. En solution aqueuse acide (pH compris entre 1 et 2), les sels d'alcaloïdes donnent avec les complexes iodés des métaux lourds des précipités colorés caractéristiques.

Les réactifs utilisés sont :

- le réactif de BOUCHARDAT avec un précipité brun ;
- le réactif de DRAGENDORFF avec un précipité orange à rouge vermillon ;
- et le réactif de VALSER MAYER avec un précipité blanc jaunâtre.

Mode opératoire

3 ml d'extrait sont acidifiés par 15 ml d'acide sulfurique à 10%. On laisse reposer pendant 30 mn, ensuite on filtre sur papier. Après avoir vérifié que le pH est compris entre 1-2 à l'aide du papier pH, l'extrait acidifié est réparti dans 3 tubes à essais.

Ajouter ensuite 2 à 3 gouttes de :

- réactif de BOUCHARDAT dans le premier tube ;
- réactif de DRAGENDOFF dans le second tube ;
- réactif de VALSER MAYER dans le troisième tube.

On recherche la formation de précipités.

II.3. DOSAGE DES TANINS

II.3.1. Choix des méthodes colorimétriques

Les méthodes colorimétriques exploitent l'hétérogénéité chimique des tanins pour obtenir des dosages sélectifs en utilisant des réactifs spécifiques.

Les méthodes colorimétriques sont basées sur les propriétés réductrices des groupements phénols. La coloration ainsi obtenue par l'utilisation des réactifs spécifiques est quantifiable par spectrophotométrie (9).

II.3.2. Principe de la spectrophotométrie en ultraviolet visible

Le spectrophotomètre est un appareil permettant de faire traverser un échantillon par un rayonnement monochromatique et de mesurer l'intensité de la fraction transmise. En effet, la spectrophotométrie d'absorption met à profit d'abord l'absorption par une substance d'un rayonnement électromagnétique dans une bande longueur d'onde bien définie. L'évaluation quantitative de la substance à une longueur d'onde correspond à un maximum d'absorption (9).

L'étude du spectre proprement dit se situe au niveau de trois régions :

- UV lointain pour les longueurs d'onde compris entre 100 et 200 nm ;
- UV proche pour les longueurs d'onde comprises entre 200 et 350 nm ;
- le visible pour les longueurs d'onde comprises entre 350 et 800 nm.

En pratique courante, on opère dans les domaines de l'UV proche du visible. La longueur d'onde de la radiation qui correspond au maximum d'absorption (le sommet d'une bande d'absorption) est désignée par λ_{max} , et l'intensité d'une bande donnée est exprimée en général en fonction du coefficient d'extinction molaire (ou de son logarithme) tiré de la loi de Berr-Lambert : $\log \frac{I_0}{I} = \epsilon CL = DO \Rightarrow \epsilon = DO/CL$.

- I_0 = l'intensité du faisceau incident ;
- I = l'intensité du faisceau transmis ;
- L = la longueur du trajet optique (longueur en cm de la solution traversée) ;
- C = la concentration molaire ;
- ϵ = coefficient d'extinction molaire.

La densité optique (DO), encore appelée absorbance (A), caractérise l'intensité d'une bande d'absorption. Elle est proportionnelle à la concentration molaire de la solution et à la longueur du trajet parcouru dans la solution.

Le rapport $T = I / I_0$ est appelé transmission.

II.3.3. Principe du dosage des tanins

Les tanins ont été dosés indirectement par la méthode de FOLIN DENIS. Il est basé sur la réduction du réactif de FOLIN DENIS par les groupements phénoliques des tanins. Il se forme ainsi un complexe molybdique dont la coloration bleue est appréciée au spectrophotomètre en présence de témoin (acide tannique).

La plante contenant d'autres polyphénols (flavonoïdes), il sera nécessaire de déterminer d'abord la teneur en phénols totaux. Après élimination des tanins par précipitation par une protéine (la caséine), les tanins résiduels seront dosés.

La différence entre les teneurs en phénols totaux et en phénols résiduels correspond à la teneur en tanins de l'extrait.

II.3.3.1. Préparation du réactif de FOLIN DENIS

Il est obtenu par mélange de 41,25g de tungstate de sodium ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ; 8,25 g d'acide phospho-molybdique (20 MoO_3 ; H_3PO_4), 20 ml d'acide phosphorique

(H_3PO_4) , et 300 ml d'eau distillée. Le tout est porté à ébullition pendant deux heures. La solution résultante est ajustée à 1 000 ml avec de l'eau distillée. Une solution de carbonate de sodium ($CO_2Na_2 H_2O$) est préparée parallèlement en dissolvant 24,8g de Na_2CO_3 dans 200 ml d'eau distillée.

II.3.3.2. Préparation de la gamme d'étalonnage

Une solution mère d'acide tannique est préparée en dissolvant 250 mg de tanin officinal dans 500 ml d'eau distillée. Un aliquote de cette solution mère est prélevé et dilué au 1/100 avec de l'eau distillée. Cette solution mère diluée est répartie dans une série de tubes à essai en vue de réaliser une gamme d'étalonnage. Les dilutions sont opérées dans chaque tube de la manière suivante :

Tableau I : Gamme d'étalonnage pour le dosage des tanins

T U B E S	1	2	3	4	5	6
Facteurs de dilutions	1/40	1/20	1/4	1/3	2/5	1/2
Volume de solution d'acide tannique ($5\mu g/ml$) en ml	0,5	1	5	7,5	10	12,5
Eau distillée en ml	19,5	19	15	15	15	12,5
Concentrations en $\mu g/ml$	0,0416	0,083	0,416	0,56	0,66	0,83
Absorbance	0,0225	0,038	0,3	0,5	0,6	0,727

A 2 ml de cette solution au 1/100, nous avons ajouté 2 ml du réactif de FOLIN DENIS. Le mélange est agité énergiquement et laissé au repos pendant 3 mn. Nous avons ajouté à nouveau 2 ml de solution de carbonate de sodium. Après avoir laissé la solution au repos pendant 2h, nous avons procédé à une centrifugation à petite vitesse (200 tours/mn) pendant 30 mn. Une série de dilutions de la solution de tanin préparée permettra d'établir la courbe d'étalonnage de l'acide tannique. La lecture de l'absorbance se fait à 725 nm ; un blanc est préalablement préparé.

II.3.3.3. Dosage des phénols totaux

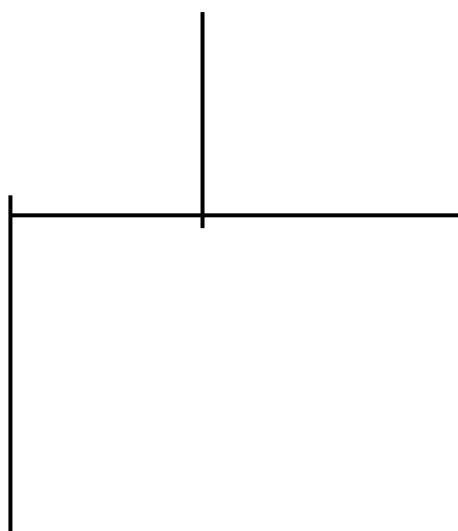
L'extrait est dilué au 1/5000 de la manière suivante : 1 ml de l'extrait est dilué au 1/100 ; puis, 1ml de cette solution est de nouveau dilué au 1/50. On prélève 2ml de l'extrait dilué au 1/5000, on ajoute 2 ml de réactif de FOLIN-DENIS, on agite énergiquement et on laisse reposer pendant 3 mn. On ajoute ensuite 2 ml de la solution de carbonate de sodium, puis on secoue et on laisse reposer pendant 2h. On procède à une centrifugation à la vitesse de 200 tours/mn pendant 30 mn. Après filtration la lecture est faite à 725 nm au spectrophotomètre d'absorption.

II.3.3.4. Dosage des phénols résiduels

A 1 ml de l'extrait nous avons ajouté 9 ml d'eau. 6 ml prélevés de cette dilution sont mélangés avec 12 ml d'eau distillée et 1g de caséine en poudre. Après agitation, la solution est laissée au repos pendant 3 heures. Chacun des bêchers utilisé est rincé soigneusement avec 10 ml d'eau distillée et le filtrat ajusté à 25 ml avec de l'eau distillée. Un aliquote de 2 ml de ce filtrat est prélevé pour la détermination des phénols totaux résiduels.

A ces 2 ml, nous avons ajouté 2 ml du réactif de FOLIN DENIS. Après avoir secoué énergiquement, la solution est laissée au repos pendant 3 mn. Après avoir ajouté à nouveau 2 ml de solution de carbonate de sodium, nous avons secoué et laissé au repos pendant 2 heures. Nous avons ensuite procédé à une centrifugation à la vitesse de 200 tours/mn pendant 30 mn. Après filtration la lecture est faite à 725 nm au spectrophotomètre d'absorption.

EXTRAIT



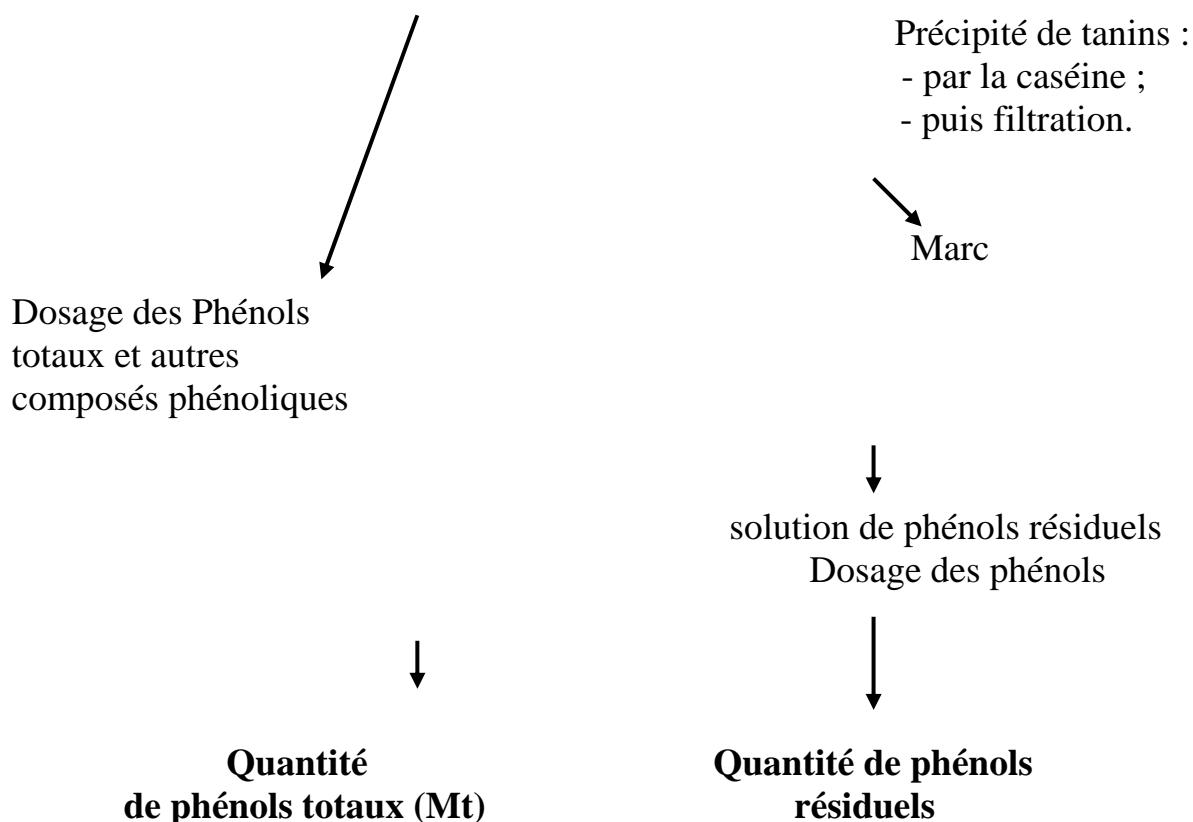


Figure 3 : Schéma de dosage des tanins totaux

II.4. DOSAGE DES SELS MINERAUX

Il s'agit du dosage des sels de métaux alcalins Na ; K.

☞ **Les sels de sodium :** A l'état naturel, ils sont extraits des salines et de l'eau de mer. Le sel de sodium est indispensable à l'organisme en tant que source d'ions Na^+ qui jouent un rôle important dans le maintien de l'équilibre électrophysiologique de l'organisme par l'intermédiaire de la cellule rénale.

☞ **Le sel de potassium :** C'est un métal alcalin très répandu dans la nature sous forme de composés organiques ou inorganiques dans l'eau de mer, dans les organes

des végétaux, des animaux, dans diverses roches et dans l'organisme humain. Le potassium est le plus important cation (K^+) intracellulaire. Avec le sodium, il joue un rôle essentiel dans le maintien de la perméabilité sélective cellulaire, de l'excitabilité des fibres nerveuses et de la contraction musculaire. Le potassium exerce une action dépressive sur le système nerveux central, le cœur et la musculature et favorisent la diurèse.

Principe

Il consiste à effectuer une dilution de l'extrait étudié et de la solution étalon standard avant de procéder au dosage proprement dit. La moyenne des mesures obtenues donne la quantité de Na/K contenue dans l'extrait.

Mode opératoire

On procède à une dilution de la solution de lithium au 1/200 : 1 ml de la solution Li à 3000 mEq/ml, nous avons introduit dans une fiole jaugée de 200 ml. Nous avons complété avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge. Cette solution obtenue servira de blanc et de solvant pour le reste de la manipulation. Nous avons ensuite procédé à la dilution au 1/100 de l'extrait et de la solution étalon standard.

A l'aide d'une pipette Pasteur, nous avons introduit dans 3 tubes à essai 100 μ l de l'extrait. Ensuite, nous avons ajouté dans chaque tube 10 ml de la solution de lithium diluée. La solution étalon sera préparée dans les mêmes conditions.

La lecture se fera au spectrophotomètre de flamme en utilisant le blanc pour éliminer les impuretés de l'appareil qui sera réglé dans les conditions optimales avec la solution étalon.

II.5. ETUDE DES ACTIVITES ANALGESIQUES

II.5.1. Détermination de l'extrait sec

Principe

Il consiste à déterminer la concentration de l'extrait étudié par évaporation à sec à l'étuve à 100° C.

Mode opératoire

Dans une capsule préalablement séchée et tarée à l'étuve, nous avons introduit dans la capsule 1 ml de l'extrait. Après avoir déterminé le poids exact de l'ensemble $P = \text{capsule} + \text{extrait}$, nous avons procédé à l'évaporation à sec à l'étuve à 100°C. Après séchage, l'ensemble capsule + extrait sec qui est égal à P' est à nouveau pesé.

La même opération est effectuée pour quatre capsules ce qui nous a permis de calculer la moyenne afin d'obtenir la quantité en extrait sec. La concentration en extrait sec, est calculée en divisant la quantité d'extrait sec par le volume d'extrait prélevé (soit 1ml).

