



**HAL**  
open science

## Uncaria tomentosa, liane de la forêt amazonienne

Renaud Cecconi

► **To cite this version:**

Renaud Cecconi. Uncaria tomentosa, liane de la forêt amazonienne. Sciences pharmaceutiques. 2020. hal-03298116

**HAL Id: hal-03298116**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03298116>**

Submitted on 23 Jul 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



UNIVERSITÉ  
DE LORRAINE



FACULTÉ  
DE PHARMACIE

UNIVERSITE DE LORRAINE  
2020

---

## FACULTE DE PHARMACIE

### *THESE*

Présentée et soutenue publiquement

le 06/03/2020, sur un sujet dédié à :

*UNCARIA TOMENTOSA, LIANE DE LA FORET  
AMAZONIENNE*

pour obtenir

**le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie**

par Renaud CECCONI

né le 04/12/1987

### **Membres du Jury**

**Directeur de thèse et Président de jury:**

**Dominique LAURAIN-MATTAR, Professeur de Pharmacognosie**

Juges :

Rosella SPINA, Maître de conférences en Pharmacognosie

Jean-Claude SONNTAG, Docteur en Pharmacie