II.5.2. Etude de l'activité analgésique

II.5.2.1. Activité analgésique périphérique

a) Test à l'acide acétique

• Principe

Ce test, permet d'explorer l'activité analgésique périphérique. L'injection intrapéritonéale d'acide acétique à 3% chez la souris provoque un syndrome dououreux qui se manifeste par des contorsions caractéristiques avec étirement des pattes postérieures et de la musculature dorso-ventrale. Les substances analgésiques provoquent une diminution significative des contorsions (7).

• Mode opératoire

Les souris ont été réparties en lots de 10.

- un lot témoin qui a reçu uniquement de l'eau distillée ;
- un lot traité à la dose de 0,5 g/kg ;
- un lot traité à la dose de 0,75 g/kg ;
- un lot traité à la dose de 1 g/kg ;
- un lot traité à la dose de 0,3 g/kg d'acide acétylsalicylique.

30 mn après le gavage, nous avons injecté de l'acide acétique à 3% par voie intrapéritonéale et compté pour chaque souris le nombre de contorsions.

Les souris sont regroupées au nombre de deux par cage pour faciliter le comptage.

II.5.2.2. Activité analgésique centrale

○ Technique

● *Principe*

C'est un test, qui explore l'activité analgésique centrale des substances et utilise un stimulus thermique : l'irradiation de la queue du rat. Cette méthode explore l'activité centrale des analgésiques, le temps en (secondes) mis par l'animal pour retirer sa queue du faisceau calorique émis par l'appareil est fonction de l'effet analgésique central d'une substance.

L'appareil est muni d'une cellule photoélectrique qui arrête automatiquement le chronomètre dès que l'animal retire sa queue (*figure 4*).

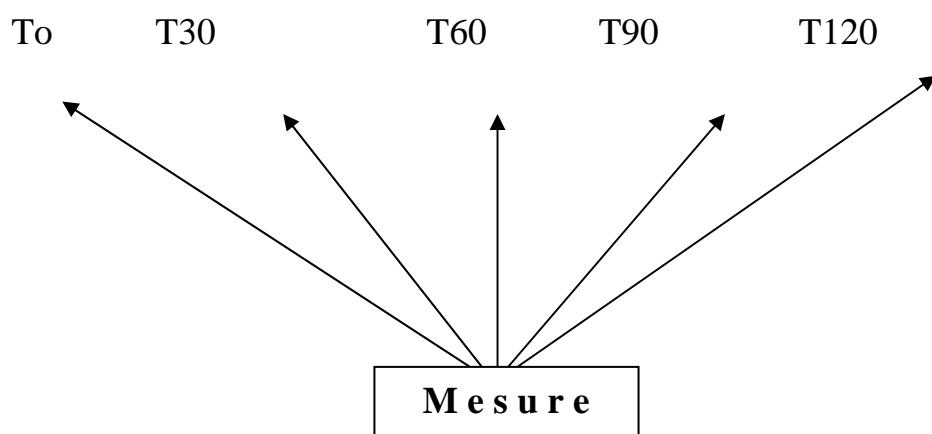
● *Mode opératoire*

Les rats sont mis à jeûne, la veille de la manipulation 16h avant le jour de la manipulation, les animaux sont marqués, pesés et placés dans les cages à contention. Le temps de retrait de la queue avant toute administration du produit, (T0) a été réglé pour chaque rat de façon à ce qu'il soit compris entre 4 et 6 secondes lors des tests de contrôle effectués à reprise à des intervalles de 15 mn.

Les rats sont répartis en 6 lots de 5 :

- un lot traité à 0,5 g/Kg d'extrait ;
- un lot traité à 1 g/Kg d'extrait ;
- un lot traité à 1,5 g/kg d'extrait ;
- un lot traité à 1 g/Kg d'aspirine ;
- un lot témoin qui reçoit uniquement de l'eau distillée.

Les mesures des temps de retrait de la queue pour chaque rat ont été effectuées en atmosphère calme selon la séquence suivante :



La lecture du temps de retrait de la queue est faite directement sur le voyant lumineux de l'appareil.

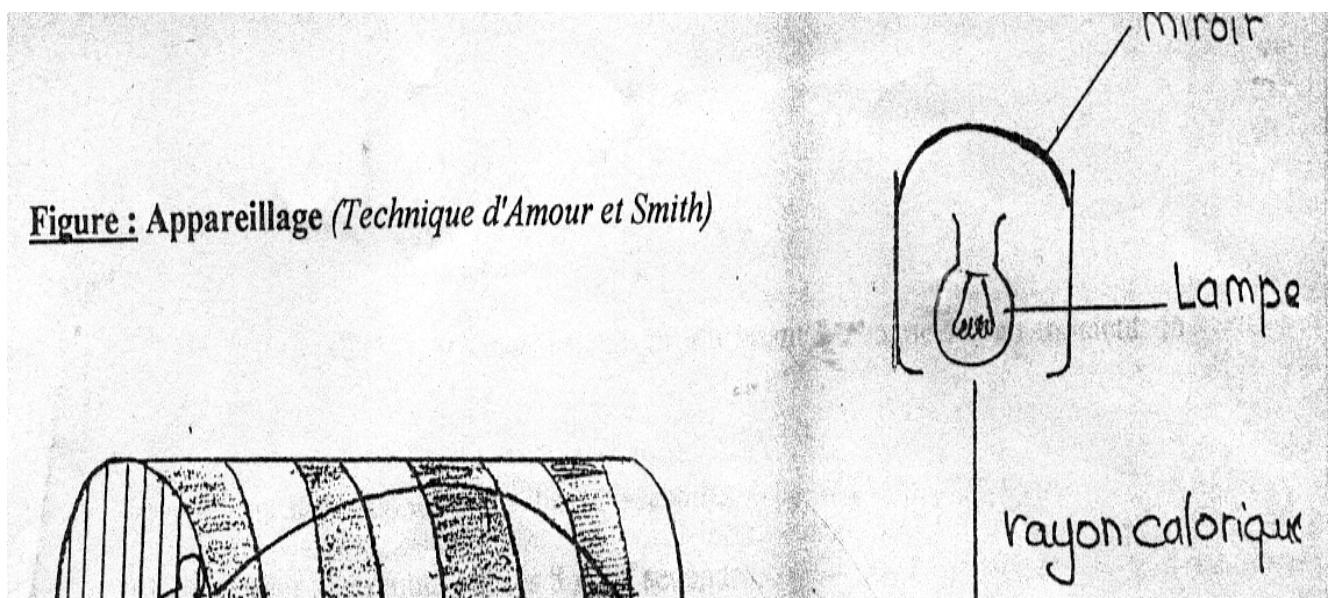


Figure : Appareillage (*Technique d'Amour et Smith*)

Figure 4 : Appareillage (Technique d'AMOUR et SMITH)

II.6. ETUDE DE LA TOXICITÉ

II.6.1. Toxicité aiguë

a) Principe

Il consiste à déterminer la dose毒ique qui tue 50% des souris soumises à l'action du produit étudié.

b) Etudes préliminaires

Elles consistent à déterminer les doses maximales qui entraînent 0% de morts et les doses minimales qui entraînent 100% de morts.

Ces essais préliminaires seront effectués par voie intra péritonéale sur des lots de 10 souris dont 5 mâles et 5 femelles. Un lot est traité à 0,25 g/kg, les trois autres lots sont traités à 0,5g/kg ; 1 g/kg et 1,5 g/kg par voie orale.

c) Méthodologie

Les souris sont mises à jeûn la veille avant gavage. Après administration, les animaux sont observés pour une période de 15 jours.

II.6.2. Toxicité sub-aiguë

a) Principe

Il consiste à définir la toxicité provoquée chez des rats des deux sexes par une exposition répétée au produit étudié pendant un mois.

b) Méthodologie

L'évaluation de la toxicité sub-aiguë est faite sur 30 rats « **WISTAR** » mâles et femelles, pesant en début d'expérimentation entre 140 et 150 g. Ils sont répartis en 6 lots de 5 animaux chacun :

Pour trois lots mâles, dont deux traités et un témoin, la même répartition est faite chez les femelles. Ils sont placés dans des cages en plastique étiquetées à raison d'un lot par cage. Au niveau de chaque lot, le marquage individuel permet leur suivi régulier pendant les trois semaines qu'a duré l'expérience.

Les rats traités à une dose faible reçoivent quotidiennement la dose de 0,4 g/kg de la préparation médicamenteuse de concentration de 5 mg/100 ml ; ceux traités à la dose forte reçoivent une dose journalière 1,5 g/kg. Les lots témoins reçoivent uniquement de l'eau distillée.

Avant le gavage et une fois par semaine au cours de l'expérimentation, les poids sont relevés.

Pour les urines, leur prélèvement est effectué au quotidien grâce aux cages à métabolisme où les animaux séjournent pendant une nuit. Dans ces urines recueillies

dans des pots en plastique, nous avons recherché l'albumine et le sucre grâce aux bandelettes réactives Kétodiatix* et Albustix*.

Après gavage, les animaux mis à jeûn. Le sang prélevé quotidiennement est recueilli dans des tubes secs et des tubes à EDTA. Les premiers sont destinés aux dosages biochimiques (créatininémie, glycémie et transaminases) et les seconds aux analyses hématologiques (numération sanguine).

A la fin de la troisième semaine, les animaux sont décapités puis les organes suivants ont été prélevés : foie, poumon, cœur, rein gauche, rein droite et rate. Ils sont pesés puis conservés dans du formol en vue d'un examen histologique ultérieur.

Tableau II : Résumé du Protocole d'intoxication sub-aiguë

Répartition des rats	Concentration de l'extrait	Doses étudiées	Durée de l'expérimentation	Fréquence des mesures prises		Organes prélevés	Analyse sanguine
				Poids	Urine et Sang		
Traités dose faible 5 M et 5 F	2,5 g/100ml	0,4 g/Kg	3 semaines	Semaine	Quotidiennement	Cœur, Poumon, Foie, Rate Rein gauche, Rein droite	Créatininémie, glycémie, transaminases et numération de la formule sanguine.
Traités doses fortes 5 M et 5 F		1,5 g/kg					
Témoins 5 M et 5 F		-					

5 M : correspond à 5 mâles ; **5 F** : correspond à 5 femelles.

II.6.2.2. Principe des déterminations hématologiques

Les paramètres hématologiques comme le nombre des globules rouges, le nombre de globules blancs, le taux d'hématocrite, le taux d'hémoglobine le nombre de plaquettes, le volume globulaire moyen, le volume plasmatique, sont donnés automatiquement par le coulter-counter.

II.6.2.3. Principe des dosages biochimiques

☞ **Créatininémie :** En milieu alcalin, la créatinine réagit avec l'acide picrique pour donner un complexe de couleur jaune. La rapidité de la

coloration, directement proportionnelle à la concentration, est mesurée par photométrie.

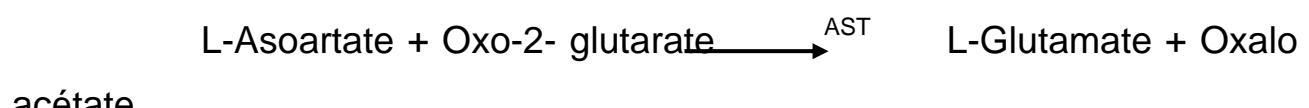
Le dosage par la méthode enzymatique du glucose sanguin est effectué selon la réaction suivante :



Le peroxyde d'hydrogène ainsi formé provoque en présence de peroxydase, le couplage oxydatif de l'acide hydroxybenzoïque et de l'amino-4-antipyrine. Il en résulte un dérivé quinone imine dont l'intensité de la coloration rouge, directement proportionnelle à la concentration du glucose, est mesurée par photométrie.

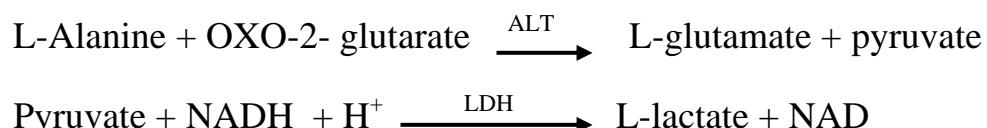
☞ Transaminases

- **ASAT** : la détermination cinétique de l'activité des ASAT est basée sur la réaction :



La vitesse d'oxydation de NADH, directement proportionnelle à l'activité des ASAT, est mesurée par photométrie.

- **ALAT** : le dosage cinétique de l'activité des ALAT est fait selon la réaction :



La vitesse d'oxydation de NADH, directement proportionnelle à l'activité des ALAT, est mesurée par photométrie

CHAPITRE II : RESULTATS

I - RESULTAT DE LA DETERMINATION DU PH ET DU CRIBLAGE CHIMIQUE

I.1. RESULTAT DE LA DETERMINATION DU PH

La coloration du papier pH après immersion indique que l'extrait étudié est de pH neutre (pH=7).

I.2. RESULTAT DU SCREENING CHIMIQUE

Les différents tests de caractérisations réalisés ont donné les résultats suivants :

I.2.1. Résultats des essais de caractérisation des hétérosides anthracéniques

I.2.1.1. Réaction à l'acétate de magnésium

La caractérisation des anthracénosides par la réaction à l'acétate de magnésium s'est révélée négative pour l'extrait étudié. En effet, on n'observe pas de coloration jaune virant au rouge après chauffage au bain-marie.

I.2.1.2. Identification par CCM

$$\boxed{\text{Rf} = \frac{\text{Distance parcourue par le spot}}{\text{Distance du front de solvant}}}$$

Les obtenus résultats sont inscrits dans ce tableau III.

Tableau III : Résultat du CCM des anthracènes

	Extrait	Aloe -Emodine	Chrysophanol	Rhéine
Rf des spots	0,22	0,66	0,94	0,74
Coloration des spots	jaune	rouge	rouge	rouge

L'absence de coloration rouge du spot de l'extrait par rapport à la coloration rouge des spots des témoins après révélation confirme l'absence d'anthracènes dans l'extrait étudié.

I.2.2. Résultats des essais de caractérisation des hétérosides flavonoïques

La caractérisation des hétérosides flavonoïques pour l'extrait étudié donne une coloration allant du jaune au brun en milieu alcalin, une coloration verdâtre avec le perchlorure de fer et une coloration rose puis rouge avec la réaction à la cyanidine. Donc l'extrait étudié renferme des hétérosides flavonoïques.

I.2.3. Résultats des essais de caractérisation des saponosides

Les essais de caractérisation des saponosides se sont révélés négatifs pour l'extrait étudié, car la hauteur de mousse est inférieure à 1 cm dans tous les tubes. L'indice est donc inférieur à 100.

I.2.4. Résultats des essais de caractérisation des tanins

La réaction de mise en évidence des tanins pour l'extrait étudié donne une coloration brun-vert avec le chlorure ferrique à 2% et une coloration bleue avec l'acide phosphotungstique.

Pour la différenciation des tanins la réaction de précipitation par le réactif de STIASNY est positive, car il y a apparition d'un précipité bleu-noir avec l'ajout de FeCl_3 à 2%. La réaction d'oxydation est également positive. Ceci montre que l'extrait étudié renferme des tanins galliques et condensés.

I.2.5. Résultats de caractérisation des hétérosides cardiotoniques

- L'action du réactif de BALJET sur l'extrait ne donne pas de coloration rouge-orangée stable.
- Celle du réactif de KEDDE s'est révélée négative ainsi que celle de RAYMOND MARTHOUD.

On peut conclure que l'extrait étudié ne renferme pas d'hétérosides cardiotoniques.

I.2.6. Résultats de caractérisation des alcaloïdes

L'action du réactif de BOUCHARDAT sur l'extrait en milieu aqueux acide donne un précipité brun. Le réactif de DRAGENDORFF donne un précipité orange à rouge vermillon. Avec le réactif de VALSER MAYER, on note l'apparition d'un précipité blanc-jaunâtre. On peut dire que l'extrait étudié renferme des alcaloïdes.

Les résultats du criblage chimique de l'extrait sont donnés par le tableau IV.

Tableau IV : Récapitulation des résultats du criblage chimique

Substances chimiques	Hétéroside anthracénique	Hétéroside flavonique	Saponoside	Alcaloïde	Tanins		Hétéroside cardiotonique
					Condensés	hydrolysables	
Résultats	-	+	-	+	+	+	-

+ : présence et - : absence.

I 3. RESULTATS DU DOSAGE DES TANINS

I.3.1. Courbe d'étalonnage

Le tableau IV a servi à tracer la courbe d'étalonnage (*figure 5*).

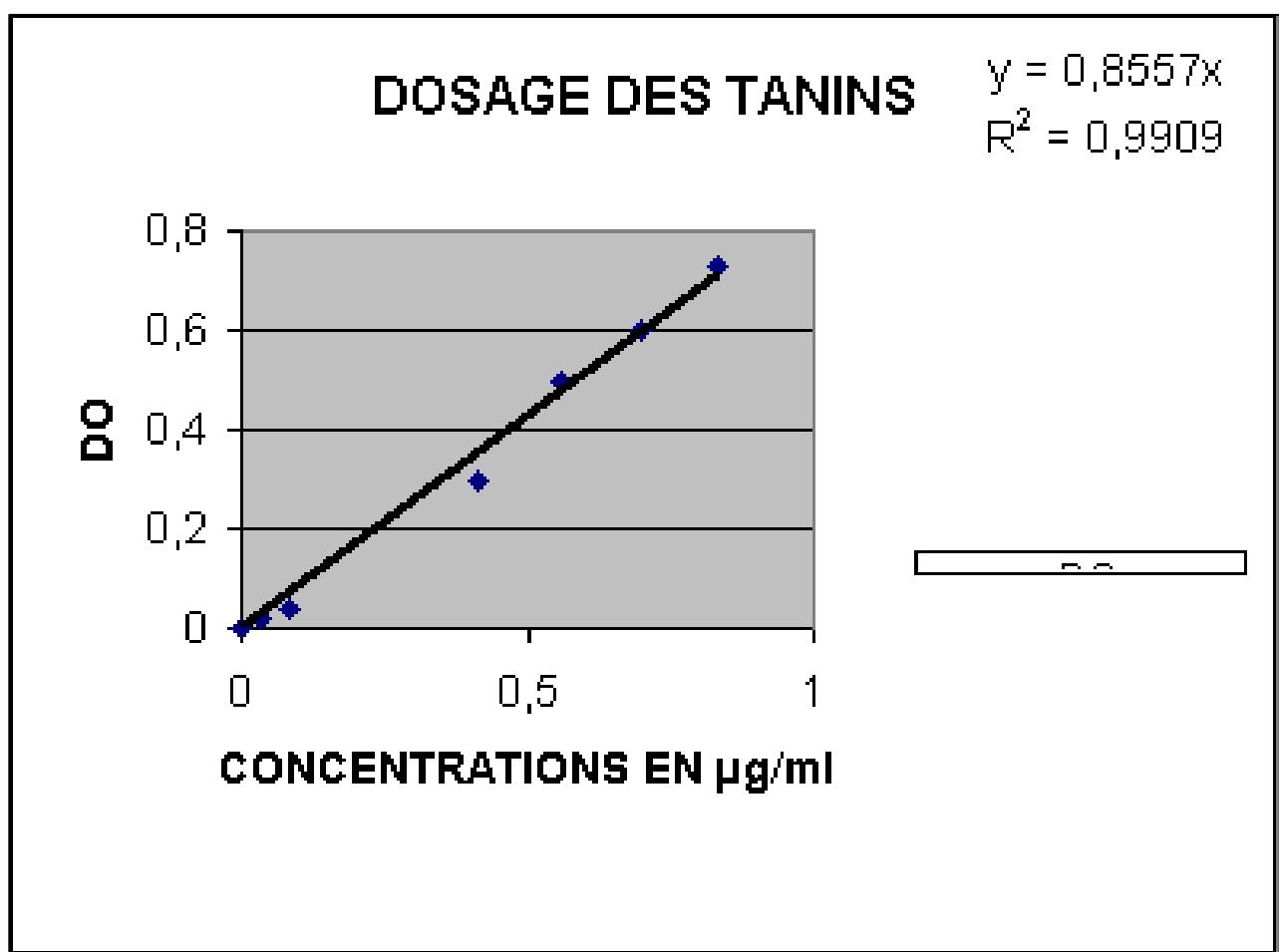


Figure 5 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des tanins

I.3.1.1. Dosage des phénols totaux

L'évaluation de la teneur en phénols totaux de l'extrait se fait à partir de la courbe d'étalonnage. Pour cela la concentration correspondante à l'absorbance enregistrée est calculée à partir de l'équation de la courbe :

$$Y = 0,8557 \times X$$

$$\mathbf{X} = \mathbf{Y}/0,8557$$

Or :

$\mathbf{Y} = 0,225$ après lecture au spectrophotomètre

$$\mathbf{X} = 0,263 \text{ } \mu\text{g/ml} = \mathbf{Ct}$$

\mathbf{Y} : correspond à l'absorbance ;

\mathbf{X} : correspond à la concentration en phénols totaux.

$$\mathbf{Pt} = \mathbf{Ct} \times \mathbf{Dt}$$

Les dilutions effectuées sont :

- dilution de l'extrait au 1/5000 ;
- puis dilution au 1/3.

\mathbf{Pt} = quantité en phénols totaux

\mathbf{Ct} = concentration en phénols totaux

\mathbf{Dt} = dilutions totales

Avec :

$$\mathbf{Ct} = 0,263 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\mathbf{Pt} = 0,263 \times 5000 \times 3$$

$$\mathbf{Pt} = 3945 \text{ } \mu\text{g} =$$

$$394,5 \text{ mg/100ml}$$

I.3.1.2. Dosage des phénols résiduels

La concentration correspondante à l'absorbance enregistrée est calculée à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage :

$$\mathbf{Y} = 0,8557 \mathbf{X}$$

$$\mathbf{X} = \mathbf{Y}/0,8557$$

Or :

$\mathbf{Y} = 0,173$ après lecture au spectrophotomètre

$$\mathbf{X} = 0,2021 \text{ } \mu\text{g/ml} = \mathbf{Cr}$$

Y : correspond à l'absorbance ;

X : correspond à la concentration en phénols résiduels.

$$\mathbf{Pr} = \mathbf{Cr} \times \mathbf{Dt}$$

Les dilutions effectuées sont :

- dilution de l'extrait au 1/10 ; ensuite au 6/25 puis au 1/3.

Pr = quantité en phénols résiduels.

Cr = concentration en phénols résiduels

Dt = dilutions totales

Avec :

$$\mathbf{Cr} = 0,2021 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\mathbf{Pr} = 0,2021 \times 10 \times 25/6 \times 3$$

$$\mathbf{Pr} = 2,806 \text{ } \mu\text{g}$$

I.3.2. La teneur en tanins

La quantité de tanins contenue dans l'extrait, est donnée par la différence entre la quantité de phénols totaux et celle obtenue après fixation des tanins sur la caséine.

$$\mathbf{M} = \mathbf{Pt} - \mathbf{Pr}$$

$$\mathbf{M} = 3945 - 2,806$$

$$\mathbf{M} = 3942,2 \text{ } \mu\text{g} =$$

$$394,22 \text{ mg/100ml}$$

I.4. RESULTATS DU DOSAGE DES SELS MINERAUX

Les résultats du dosage des ions Na^+ et K^+ sont donnés par le tableau V suivant :

Tableau V : Résultat du dosage des sels minéraux

TUBES	1	2	3	Moyenne
Na^+ en mEq/L	15	16	17	16
K^+ en mEq/L	8,5	8,7	8,8	8,7

- La concentration en Na^+ dans l'extrait est de 16 mEq/L ;
- La concentration en K^+ dans l'extrait est de 8,7 mEq/L.

II - RESULTATS DE L'ETUDE DE L'ACTIVITE ANALGESIQUE

Tableau VI : Résultats de la détermination de l'extrait sec

Tare en g	P en g	P' en g	P-P'/P en g	Moyenne
30,88	41,58	40,540	0,025	0,025
32,504	43,204	42,124	0,025	
29,34	40,04	39	0,025	
28,34	39,04	38	0,026	
33,98	44,58	43,54	0,025	

Avec :

- \mathbf{P} = poids extrait + capsule avant séchage
- \mathbf{P}' = poids extrait +capsule après séchage

La concentration en extrait sec est de :

25 mg/ml

II.2. RÉSULTATS DE L'ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANALGÉSIQUE

II.2.1. Résultat de l'étude de l'activité analgésique périphérique

II.2.1.1. Expressions des résultats

Pour chaque dose, nous avons déterminé le pourcentage d'inhibition qui se calcule à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ INH} = \frac{\text{Nb témoin} - \text{Nb traité}}{\text{Nb témoin}} \times 100$$

Nb : Nombre de contorsions.

II.2.1.2. Détermination du pourcentage d'inhibition

Tableau VII : Pourcentages d'inhibitions moyens et nombre de contorsions moyens des différents lots par le test à l'acide acétique

LOTS	Moyenne Nb et % INH	Nombre de contorsions moyen par lot	Pourcentages moyens d'inhibition
Lot témoin		213	
Lot traité par extrait à la dose de 0,5 g/kg		154	26,76%
Lot traité par l'extrait à la dose de 0,75 g/kg		98	53,99%
Lot traité par l'extrait à la dose de 1 g/kg		75	64,78%
Lot traité par l'acide acétylsalicylique à la dose de 0,3 g/kg		69	67,60%

Nb = Nombre de contorsions.

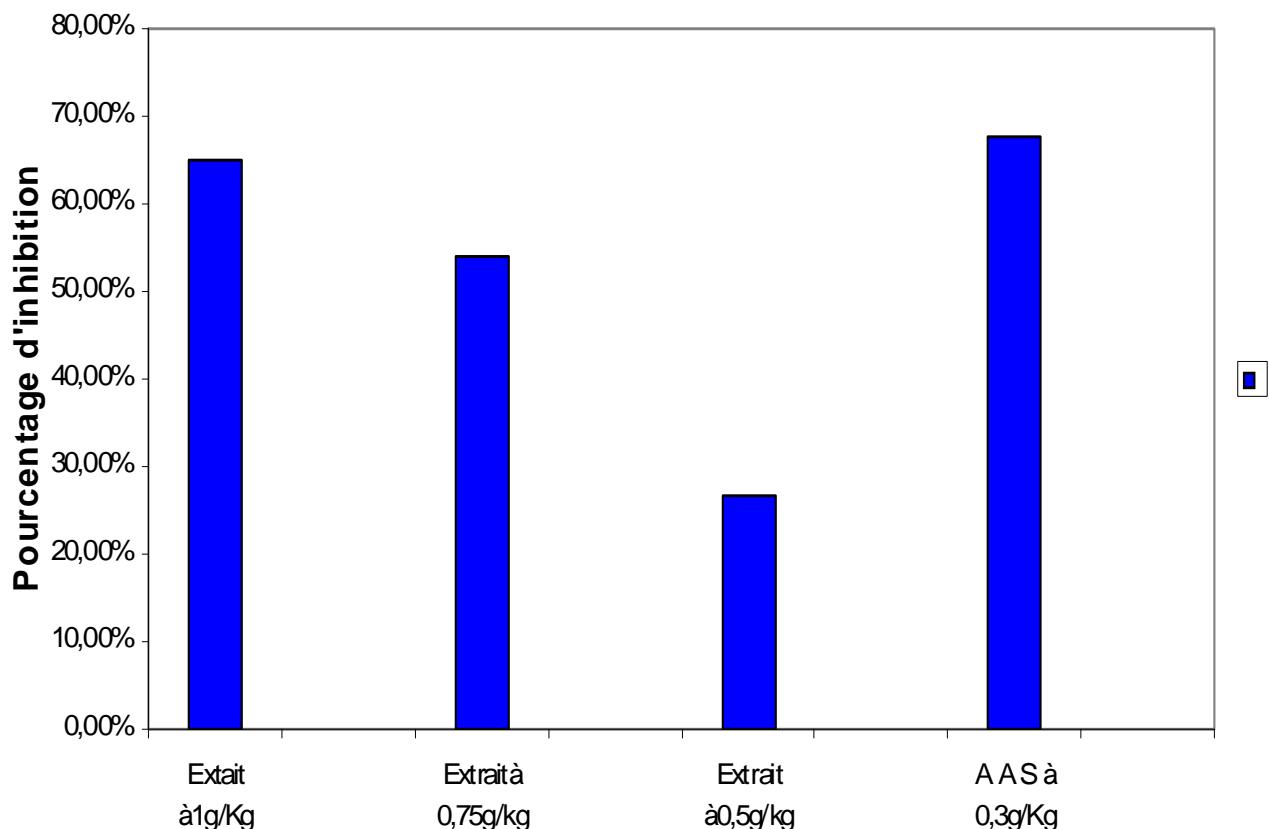


Figure 6 : Résultat du test de l'acide acétique

II.2.1.3. L'analyse statistique des résultats

Le test de « *Newman-Keuls* » nous permet de faire une comparaison entre les différents lots traités et le lot témoin.

Les valeurs brutes sont reportées aux *Annexes 1 à 5*.

**Tableau VIII : Etude de l'activité analgésique périphérique.
Comparaison du nombre de contorsions
entre lots traités et lot témoin**

LOTS	Lot témoin	Lot traité à 0,5g/kg	Lot traité à 0,75g/kg	Lot traité à 1g/kg	Lot traité à l'acide acétyl salicylique à 0,3g/kg
Moyenne	$21,30 \pm 10,10$	$15,60 \pm 10,80$	$9,80 \pm 8,039$	$8,333 \pm 2,291$	$6,400 \pm 1,955$
Variance	3,194	3,416	2,542	0,7638	0,6182
Valeur de P		$P > 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
Résultats		N.S	S	S	S

NS : Résultat non significatif

S : Résultat significatif

II.2.2. Résultats de l'activité analgésique centrale

Les résultats bruts sont reportés dans les *Annexes 6 à 9*.

Tableau IX : Moyenne des temps de retrait en secondes des différents lots traités durant le temps d'expérimentation (en mn)

Lots/ Temps en mn	T0	T30	T60	T90	T120
Extrait à 0,5 g/kg	5,66	5,74	6,56	6,88	6,24
Extrait à 1g/kg	5,12	4,98	5,42	7,1	5,38
Extrait à 1,5 g/kg	5,36	8,74	8,26	7,46	8,12
Acide acétyl salicylique à 0,5 g/kg	5,36	9,04	8,32	8,82	9,06

Nous avons comparé directement les moyennes des temps de retrait de la queue des rats traités aux différentes doses d'extrait ci-dessus, à celles des temps de retrait de la queue des rats

traités à l'acide acétylsalicylique à la dose de 0,3 g/kg. Cette comparaison est représentée à la *figure 7.*

**Tableau X : Etude statistique de l'Activité analgésique centrale
Comparaison des différents lots traités par rapport
au lot de référence**

LOTS	Lot traité à 0,5 g/kg	Lot traité à 1g/kg	Lot traité à 1,5g/kg	Lot traité à l'acide acétylsalicylique à 0,5g/kg
Moyenne	6,216 ± 0,52	5,6 ± 0,85	7,588 ± 1,32	8,12 ± 1,57
Valeur de P	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05
Résultats	N.S	N.S	N.S	N.S

NS : Non significatif par rapport à l'acide acétyl salicylique

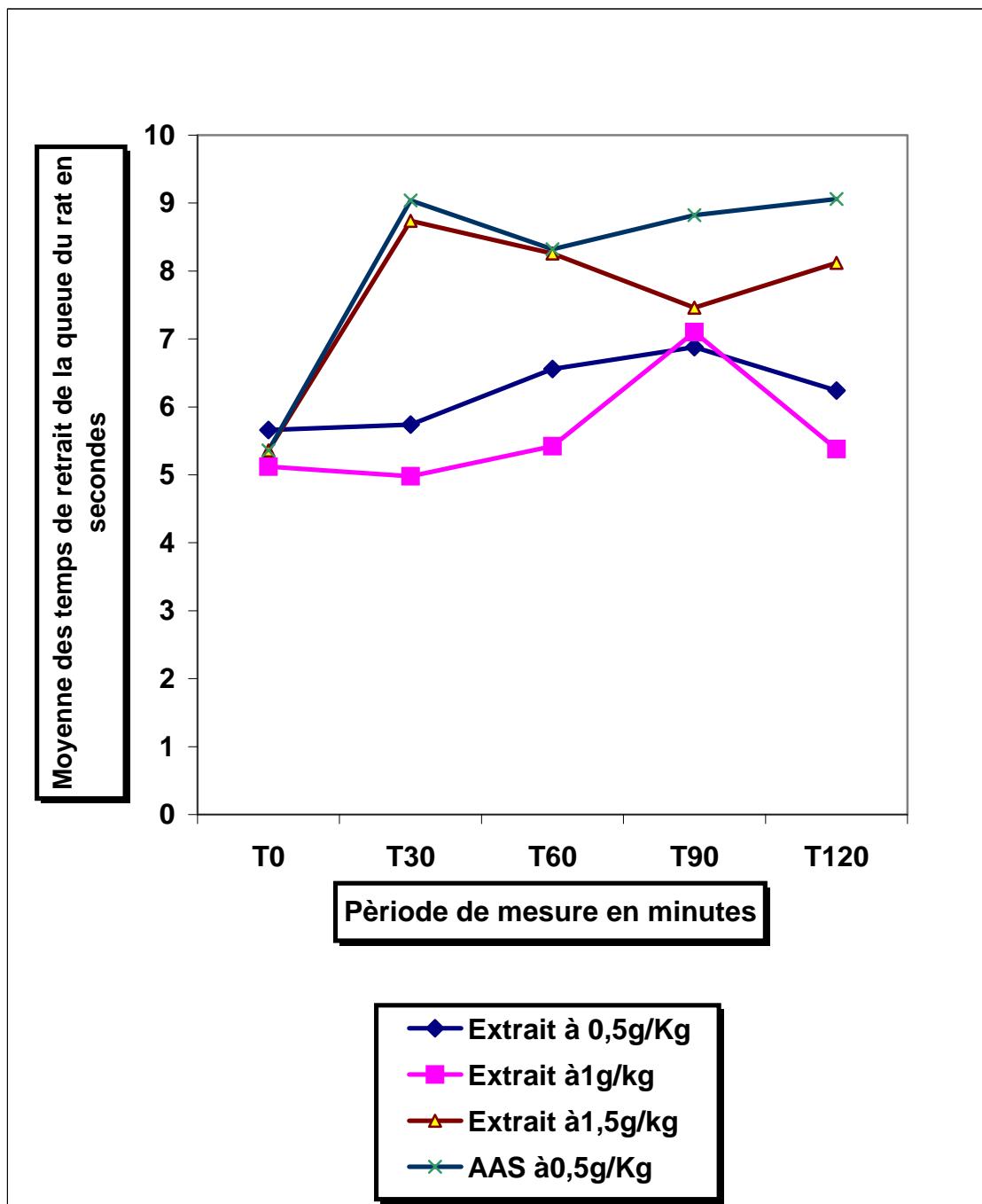


Figure 7 : Résultat de l'étude de l'activité analgésique centrale de l'extrait à différentes doses et de l'acide acétylsalicylique à la dose 0,5 g/kg

II.3. RESULTATS DE L'ETUDE DE LA TOXICITE

II.3.1. Toxicité aiguë

Durant les 15 jours d'observation, aucun mort n'a été décelé et les animaux continuent de mener une vie normale.

II.4.2. Toxicité sub-aiguë

L'étude statistique des résultats de l'analyse biochimique et hématologique a été faite à l'aide du test de STUDENT-FISCHER. La Comparaison intra-série, des différents lots traités et le lot témoin, est destinée à étudier l'influence de la dose. Les différences significatives sont signalées pour une valeur de t calculé $> t$ STUDENT qui est égal à 2,306 ($P \leq 0,05$). Les moyennes et les écarts-types des paramètres biochimiques et hématologiques durant les trois semaines d'étude et la comparaison intra-série des différents lots traités et le lot témoin sont inscrites dans les tableaux XI et XII.

Tableau XI : Moyennes, écart-types et comparaison intra-série des différents lots traités par rapport au lot témoin des paramètres biochimiques de la toxicité sub-aiguë

	Glycémie			ASAT ou (GOT)			ALAT ou (GPT)			Créatinémie												
	S E M A I N E S																					
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3										
LOT TEMOIN																						
M	0,652 ±0,22	0,5 ±0,22	0,648 ±0,1	97,7 ±24,35	96,72 ±22,95	91,96 ±27,65	67,78 ±9,58	70,7 ±17,15	62,9 ±17,62	7,6 ±0,63	7,13 ±0,97	7,13 ±0,97										
F	0,584 ±0,12	0,724 ±0,53	0,844 ±0,43	77,4 ±74,52	89,62 ±15,41	156,1 ±65,14	80,6 ±60,8	46,9 ±22,7	150,8 ±192,7	9,4 ±3,52	7,39 ±3,38	8,40 ±2,8										
LOT TRAITE PAR L'EXTRAIT A LA DOSE DE 0,4 g/kg																						
M	0,932 ±0,39	0,536 ±0,321	0,804 ±0,6	72,91 ±27,91	123,4 ±107,9	134,1 ±119,5	72,3 ±0,39	751,7 ±1484,4	99,72 ±58,73	7,7 ±0,4	12,76 ±18,9	3,27 ±2,6										
<i>t = 1,18</i>			<i>t = 0,88</i>			<i>t = 0,52</i>			<i>t = 0,91</i>													
NS																						
F	0,534 ±0,28	0,966 ±0,49	0,762 ±0,156	150,1 ±119,8	121,5 ±34,46	189,5 ±122,9	183,1 ±118,7	340,9 ±230,9	288,7 ±347,6	8,3 ±3,14	9,38 ±4,7	2,9 ±1,34										
<i>t = 1,60</i>			<i>t = 2,20</i>			<i>t = 1,15</i>			<i>t = 1,77</i>													
NS																						
LOT TRAITE PAR L'EXTRAIT A LA DOSE DE 1,5 g/kg																						
M	0,828 ±0,32	0,384 ±0,12	0,828 ±0,32	87,7 ±23,93	259,18 ±200,66	223,1 ±70,17	49,3 ±24,3	230,9 ±155,36	178,26 ±72,82	7,8 ±0,45	6,8 ±3,9	3,1 ±1,05										
<i>t = 0,56</i>			<i>t = 2,56</i>			<i>t = 0,46</i>			<i>t = 2,46</i>													
NS			S			NS			S													
F	1,154 ±0,42	0,36 ±0,16	1,14 ±0,42	80,9 ±29,98	195,1 ±96,44	455,8 ±405,6	100,4 ±62,2	233,8 ±183,9	191,2 ±91,46	7,3 ±0,86	7,6 ±3,63	3,2 ±2,14										
<i>t = 1,63</i>			<i>t = 1,95</i>			<i>t = 1,22</i>			<i>t = 1,66</i>													

NS

M = male

F = femelle

NS = non-significatif

S = significatif

Tableau XII : Moyennes, écart-types et comparaison intra-série des différents lots traités par rapport au lot témoin des paramètres hématologiques de la toxicité sub-aiguë

	7,92 ±0,65	6,9 ±4,22	14,48 ±23,06	7,48 ±0,82	5,41 ±1,37	5,52 ±1,9	16,44 ±1,39	12,2 ±4,54	35,28 ±47,16	598,2 ±174,2	353,6 ±342,5	706,4 ±171,8									
F	<i>t = 1,35</i>			<i>t = 1,90</i>			<i>t = 1,17</i>			<i>t = 0,98</i>											
	NS																				

M = mâle

F = femelle

NS = non-significatif

Tableau XII (Suite 1) : Moyennes, écarts-types et comparaison intra-série des différents lots traités par rapport au lot témoin des paramètres hématologiques de la toxicité sub-aiguë.

	HT %			VGM en μ^3			TGMH en pg			CGMH en g/dl			
	S E M A I N E S												
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
LOT TÉMOIN													
M	39,76 ±6,8	38,84 ±3,13	37,58 ±16,7	56,4 ±3,77	50 ±2,23	55,2 ±10,03	18,92 ±1,08	19,04 ±1,53	31,34 ±20,92	35,1 ±1,67	37,48 ±1,3	42,4 ±8,9	
F	36,1 ±12,9	41,94 ±2,87	36,1 ±12,9	54,8 ±2,16	48,2 ±5,41	49,4 ±28,04	22,52 ±4,73	23,3 ±0,84	20,92 ±12	38,78 ±9,97	35,64 ±3,3	8,4	
LOT TRAITE PAR L'EXTRAIT A LA DOSE DE 0,4 mg/kg													
M	41,48 ±3,6	33,94 ±13,6	18,04 ±21,59	49,13 ±2,21	56,4 ±3,77	43,8 ±26,7	28,05 ±18,2	18,92 ±1,1	23,52 ±20,07	36,70 ±4,97	35,1 ±1,67	42,94 ±32,63	
	<i>t = 0,96</i>			<i>t = 2,48</i>			<i>t = 0,64</i>			<i>t = 0,13</i>			
	NS			S			NS			NS			
F	39,24 ±2,8	36,1 ±12,96	38,02 ±10,03	51,1 ±6,85	54,8 ±2,16	64,8 ±5,63	20,7 ±1,31	22,52 ±4,73	23,2 ±2,61	36,28 ±1,04	38,78 ±9,9	35,82 ±2,57	
	<i>t = 0,76</i>			<i>t = 1,93</i>			<i>t = 0,5</i>			<i>t = 0,48</i>			
	NS			NS			NS			NS			
LOT TRAITE PAR L'EXTRAIT A LA DOSE 1,5 g/kg													
M	39,62 ±2,08	31,4 ±14,75	27,72 ±20,72	54,2 ±2,5	56,4 ±6,65	61 ±2,82	22,1 ±3,78	24,02 ±6,63	22,8 ±5,2	36,42 ±2,78	42,2 ±7,84	37,76 ±10,3	
	<i>t = 0,64</i>			<i>t = 1,35</i>			<i>t = 0,16</i>			<i>t = 0,51</i>			
	NS			NS			NS			NS			

	40,8 ±3,3	39,52 ±7,54	41,58 ±15,9	56,8 ±1,3	60,6 ±7,5	60,6 ±4,2	23,04 ±4,15	26,62 ±13	22,52 ±3,24	35,96 ±0,8	43,34 ±17	37,28 ±5,1
F	$t = 0,64$		$t = 2,64$		$t = 0,34$			$t = 0,65$				
	NS		S		NS			NS				

M = mâle**F** = femelle

NS = non-significatif

S = significatif

Tableau XII (Suite et Fin) : Suite Moyennes, écarts-types et comparaison intra-série des différents lots traités par rapport lot témoin des paramètres hématologiques de la toxicité sub-aiguë

VMP en μ^3				
SEMAINES				
		1 ^{ère}	2 ^{ème}	3 ^{ème}
Lot témoin	M	8,96 ±0,88	12,44 ±1,77	8,76 ±0,87
	F	8 ±1,03	8,12 ±1,31	7,14 ±4,18
Lot traité par l'extrait à la dose de 400 mg/kg	M	7,44 ±0,54	8,96 ±0,9	7,54 ±5,81
		$t = 2,53$		
	F	S		
		8,88 ±4,23	8 ±1,04	8,6 ±1,08
		$t = 0,45$		
		NS		
Lot traité par l'extrait à la dose 1,5 g/kg	M	7,6 ±1,37	7,88 ±2,21	7,66 ±1,1
		$t = 2,39$		
		S		
	F	7,06 ±0,35	8,38 ±1,33	8,02 ±1,46
		$t = 0,44$		
		S		

M = mâle**F** = femelle**NS** = non-significatif**S** = significatif

II.3.2.1. Poids corporel

Ce sont les moyennes de poids corporel (**tableau XIII**) des rats qui nous ont permis de tracer les courbes de croissance des différents lots.

Tableau XIII : Moyennes des poids corporels

		P O I D S		
		S E M A I N E S		
		1	2	3
Lot témoin	M	140	154	150
	F	144	154	160
Lot traité par l'extrait à la dose de 0,4 g/kg	M	150	164	192,5
	$t = 3,32$			
	S			
	F	150	164	168
Lot traité par l'extrait à la dose 1,5 g/kg	$t = 2,49$			
	S			
	M	152	163,8	182
	$t = 2,64$			
S				

	F	152	158	182
$t = 2,53$				
S				

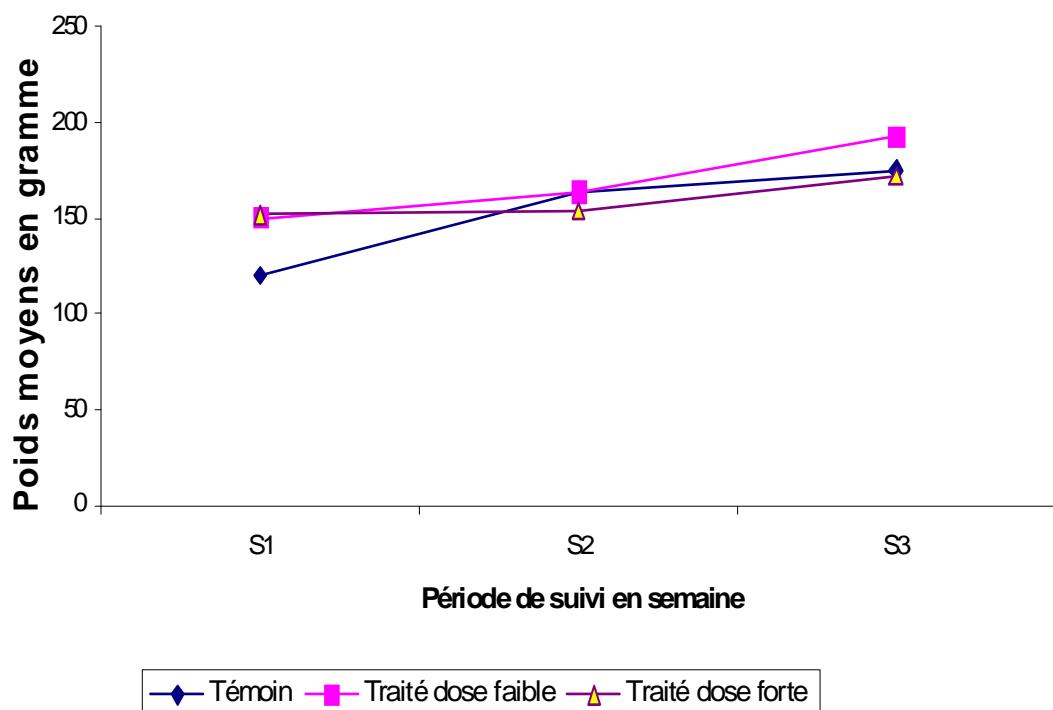
M = mâle**F** = femelle**NS** = non-significatif**S** = significatif

Figure 8 : Evolution de la courbe pondérale des rats mâles traités

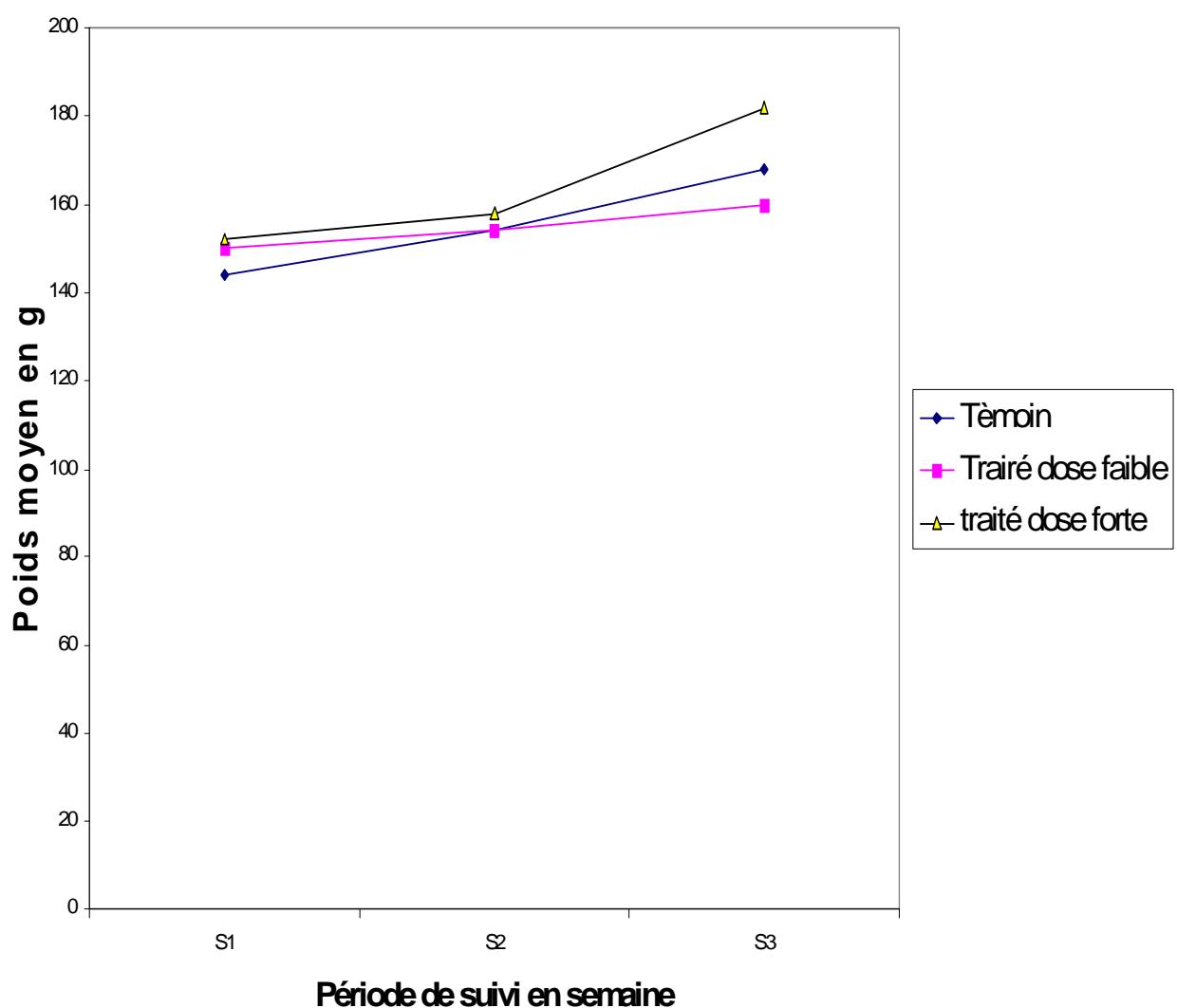


Figure 9 : Evolution de la courbe pondérale des rats femelles traitées

II.3.2.2. Analyses anatomo-pathologiques

Les différences significatives sont signalées pour une valeur de t calculé > t STUDENT qui est égal à 2,306 ($P \leq 0,05$).

Tableau XIV : Moyenne des poids relatifs des organes et comparaison intra-série des différents lots traités par rapport au lot témoin

		Cœur	Poumons	Foie	Rate	Rein gauche	Rein droit
Lot témoin	M	0,434	1,06	3,878	0,358	0,4	0,406
	F	0,505	1,045	4,105	0,395	0,515	0,425
Lot traité par l'extrait à la dose de 400 mg/kg	M	0,565	1,43	5,235	0,358	0,485	0,5
		<i>t = 0,59</i>	<i>t = 0,6</i>	<i>t = 0,65</i>	<i>t = 0,59</i>	<i>t = 0,51</i>	<i>t = 0,47</i>
		NS	NS	NS	NS	NS	NS
	F	0,45	1,435	4,91	0,305	0,45	0,41
		<i>t = 0,20</i>	<i>t = 0,55</i>	<i>t = 0,32</i>	<i>t = 0,45</i>	<i>t = 0,24</i>	<i>t = 0,065</i>
		NS	NS	NS	NS	NS	NS
Lot traité par l'extrait à la dose 1,5 g/kg	M	0,408	0,987	3,46	0,254	0,356	0,366
		<i>t = 0,27</i>	<i>t = 0,38</i>	<i>t = 0,88</i>	<i>t = 1,23</i>	<i>t = 1,29</i>	<i>t = 0,68</i>
		NS	NS	NS	NS	NS	NS
	F	0,427	1,12	4,46	0,317	0,38	0,39

		<i>t = 0,41</i>	<i>t = 0,134</i>	<i>t = 0,16</i>	<i>t = 0,426</i>	<i>t = 0,54</i>	<i>t = 1,69</i>
		NS	NS	NS	NS	NS	NS

M = mâle**F** = femelle**NS** = non-significatif

Tableau XV : Moyennes, écart-types et comparaison entre population de rats témoin et la population de rats traités pour les paramètres biochimiques testés durant l'étude de la toxicité sub-aiguë

GLYCEMIE			ASAT ou (GOT)			ALAT ou (GPT)			CRÉATINÉMIE		
S E M A I N E S											
1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
LOT TEMOIN											
0,618 ±0,2	0,612 ±0,4	0,746 ±0,311	87,55 ±53,534	93,17 ±18,80	98 ±66,04	74,16 ±41,62	58,91 ±22,78	54,72 ±21,02	8,51 ±2,57	7,56 ±1,86	7,76 ±2,08
LOT TRAITE A 0,4 MG/KG											
0,733 ±0,321	0,751 ±0,45	0,783 ±0,41	111,485 ±91,56	122,45 ±75,55	161,8 ±117,98	127,7 ±98,54	546,3 ±10,23	194,25 ±255,26	8 ±2,12	7,07 ±3,99	3,112 ±1,96
t = 1,82			t = 1,44			t = 1,75			t = 0,68		
NS			NS			NS			NS		
LOT TRAITE A 1,5 G/KG											
0,7 ±0,32	0,46 ±0,24	0,594 ±0,346	81,32 ±27,34	227,116 ±152,22	339,77 ±301,07	84,27 ±25,81	232,39 ±160,51	339,46 ±300	8,2 ±1,07	7,562 ±0,7	3,112 ±1,96
t = 1,948			t = 1,61			t = 2,04			t = 0,355		

NS	NS	NS	NS
----	----	----	----

Tableau XVI : Moyennes, écart-types et comparaison entre population de rats témoin et la population de rats traités de quelques paramètres hématologiques pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

7,51 ±0,65	9,45 ±7,53	9,75±1 6,35	7,39 ±0,69	5,56 ±2,15	5,26 ±2,15	40,21 ±2,96	40,22 ±2,68	18,92 ±34,57	15,02 ±0,8	12,28± 3,44	22,39 ±3,42	55,4 ±2,32	54 ±7,26	54,3 ±3,26
t = 1,08			t = 1,43			t = 1,65			t = 1,66			1,06		
NS			NS			NS			NS					

CHAPITRE III : DISCUSSION

Au cours de notre étude bibliographique, un accent a été mis sur la méthode d'explorations de l'activité analgésique. Ce qui a permis le choix du lot à l'aseptique et du test de D'Amour et Smith au cours de notre étude. Ces tests ont été les plus utilisés pour l'étude de l'analgésie.

L'étude chimique a permis de déceler la présence de certaines substances phytochimiques comme les alcaloïdes, les tanins et les flavonoïdes. Les résultats obtenus lors des tests analgésiques ont montré la présence d'un effet analgésiant.

Avec la technique à l'acide acétique nous avons noté des pourcentages d'inhibition qui dépassent les 50% à partir de la dose de 0,75g/kg ; le pourcentage augmente quant la dose augmente.

Cependant, le test de D'Amour et Smith n'a pas révélé d'effet analgésique central pour cette recette. La comparaison des résultats obtenus par ces deux techniques, nous permet de dire que la recette possède une activité analgésique à des doses supérieures ou égales à 0,75g/kg. Cette activité se manifeste essentiellement au niveau périphérique.

III.1. - L'ETUDE TOXICOLOGIQUE

III.1.1. - Etude de la toxicité aiguë

Elle a été faite sur quatre lots de dix souris auxquelles nous avons administré les doses suivantes : 0,25 g/kg, 0,5 g/kg, 1 g/kg et 1,5 g/kg pendant 15 jours. Aucun cas de décès n'a été enregistré durant cette période, ce qui n'a pas permis la détermination de la DL50 par voie orale.

En effet, par rapport aux doses analgésiques observées, la recette ne présente pas de toxicité aiguë.

III.1.2. Etude de la toxicité subaiguë

A ces rats, nous avons administré les doses de 0,4 g/kg et 1,5 g/kg de la recette concentrée à 25 mg/ml pendant trois semaines. L'analyse statistique de l'évolution du poids des rats durant l'expérience montre un gain de poids pour tous les lots quel que soit le sexe.

La recherche de sucre et d'albumine durant les trois semaines s'est révélée négative aussi bien pour les animaux traités que pour le lot témoin.

III.1.3. - Paramètres biochimiques

III.1.3.1. Créatininémie

L'analyse statistique des lots traités à dose faible (0,4g/kg) n'a pas montré de perturbation qui pourrait se traduire négativement pour la fonction excrétrice du rein. Cependant, à dose forte, chez les rats mâles, on note une perturbation de la fonction rénale.

III.1.3.2. Transaminases

D'une manière générale, l'exploration de constantes ALAT et ASAT n'entraîne pas de modification de la fonction hépatique. Cependant, une perturbation est notée chez des rats mâles, traités à la dose forte pour la constante ALAT.

Cette discordance notée sur les résultats rend difficile leur interprétation. En effet il semble que seule l'augmentation simultanée des constantes ALAT et ASAT, traduit le phénomène de cytolysé hépatique.

Globalement, l'étude statistique des constantes hématologiques, n'indique pas une différence significative entre les lots traités et les lots

témoins. Cependant, une différence significative apparaît avec les constantes ci-après :

- VGM du lot mâle faible traité avec la faible dose et du lot femelle traité à forte dose ;
- VMP du lot mâle traité à dose faible et du lot mâle et femelle traité à dose forte.

Il ressort de l'étude comparative entre la population témoin et celle traitée, qu'aucune différence significative n'est enregistrée pour les paramètres biochimiques et hématologiques. Les quelques perturbations notées au niveau des deux sexes sont dues au fait que le nombre d'animaux utilisés est faible.

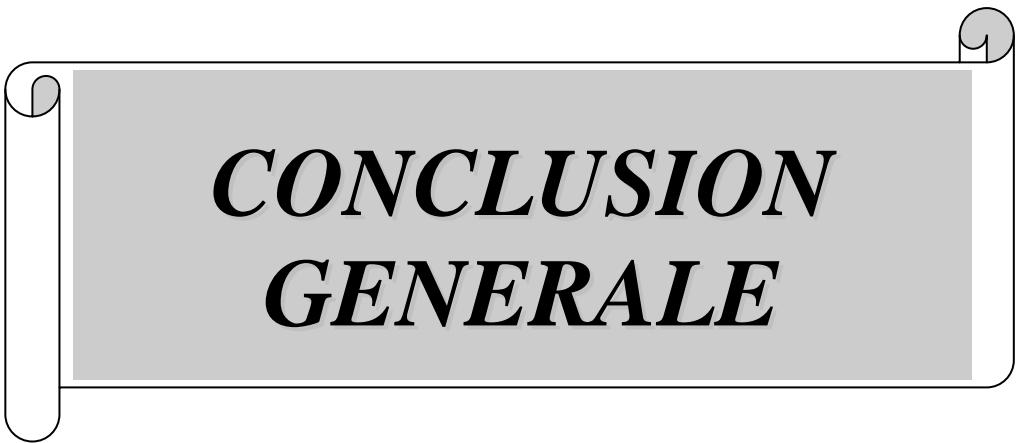
Ainsi, il n'y a eu ni anémie, ni leucopénie, ni hémolyse des cellules sanguines.

III.2. - ETUDE ANATOMO-PATHOLOGIQUE DES ORGANES

Le poids relatif de chaque organe est obtenu en divisant le poids de cet organe par le poids de l'individu. L'expression est faite en pourcentage en multipliant le résultat par 100. le poids relatif permet une meilleure comparaison entre deux organes de deux individus différents.

Ainsi au niveau de chaque lot, nous avons déterminé le poids relatif moyen de six organes suivants : cœur, poumons, foie, rate, rein gauche et rein droit.

L'analyse statistique faite avec le test de STUDENT FISHER pour une marge d'erreur de $P \leq 0,05$, n'a pas révélé une différence significative pour les différents lots traités comparés au témoin.



***CONCLUSION
GÉNÉRALE***

Devant le renchérissement du coût des soins et des médicaments, la privatisation des structures hospitalières, les rendant de plus en plus inaccessible aux couches les plus démunies de la population, la valorisation de notre médecine traditionnelle devient une donnée incontournable si nous voulons atteindre l'objectif « **la Santé pour Tous** », durant ce troisième millénaire.

D'ailleurs, après la déclaration finale de Alma-Ata qui propose la prise en compte des remèdes traditionnels dont l'efficacité est établie, dans les politiques pharmaceutiques nationales, on note une intégration de plus en plus importante de la médecine traditionnelle dans les politiques de santé des pays du tiers monde.

C'est dans cette perspective que nous avons voulu aborder l'étude des propriétés pharmacologiques de la recette traditionnelle dénommée « *DIABY 250302* » utilisée par un tradipraticien M.L. DIABY qui lui prête des propriétés contre le syndrome VIH/SIDA. Elle est censée améliorer le confort et l'appétit chez les patients porteurs du virus.

Après quelques rappels sur la physiopathologie de la douleur et son traitement, nous avons abordé les principales techniques utilisées pour l'exploration de l'activité analgésique, qui nous ont permis de nous orienter vers les méthodes à utiliser pour l'étude expérimentale.

Notre travail s'est porté sur trois volets : un volet chimique, un volet pharmacologique et un volet toxicologique. Ceci dans le but de dresser une fiche technique de la recette.

Au cours du criblage chimique nous avons procédé à la recherche des substances pharmacologiquement actives à savoir les alcaloïdes, les anthracénosides, les saponosides, les flavonoïdes, les cardiotoniques et les tanins. Nous avons ensuite procédé à une étude quantitative notamment le dosage des tanins, le dosage des sels minéraux et la détermination de l'extrait sec.

Nous n'avons retrouvé dans la recette ni de saponosides, ni d'hétérosides anthracéniques, ni d'hétérosides cardiotoniques. Par contre, nous avons mis en évidence des alcaloïdes, des tanins hydrolysables, des tanins condensés et des hétérosides flavonoïques.

La recette renferme 394,2 mg de tanins pour 100 ml de solution. Le dosage des sels minéraux montre que la recette renferme 16 mEq/L d'ions sodium et 8,7 mEq/L d'ions potassium.

L'expertise pharmacologique a utilisé deux types de tests :

- *la technique d'AMOUR et SMITH* : il s'agit d'une méthode de mesure de l'effet analgésique centrale d'une substance et qui utilise un stimulus thermique : l'irradiation de la queue du rat. Nous avons comparé l'activité de la recette à celle d'un analgésique de référence en l'occurrence l'aspirine à la dose de 0,5 g/kg. Les doses de la recette utilisées sont 0,5 g/kg, 1 g/kg et 1,5 g/kg.

- *le test à l'acide acétique* : il explore l'activité analgésique périphérique. L'injection intra-péritonéale d'acide acétique dilué à 3% chez les souris, entraîne des contorsions caractéristiques. Les substances analgésiques provoquent une diminution significative du nombre de contorsions. Nous avons utilisé 5 lots de 10 souris dont un lot témoin traité à l'eau distillée et un lot traité à l'acide acétyl salicylique utilisé comme lot de référence à la dose de 0,3 g/kg. Parallèlement, les trois lots ont été traités à la recette aux doses de 0,5 g/kg, 0,75 g/kg et 1 g/kg.

Les résultats obtenus par cette technique ont fait l'objet d'une analyse statistique à partir du test de *NEWMAN KEULS*. Ici, nous avons effectué une comparaison entre les lots traités à la recette et le lot témoin, les résultats obtenus sont hautement significatifs avec un pourcentage d'inhibition de 53,99% à la dose de 0,75 g/kg et

64,78% à la dose de 1 g/kg. Pour l'activité analgésique centrale, les différences ne sont pas significatives.

L'analyse des résultats obtenus par ces deux tests permet d'affirmer que la recette possède une activité analgésique à des doses supérieures ou égales à 0,75 g/kg. Cette activité se manifeste essentiellement au niveau périphérique.

Le volet toxicologique s'est porté sur l'étude de la toxicité aiguë et subaiguë.

- **En ce qui concerne la toxicité aiguë**, l'étude a été faite sur des souris de souches Swiss, mâles et femelles pesant entre 18 et 20 grammes. Ainsi pour toutes les doses testées par voie orale, à savoir 0,25 g/kg, 0,5 g/kg, 1 g/kg et 1,5 g/kg, il n'y a eu aucun mort. Ce qui nous a permis de dire qu'aux doses analgésiques testées (0,75g/kg et 1 g/kg), le produit n'est pas toxique. En essayant de faire une extrapolation à l'homme de 70 kg, il faudra pour la dose de 1,5 g/kg des quantités supérieures à 105g d'extrait pour qu'une éventuelle intoxication puisse s'observer. Ceci nous permet de confirmer que la dose quotidienne préconisée par le tradipraticien aux patients, qui est de 600 ml, répartie en deux prises de 300 ml soit 0,214 g/kg/j n'est pas toxique

- *Pour la toxicité subaiguë, nous avons administré à des rats WISTAR mâles et femelles, la recette de plante à raison de 400 mg/kg pour la dose faible et 1,5 g/kg pour la dose forte pendant trois semaines. Au terme de la période de gavage, les rats sont pesés puis sacrifiés, le sang ainsi que certains organes comme le cœur, le foie, le poumon, la rate, les deux reins sont prélevés pour rechercher des manifestations toxiques primaires. La prise de poids hebdomadaire montre un gain de poids pour les animaux traités par rapport au lot témoin, quel que soit le sexe.*

La recherche du sucre et de l'albumine dans les urines s'est révélée négative et le dosage de créatine fait apparaître que le fonctionnement du rein n'est pas perturbé de manière générale, malgré quelques variations notées chez les mâles à dose faible (0,4 g/kg).

Pour la glycémie, nous n'avons noté aucune perturbation. L'évolution de l'activité des transaminases ALAT (GPT) et celle des ASAT (GOT) ne nous permet pas de conclure dans le sens d'une modification de la fonction hépatique.

L'examen hématologique ne montre pas de variations physiologiques significatives. Nous n'avons noté ni anémie, ni leucopénie, ni hémolyse.

Enfin, l'analyse anatomo-pathologique ne montre pas de variation du poids relatif, ni aucune manifestation toxique sur les organes prélevés.

En conclusion, la recette « **DIABY 250302** » caractérisée sur le plan physico-chimique, possède une activité analgésique périphérique intéressante et semble être non toxique aux doses préconisées par le tradipraticien (0,214g/kg/jour).

Il serait nécessaire d'envisager l'étude d'autres activités pour cerner davantage les propriétés de cette recette afin de permettre sa mise à la disposition du grand public.



BIBLIOGRAPHIE

1) BOSS. J

Anatomie du système nerveux et du système nerveux central
Vigot, Paris, 1970, 2^{ème} édition : 132.

2) BOUREAU (F.), KOSKAS-SERGNT (AS)

Evaluation de sévérité d'une douleur
In : pratique du traitement de la douleur.
Doin éditeur, Paris, 1988, Chap. VII : 97-105.

3) COLOT .M

Notions techniques de pharmacologie générale
Edition Masson et Cie, Paris, France, 1976 : 137.

4) COYEN.Y

Abrégés de pharmacologie
Masson, Paris, 3^{ème} édition : 131-162.

5) D'AMOUR & SMITH D.L

A method for determining loss of pain sensation
J. Pharmacol. Exper-Therap, 1941 : 72-74-79.

6) FONDRAZ (JC).

Aspects cliniques de la prise en charge des douleurs cancéreuses terminales rebelles.

In : 8^{ème} *Congrès de la SOFRED*, Paris, 1998 : 227-233

7) GAYE DAVID

Contributions à l'étude de quelques plantes analgésiques de la flore

sénégalaise : travaux sur la *Salix subserrata* Wild (salicacées)
Thèse Pharm., Dakar, 1993, n°88.

8) GOUJET M.A, SIMON P.

Antalgiques centraux.

Revue Pratique, 1976, **19** : 1559-1571.

9) HAMON. M, PELLERIN. F, GUERNET. M, MAHUZIER. G

Les méthodes spectrales et analyses organiques.

Masson, Paris, 1990, Tome 3, 2^{ème} Edition : 40-42

10) MAMA.S

La santé par les plantes, une médecine à la portée de tous : Famille et développement.

Thèse Pharmacie, Dakar, 1991, n°58.

11) MONTASTRUC J.L

Les antimorphiniques

Rev. Prat., 1983, 33, 7 : 307- 0316.

12) MICHEL BOURIN, MICHEL LIEVRE, HERVE ALLAIN

Cours de pharmacologie.

Association française des enseignants de pharmacologie des facultés de médecine.

Edition Ellipses, 1993 : 50-54.

13) MOUGNOL

Analgésiques, transmission de la douleur et mécanisme d'action des analgésiques.

Thèse Pharm., Dakar, 1992, n°20.

14) TANDON. S. K, CHANDRA. S, CUPTAS. LAL J.

Fitoterapia, 1990 ; **61** : 75 p.

15) VOURCH.J, CASTRO. J, GAUTIER, LAFAYE. P GUIDICELLI .J.I

Les analgésiques et la douleur. Ed Masson, 1986, **145** : 210-483.

16) YOUNOS, ROLLAND. A, FEURENTIN J., LANHERS. MC,

MISSLIN R. MORTIER. F

Planta Medica, 1990, **56** : 46-30.



ANNEXES

ANNEXE 1

Etude de l'activité analgésique périphérique : lot de référence acide acétylsalicylique à 0,3 g/Kg

Nombre de contorsion	Numéro des souris
11	1
5	2
6	3
7	4
7	5
6	6
5	7
7	8
8	9
7	10

N C = 69	
----------	--

ANNEXE 2

Etude de l'activité analgésique périphérique : lot traité à la dose de 1 g/Kg

Nombre de contorsion	Numéro des souris
8	1
10	2
7	3
9	4
7	5
6	6
8	7
4	8

7	9
10	10
N C = 75	

ANNEXE 3

Etude de l'activité analgésique périphérique : lot traité à la dose de 0,75 g/Kg

Numéro des souris	Nombre de contorsion
1	6
2	25
3	6
4	31
5	7
6	9
7	4
8	6
9	8

10	5
	N C = 98

ANNEXE 4

Etude de l'activité analgésique périphérique : lot traité à la dose de 0,5 g/Kg

Nombre de contorsion	Numéro des souris
6	1
25	2
18	3
38	4
15	5
6	6
14	7

22	8
5	9
5	10
N C = 154	

ANNEXE 5

Etude de l'activité analgésique périphérique : lot témoin

Nombre de contorsion	Poids des souris
13	20
36	21
13	18
27	20
41	20
16	24

21	18
13	20
17	23
16	25
N C=213	

ANNEXE 6

*Etude de l'activité analgésique centrale : lot traité à
la dose de 0,5 g/Kg*

Temps d'expérimentation en minutes	TO	T30	T60	T90	T120
Temps de retrait de la queue du rat en secondes	4,9	5	7,2	9	4,8
	5,5	5,7	7,6	6	5,7

	6	5	5,3	6,8	6,6
	5,6	5	7	5,6	7,8
	6,3	8	5,7	7	6,3
Moyenne	5,66	5,74	6,56	6,88	6,24

ANNEXE 7

*Etude de l'activité analgésique centrale : lot traité à
la dose de 1 g/Kg*

Temps d'expérimentation en minutes	TO	T30	T60	T90	T120
Temps de retrait de la queue du rat en secondes	5,7	5	7,2	9	4,8

	5,5	5,7	7,6	6	5,7
	4,6	5	5,3	6,8	6,6
	4,2	5	7	5,6	7,8
	5,6	8	5,7	7	6,3
Moyenne	5,66	5,74	6,56	6,88	6,24

ANNEXE 8

*Etude de l'activité analgésique centrale : lot traité
avec acide acétylsalicylique
à 0,5 g/Kg*

Temps d'expérimentation en minutes	TO	T30	T60	T90	T120

	4,9	5	7,2	9	4,8
	5,5	5,7	7,6	6	5,7
Temps de retrait de la queue du rat en secondes	6	5	5,3	6,8	6,6
	5,6	5	7	5,6	7,8
	6,3	8	5,7	7	6,3
Moyenne	5,66	5,74	6,56	6,88	6,24

ANNEXE 9

*Etude de l'activité analgésique centrale : lot traité à
la dose de 1,5 g/Kg*

Temps d'expérimentation en minutes	TO	T30	T60	T90	T120

	6	8,6	7,3	10	9,7
Temps de retrait de la queue du rat en secondes	4,2	9,8	10	7,8	7,8
Moyenne	5,36	9,04	8,32	8,80	9,06

ANNEXE 10

Paramètres hématologiques enregistrés pour le lot témoin durant la première semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

Constante	GB x 103	GR x 10 ⁶	Hb en g/dl	Plaq 103	Ht en %	VGM en μ 3	TGMH en pg	CCMH g/dl	VMP en μ 3
-----------	----------	----------------------	------------	----------	---------	----------------	------------	-----------	----------------

M A L E S									
Tête	5,1	5,61	9,9	451	28,7	51	17,6	34,5	8,2
Dos	6,9	6,82	21,2	320	41,9	55	18,4	33,3	8,6
Queue	9,4	7,18	14,7	389	42,6	59	20,5	35,3	10,3
Ventre	4,6	7,08	13,6	407	38,7	55	19,3	34,6	8,3
Blanc	7,8	8,4	15,2	584	46,9	62	18,8	37,8	9,4
Moyenne	8,34	7,018	14,92	430,2	39,76	56,4	18,92	35,1	8
Ecart type	1,9679	0,9952	4,0772	98,0647	6,8387	-	4,7309	9,9762	1,0368

FEMELLES

Tête	7,3	6,74	15	195	43,3	57	19	34,7	6,6
Dos	4,9	7,44	16	548	15,3	52	29,3	56,5	8,2
Queue	7,1	4,56	14,02	181	44,6	56	19,7	33,7	8,3
Ventre	6,1	5,6	10,6	841	31,5	56	18,9	32,9	7,5
Blanc	5,4	6,83	12,24	938	45,8	53	25,7	36,12	9,4
Moyenne	6,16	6,234	13,568	540,6	36,1	54,8	22,52	38,784	8
Ecart type	1,0430	1,1477	2,1646	352,4816	12,9618	2,1679	4,7309	9,9762	1,0368

ANNEXE 11

Paramètres hématologiques enregistrés pour le lot témoin durant la deuxième semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

Tête	6,2	7,37	15,6	455,1	37	50	18,2	36,5	14,8
Dos	8,1	7,44	16	310	41,9	51	20 ;8	38,7	9,9
Queue	9,4	9,25	17,6	369	38,5	49	16,19	39	12
Ventre	6,74	8,35	17,5	320	34,8	53	19,3	36,2	12,5
Blanc	7,71	8,4	15,7	584	42	47	20	37	13
Moyenne	7,63	8,162	16,48	411,62	38,84	50	19,04	37,48	12,44
Ecart type	1,2447	0,7785	0,9884	112,7362	3,1298	2,2360	1,5306	1,2872	1,7700

F E M E L L E S

Tête	4,77	6,86	15,6	453	38,9	49	22,4	32,6	7,2
Dos	5,6	7,18	16	63	44	50	23,4	37	10,3
Queue	13	7	14,9	389	41,5	57	23,5	41,4	6,9
Ventre	6,8	6,94	17	453	46,3	42	22,42	32,6	7,2
Blanc	6,1	8,2	18,2	185	39	43	24,7	34,6	9
Moyenne	7,254	7,236	16,34	308,6	41,94	48,2	23,284	35,64	8,12
Ecart type	2,9482	0,4933	1,1616	157,3297	2,8751	5,4184	0,8477	3,3043	1,3196

ANNEXE 12

Paramètres hématologiques enregistrés pour le lot témoin durant la troisième semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

Constante	GB x 103	GR x 10 ⁶	Hb en g/dl	Plaq 103	Ht en %	VGM en μ3	TGMH en pg	CCMH g/dl	VMP en μ3
M A L E S									
Tête	6,2	7,03	21,2	667	45,9	65	30,2	46,3	8,2

Dos	8,1	7,43	19,5	585	50,6	48	26,3	38,6	10,3
Queue	9,7	3,28	7,9	395	21	64	24	37,6	8,3
Ventre	6,74	10	18	618	18	42	53,5	56	8,4
Blanc	7,8	4,64	17,6	506	52,4	57	22,7	33,5	8,6
Moyenne	7,708	7,275	16,84	554,2	37,58	55 ;2	31,34	42,4	8,76
Ecart type	1,3547	2,1949	9,1200	106,549	16,708	10,0349	12,7111	8,9002	0,8734

F E M E L L E S

Tête	12,4	6,81	14,1	527	43,3	57	21,8	38,3	6,9
Dos	13,2	6,80	19,3	949	15,3	65	28,3	41,4	9,1
Queue	2	1,84	2,4	99	44,6	68	25,9	45,5	10,3
ventre	0	0	0	0	31,5	0	0	0	0
Blanc	6,1	6,53	18,7	958	45,8	57	28,6	43,7	9,4
Moyenne	6,74	139,06	10,9	506,6	36,1	49,4	20,92	33,78	7,14
Ecart type	5,9596	302,422	9,1203	453,507	12,9612	28,04	12,0069	19,0745	4,1824

ANNEXE 13

Paramètres hématologiques enregistrés pour le lot traité à la dose faible (0,4g/kg) durant la première semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

Constante	GB x 103	GR x 10 ⁶	Hb en g/dl	Plaq 103	Ht en %	VGM en μ 3	TGMH en pg	CCMH g/dl	VMP en μ 3
M A L E S									
Tête	7,1	7,86	15,9	451	46	47,35	19,4	34,4	7,4

Dos	12,5	8,2	14,5	794	43,3	52	19,9	34,7	6,6
Queue	7,3	9,1	15	407	37,2	50,9	62	45,02	7,6
Ventre	8,8	7,4	16,2	380	38,5	48,4	19,95	37,2	8,1
Blanc	7,9	8,8	14,6	606	42,4	42,4	19	32,2	7,5
Moyenne	8,72	8,272	15,24	527,6	41,48	41,48	28,05	928,1	7,44
Ecart type	2,2140	0,6891	0,7700	172,7087	527,6000	2,2140	18,9826	1997,8716	0,5412

F E M E L L E S

Tête	6,2	6,89	14,1	195	35,6	49	20,1	36,3	8,4
Dos	4,7	7,5	17	548	38	59	22,5	38	6,6
Ventre	5,5	8,24	15	181	41,1	56	20	35,6	16,362
Queue	6	6,91	14,9	841	42,8	41,3	21,6	36,2	6,2
Blanc	7,6	7,08	16,7	93,8	38,7	50,2	19,3	35,3	6,9
Moyenne	6	7,324	15,54	371,76	39,24	51,1	20,7	36,28	8,88
Ecart type	1,0653	0,56774	1,2502	314,699	2,7933	6,8498	1,3095	1,0473	4,2304

ANNEXE 14

Paramètres hématologiques enregistrés pour le lot traité à la dose faible (0,4g/kg) durant la deuxième semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

Constante	GB x 10 ³	GR x 10 ⁶	Hb en g/dl	Plaq 10 ³	Ht en %	VGM en μ 3	TGMH en pg	CCMH g/dl	VMP en μ 3
-----------	----------------------	----------------------	------------	----------------------	---------	----------------	------------	-----------	----------------

M A L E S									
Tête	5,1	5,61	9,9	206	28,7	51	17,6	34,5	8,2
Dos	6,9	6,82	21,2	380	12,8	55	18,4	33,3	8,6
Queue	17,3	7,18	14,7	312	42,6	59	20,5	35,3	10,3
Ventre	4,6	7,08	13,6	255	38,7	3855	19,3	34,6	8,3
Blanc	7,8	8,4	15,2	98	46,9	62	18,8	37,8	9,4
Moyenne	6	7,018	14,92	250,2	33,94	56,4	18,92	35,1	8,96
Ecart type	1,0653	0,9952	4,0776	107,015	13,6012	3,7735	1,0802	1,6718	0,8848

FEMELLES

Tête	7,3	6,74	15	340	43,3	57	19	34,7	6,6
Dos	4,9	2,92	8,6	360	15,3	52	29,3	56,5	8,2
Queue	7,1	4,56	14,02	307	44,6	56	19,7	33,7	8,3
Ventre	6,1	5,6	10,6	456	31,5	56	18,9	32,9	7,5
Blanc	5,4	6,83	12,24	726	45,8	53	25,7	36,12	9,4
Moyenne	6,16	5,33	12,092	437,8	36,1	54,8	22,52	38,784	8
Ecart type	1,0430	1,6364	2,5795	170,3796	12,9612	12,9612	4,7309	9,9762	1,0368

ANNEXE 15

Paramètres hématologiques enregistrés pour le lot traité à la dose faible (0,4g/kg) durant la troisième semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

Constante	GB x 103	GR x 10 ⁶	Hb en g/dl	Plaq 103	Ht en %	VGM en μ 3	TGMH en pg	CCMH g/dl	VMP en μ 3
-----------	----------	----------------------	------------	----------	---------	----------------	------------	-----------	----------------

<i>M A L E S</i>									
Tête	51,6	1,83	10,1	9258	12	65	55,5	85,2	8,6
Dos	2,2	2,17	4,2	202	12,4	57	19,6	34,3	6,7
Queue	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ventre	17,7	7,72	17,6	302	55,6	60	19	31,6	6,2
Blanc	2,8	5,42	6,5	721	10,2	37	23,5	63,6	16,2
Moyenne	14,86	3,428	7,68	430,6	18,04	43,8	23,52	42,94	7,54
Ecart type	21,7050	3,0934	6,6473	382,7372	21,5983	26,6964	20,0730	32,6336	5,8196
<i>F E M E L L E S</i>									
Tête	19,1	6,98	17,4	518	24	69	24,9	36,1	9,7
Dos	5,7	6,28	11,7	291	35,2	56	18,7	33,2	7,4
Queue	7,8	5,1	11,8	926	35,6	70	23,1	33,2	9,8
Ventre	12,6	6,98	17,3	845	45,8	66	24,8	37,9	8
Blanc	7,3	6,76	19,2	972	49,5	63	24,5	38,7	8,1
Moyenne	10,5	6,42	15,48	710,4	38,02	64,8	23,2	35,82	8,6
Ecart type	5,4529	0,7913	3,4881	294,0872	10,0335	5,6302	2,6172	2,5704	1,0839

ANNEXE 16

Paramètres hématologiques enregistrés pour le lot traité à la dose forte (1,5g/kg) durant la première semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

	GB x 103	GR x 10 ⁶	Hb en g/dl	Plaq 103	Ht en %	VGM en µ3	TGMH en pg	CCMH g/dl	VMP en µ3
M A L E S									
Tête	7,9	7,18	15	728	43,2	56	19,5	34,7	7,6
Dos	6,9	6,89	14,5	44	38	50	28,4	34	6,7
Queue	7	7	14,9	85	39,6	55	19,8	35, 8	6,9
Ventre	7,1	7,08	13,6	378	38,7	54	19,9	36,5	7,2
Blanc	7,1	8,4	15,9	576	38,6	56	22,9	41,1	6,9
Moyenne	7,2	7,31	14,78	362,2	39,62	54,2	22,1	36,42	7,6
Ecart type	0.4	0,61855	0,8348	299,1073	2,0813	2,4899	3,7821	2,7887	1,3765

F E M E L L E S									
Tête	8	6,89	16	490	44	58	29	36,5	7,6
Dos	7,9	8,8	16,2	360	36,4	57	20,2	35,3	6,7
Ventre	8,1	6,98	17	641	38,4	55	19,2	35	6,9
Queue	8,7	7,8	14,6	700	41,7	56	21,1	36,9	6,9
Blanc	6,9	6,94	18,4	800	43,5	58	25,7	36,12	6,9
Moyenne	7,92	7,482	16,44	598,2	40,8	56,8	23,04	35,964	7,06
Ecart type	0,6496	0,8268	1,3957	174,1873	3,2962	1,3036	4,1584	1,0473	0,3507

ANNEXE 17

Paramètres hématologiques enregistrés pour le lot traité à la dose forte (1,5g/kg) durant la deuxième semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

	GB x 103	GR x 10 ⁶	Hb en g/dl	Plaq 103	Ht en %	VGM en µ3	TGMH en pg	CCMH g/dl	VMP en µ3
M A L E S									
Tête	5,8	8,2	15,9	715	43,2	52	18 ;8	36,1	6,6
Dos	14,4	3,54	10,1	561	38	55	28,6	52,2	11,8
Queue	28	1,78	5,9	231	39,6	68	33,4	49,2	7,5
Ventre	6,2	6,84	14	59	38,7	55	20, 5	37,4	6,6
Blanc	5,6	8,2	15,9	715	38,6	52	18,8	36,1	6,9
Moyenne	12	5,712	12,36	456,2	39,62	56,4	24,02	42,2	7,88
Ecart type	9,6798	2,9082	4,3183	297,246	2,0813	6,6558	6,6303	7,8495	2,2219
F E M E L L E S									
Tête	2,9	4,92	15,3	39	44	54	19,6	37,1	9,2
Dos	10,5	7,37	15,8	864	36,4	58	21,4	52,2	7,3
Ventre	12	6,1	6,2	370	38,4	67	50	49,2	6,6
Queue	6,2	3,75	8,4	456	41,7	70	22,5	37,4	9,6
Blanc	2,9	4,92	15,3	39	43,5	54	19,6	36,1	9,2
Moyenne	6,9	5,412	12,2	353,6	40,8	60,6	26,62	42,2	8,38
Ecart type	4,2267	1,3741	4,5447	342,4942	3,2962	7,4699	13,1282	7,8495	1,3386

ANNEXE 18

Paramètres hématologiques enregistrés pour le lot traité à la dose forte (1,5g/kg) durant la troisième semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

	GB x 103	GR x 10 ⁶	Hb en g/dl	Plaq 103	Ht en %	VGM en µ3	TGMH en pg	CCMH g/dl	VMP en µ3
M A L E S									
Tête	1,3	2,7	2,3	253	4,2	59	31,4	53,7	8,1
Dos	6,6	7,47	14,7	466	47,2	63	19,7	31,2	7
Queue	3,8	4,88	9,1	258	36	63	18,7	29,9	9,4
Ventre	10,7	7	14,4	592	44,4	57	20,5	32,4	6,8
Blanc	2,7	2,95	7	463	6,8	63	23,7	41,6	7
Moyenne	5,02	5	9,5	406,4	27,72	61	22,8	37,76	7,66
Ecart type	3,7238	2,2140	5,2273	147,7783	20,7188	2,8284	5,1594	10,0296	1,0990
F E M E L L E S									
Tête	5,2	2,29	6,1	775	14,7	64	26,8	41,8	10
Dos	55,5	6,78	119	675	46,2	59	24,2	41,2	7,2
Ventre	7,8	5,8	22,6	459	57	58	22,9	39,6	8,5
Queue	2,7	5,7	14,5	691	43,4	56	18,7	33,4	6,1
Blanc	1,2	7,03	14,2	932	46,6	66	20	30,4	8,3
Moyenne	14,48	5,52	35,28	706,4	41,58	60,6	22,52	37,28	8,02
Ecart type	23,0678	1,8981	47,1623	171,7783	15,8915	4,2190	5,2491	5,0884	1,4652

ANNEXE 19

Paramètres biochimiques enregistrés pour le lot témoin durant la première semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

	Créatininémie en mg/l	Glycémie en g/l	ASAT ou GOT en UI/l	ALAT ou GPT en UI/l
M A L E S				
Tête	7,78	0,69	119,9	62,3
Dos	6,92	0,36	103,4	71,2
Queue	7,96	0,51	57,2	73,4
Ventre	8,4	0,79	112	54
Blanc	7	0,91	96	78
Moyenne	7,612	0,652	97,7	67,78
Ecart type	0,6371	0,219	24,3565	9,5870
F E M E L L E S				
Tête	6,32	0,39	35,48	52,66
Dos	8,01	0,4	29,46	31,16
Ventre	12,33	0,81	53	32,6
Queue	14	0,77	208,8	169,8
Blanc	6,47	0,55	60,1	117,05
Moyenne	9,426	0,584	77,368	80,654
Ecart type	3,5265	0,199	74,4525	60,8567

ANNEXE 20

Paramètres biochimiques enregistrés pour le lot témoin durant la deuxième semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

	Créatininémie en mg/l	Glycémie en g/l	ASAT ou GOT en UI/l	ALAT ou GPT en UI/l
M A L E S				
Tête	6,46	0,61	113	62,3
Dos	6,37	0,23	103,4	71,2
Queue	7,96	0,51	57,2	96,5
Ventre	8,4	0,35	112	50
Blanc	6,47	0,8	98	74,2
Moyenne	7,132	0,5	96,72	70,4
Ecart type	0,8676	0,222	22,9489	17,1543
F E M E L L E S				
Tête	6	0,23	81	52,66
Dos	7,97	1,06	94,8	31,16
Ventre	12,33	0,51	105	28,09
Queue	7,26	1,48	100,1	84
Blanc	6,47	0,34	67,2	39
Moyenne	8,006	0,724	89,62	46,982
Ecart type	2,5317	0,53	15,4124	22,7680

ANNEXE 21

Paramètres biochimiques enregistrés pour le lot témoin durant la troisième semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

	Créatininémie en mg/l	Glycémie en g/l	ASAT ou GOT en UI/l	ALAT ou GPT en UI/l
M A L E S				
Tête	6,46	0,66	111	73
Dos	6,37	0,65	94,3	36
Queue	7,96	0,51	44,5	73,4
Ventre	8,4	0,79	112	54
Blanc	6,47	0,63	98	78
Moyenne	6,19	0,648	91,96	62,88
Ecart type	0,9700	0,0995	27,652	17,6287
F E M E L L E S				
Tête	7,01	0,41	116,72	52,66
Dos	7,97	0,51	123,32	31,6
Ventre	12,33	1,4	178,5	32,6
Queue	7,26	0,6	101,4	84
Blanc	6,47	1,2	260,3	32
Moyenne	8,208	0,844	156,048	46,572
Ecart type	2,3665	0,4296	65,1475	22,7466

ANNEXE 22

Paramètres biochimiques enregistrés pour le lot traité à la dose faible (0,4g/kg) durant la première semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

	Créatininémie en mg/l	Glycémie en g/l	ASAT ou GOT en UI/l	ALAT ou GPT en UI/l
M A L E S				
Tête	8	0,77	110	78
Dos	7,2	0,78	94,3	72
Queue	8,2	1	62,08	73,4
Ventre	7,75	0,81	45,17	57
Blanc	7,5	1,3	53	81
Moyenne	7,73	0,932	72,91	72,28
Ecart type	0,3962	0,226	27,9124	9,2677
F E M E L L E S				
Tête	4,8	0,99	35,5	94,7
Dos	9,74	0,52	78,2	142
Ventre	6,6	0,57	153,7	330,9
Queue	7,26	0,25	135,5	285,3
Blanc	12,9	0,34	347,4	62,3
Moyenne	8,26	0,534	150,06	183,04
Ecart type	3,1403	0,286	119,85	118,7287

ANNEXE 23

Paramètres biochimiques enregistrés pour le lot traité à la dose faible (0,4g/kg) durant la deuxième semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

	Créatininémie en mg/l	Glycémie en g/l	ASAT ou GOT en UI/l	ALAT ou GPT en UI/l
M A L E S				
Tête	3,12	0,74	173,5	71,2
Dos	6,45	0,43	26,2	3404
Queue	7,06	0,99	35,5	94,7
Ventre	3,63	0,25	285,3	135,5
Blanc	3,56	0,27	96,5	50,42
Moyenne	12,76	0,536	123,4	751,764
Ecart type	18,89	0,321	107,958	1484,6585
F E M E L L E S				
Tête	7,34	0,92	181,1	140,2
Dos	6,53	0,86	113	320,6
Ventre	14,31	0,7	95	724,08
Queue	4,89	01,8	101,4	180
Blanc	13,84	0,55	117	340
Moyenne	9,382	0,966	121,5	340,976
Ecart type	4,3772	0,488	34,4635	230,9811

ANNEXE 24

Paramètres biochimiques enregistrés pour le lot traité à la dose faible (0,4g/kg) durant la troisième semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

	Créatininémie en mg/l	Glycémie en g/l	ASAT ou GOT en UI/l	ALAT ou GPT en UI/l
M A L E S				
Tête	4,33	1,38	317,2	141,8
Dos	7,01	1,41	170,8	123,8
Queue	2,18	0,72	73,7	138,2
Ventre	0	0	0	0
Blanc	2,86	0,51	108,5	94,8
Moyenne	3,276	0,804	134,04	99,72
Ecart type	2,6057	0,6	119,54	58,7357
F E M E L L E S				
Tête	4,36	0,76	100,4	142
Dos	1,32	0,54	107,2	160
Ventre	3,12	0,84	394	140
Queue	1,83	0,71	132	92,9
Blanc	4,11	0,96	214	909
Moyenne	2,948	0,762	189,52	288,78
Ecart type	1,3485	0,156	122,922	347,6010

ANNEXE 25

Paramètres biochimiques enregistrés pour le lot traité à la dose forte (1,5g/kg) durant la première semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

	Créatininémie en mg/l	Glycémie en g/l	ASAT ou GOT en UI/l	ALAT ou GPT en UI/l
M A L E S				
Tête	7,07	1,11	85,18	78,4
Dos	7,75	1	50,12	68,5
Queue	8	1,08	110	29,78
Ventre	8,2	1	85,8	49,6
Blanc	8,1	0,77	107	20,1
Moyenne	7,824	0,992	87,62	49,276
Ecart type	0,4534	0,133	23,9372	24,7447
F E M E L L E S				
Tête	7	0,87	85	100,4
Dos	6,75	0,97	93,3	34,04
Ventre	8	1,21	105,4	101,3
Queue	6,35	1,4	28,92	66,35
Blanc	8,4	1,32	92	200
Moyenne	7,3	01,154	80,924	100,418
Ecart type	0,8653	0,227	29,9831	62,2174

Paramètres biochimiques enregistrés pour le lot traité à la dose forte (1,5g/kg) durant la troisième semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

	Créatininémie en mg/l	Glycémie en g/l	ASAT ou GOT en UI/l	ALAT ou GPT en UI/l
MALES				
Tête	2,37	0,44	184,2	87,7
Dos	3,6	0,62	174,3	210
Queue	2,5	1,21	162,1	252,1
Ventre	2,17	0,76	275	227,5
Blanc	4,67	1,11	320	114
Moyenne	3,062	0,828	223,12	178,26
Ecart type	1,0565	0,326	70,1763	72,8265
FEMELLES				
Tête	3,37	1,09	190	254,2
Dos	2,4	0,54	890	116,4
Ventre	2,46	1,5	160	94,7
Queue	1,07	1,02	130	311,4
Blanc	6,75	1,59	909	179,4
Moyenne	3,21	1,148	455,8	191,22
Ecart type	2,1421	0,421	405,652	91,4652

Paramètres biochimiques enregistrés pour le lot traité à la dose forte (1,5g/kg) durant la deuxième semaine pour l'étude de la toxicité sub-aiguë

	Créatininémie en mg/l	Glycémie en g/l	ASAT ou GOT en UI/l	ALAT ou GPT en UI/l
M A L E S				
Tête	3,56	0,28	564,6	147,3
Dos	2,86	0,37	106,3	237,2
Queue	10,84	0,29	364,32	54,2
Ventre	11,09	0,39	139,32	244
Blanc	6,12	0,39	121,4	472
Moyenne	6,894	0,384	259,188	230,94
Ecart type	3,9104	0,125	200,66	155,3643
F E M E L L E S				
Tête	2,86	0,41	62,2	456
Dos	10,84	0,57	181,42	282,2
Ventre	8,31	0,43	308,3	22,2
Queue	11,09	0,16	266,4	68,2
Blanc	4,9	0,23	156,9	340,6
Moyenne	7,6	0,36	195,044	233,84
Ecart type	3,6379	0,165	96,4452	183,9290

ANNEXE 28

Résultats des recherches de l'albumine et du sucre au cours de l'intoxication sub-aiguë pour le lot traité à 0,4 g/kg

	1 ^{ère} Semaine		2 ^{ème} Semaine		3 ^{ème} Semaine	
Mâle témoin	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre
Tête	Traces	0	0	0	0	0
Dos	0	0	0	0	0	Traces
Queue	0	0	0	0	0	0
Ventre	0	Traces	0	0	0	0
Blanc	Traces	0	0	0	0	0
Femelle témoin	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre
Tête	0	0	0	0	0	Traces
Dos	0	0	0	0	0	0
Queue	Traces	Traces	Traces	0	Traces	0
Ventre	0	0	0	0	0	0
Blanc	0	0	0	0	0	0
Mâles traités	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre
Tête	0	0	0	0	0	0
Dos	Traces	0	0	0	0	0
Queue	0	0	0	0	0	0
Ventre	0	0	0	0	0	0
Blanc	0	Traces	0	0	0	0
Femelles traités	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre
Tête	0	0	0	0	0	0
Dos	0	0	0	0	0	0
Queue	0	0	0	0	0	0
Ventre	0	0	0	0	0	0
Blanc	0	0	Traces	0	0	0

ANNEXE 29

Résultats des recherches de l'albumine et du sucre au cours de l'intoxication

sub-aiguë pour le lot traité à 1,5 g/kg

	1 ^{ère} Semaine		2 ^{ème} Semaine		3 ^{ème} Semaine	
Mâle témoin	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre
Tête	0	0	0	0	0	0
Dos	0	0	0	0	0	0
Queue	0	0	0	0	0	0
Ventre	Traces	0	Traces	0	0	0
Blanc	0	0		0		0
Femelle témoin	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre
Tête	0	0	0	0	0	0
Dos	Traces	0	Traces	0	Traces	0
Queue	0	0	0	0	0	0
Ventre	0	0	0	0	0	0
Blanc	Traces	0	0	0	0	0
Mâles traités	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre
Tête	++	0	++	0	Traces	0
Dos	0	0	0	0	0	0
Queue	0	0	0	0	0	0
Ventre	0	0	0	0	0	0
Blanc	Traces	0	0	0	0	0
Femelles traités	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre	Albumine	Sucre
Tête	0	0	0	0	0	0
Dos	0	0	0	0	0	0
Queue	0	0	0	0	0	0
Ventre	0	0	0	0	0	0
Blanc	0	0	0	0	0	0

ANNEXE 30

*Valeurs des poids enregistrés durant les trois semaines
pour les différents lots traités*

POIDS (en g)						
	1^{ère} semaine		2^{ème} semaine		3^{ème} semaine	
	M	F	M	F	M	F
LOT TEMOIN						
Tête	120	150	150	180	155	190
Dos	150	140	170	160	190	145
Queue	150	145	150	150	180	160
Ventre	140	140	150	140	160	150
Blanc	140	145	150	140	190	155
Moyenne	140	144	154	154	175	160
LOT TRAITE PAR L'EXTRAIT A LA DOSE DE 0,4 g/kg						
	M	F	M	F	M	F
	145	150	160	155	164	195,5
Tête	155	150	170	170	172	200
Queue	150	150	160	160	0	180
Ventre	150	150	170	170	173	197
Blanc	150	150	160	165	163	190
Moyenne	150	150	164	164	195,5	168
LOT TRAITE PAR L'EXTRAIT A LA DOSE DE 1,5 g/kg						
	M	F	M	F	M	F
	151	160	160	160	180	170
Tête	153	150	159	155	195	180
Queue	151	150	170	155	190	190
Ventre	154	150	170	150	190	170
Blanc	151	150	160	170	200	200
Moyenne	152	152	163,8	158	192	182

M = mâle**F** = femelle

FICHE TECHNIQUE

- - - - -

1 – DENOMINATION : « DIABY 250302 »

2 – MODE D’OBTENTION

Mélange de plusieurs plantes d’origine inconnue.

3 – CARACTERISTIQUES PHYSIQUES

- couleur : marron
- pH : 7
- concentration en extrait sec : 25 mg/ml

4 – CHIMIE

Alcaloïdes	saponosides	anthracènes	cardiotoniques	tanins		Flavonoïdes
				condensés	hydrolysables	
+	-	-	-	+	+	+

- = absence ; + = présence

Dosage des Na^+ = concentration en sodium (Na^+) 16 mEq/L

K^+ = concentration en potassium (K^+) 8,7 mEq/L

Tanins = 394,2 mg pour 100 ml de solution.

5 – PHARMACOLOGIE

- **Activité anti-inflammatoire** : Thèse de doctorat en Pharmacie, Dakar, 2004, N°...
- **Activité analgésique** : aux doses de 0,75 g/kg et 1 g/kg. Les pourcentages d’inhibition respectifs suivants ont été observés : 53,99 % et 64,78 %.

6 – TOXICITE

- **Toxicité aiguë** : les doses étudiées per os à savoir 0,25 g/kg ; 0,5 g/kg ; 1 g/kg et 1,5 g/kg n’ont pas permis de déterminer la DL50.

- **Toxicité subaiguë**

- pour les paramètres biochimiques étudiés : glycémie, créatininémie et transaminases, aucune manifestation toxicologique n’a été notée aux doses de 0,4 g/kg et 1,5 g/kg.

- pour les paramètres hématologiques : GB, GR, VGM, TGMH, VNP, Ht, Hb, aucune manifestation toxicologique n’a été notée pour les doses de 0,4 g/kg et 1,5 g/kg.

FICHE TECHNIQUE

1 – DENOMINATION : « *DIABY 250302* »

2 – MODE D’OBTENTION

Mélange de plusieurs plantes d’origine inconnue.

3 – CARACTERISTIQUES PHYSIQUES

- couleur : marron
- pH : 7
- concentration en extrait sec : 25 mg/ml

4 – CHIMIE

Alcaloïdes	saponosides	anthracènes	cardiotoniques	tanins		Flavonoïdes
				condensés	hydrolysables	
+	-	-	-	+	+	+

- = absence ; + = présence

Dosage des Na^+ = concentration en sodium (Na^+) 16 mEq/L
 K^+ = concentration en potassium (K^+) 8,7 mEq/L
 Tanins = 394,2 mg pour 100 ml de solution.

5 – PHARMACOLOGIE

- **Activité anti-inflammatoire** : Thèse de doctorat en Pharmacie, Dakar, 2004, N°...

- **Activité analgésique** :

- pour la dose de 400 mg/kg, les pourcentages d’inhibition obtenus sont :

- * à T.30 mn : 22,66 %
- * à T.2h : 60,28 %
- * à T.4h : 65,55 %

- pour la dose de 600 mg/kg, les pourcentages d’inhibition obtenus sont :

- * à T.30 mn : 58,05 %
- * à T.2h : 68,05 %
- * à T.4h : 83,03 %

6 – TOXICITE

- **Toxicité aiguë** : les doses étudiées per os à savoir 0,25 g/kg ; 0,5 g/kg ; 1 g/kg et 1,5 g/kg n’ont pas permis de déterminer la DL50.

- **Toxicité subaiguë**

- pour les paramètres biochimiques étudiés : glycémie, créatininémie et transaminases, aucune manifestation toxicologique n’a été notée aux doses de 0,4 g/kg et 1,5 g/kg.

- pour les paramètres hématologiques : GB, GR, VGM, TGMH, VNP, Ht, Hb, aucune manifestation toxicologique n'a été notée pour les doses de 0,4 g/kg et 1,5 g/kg.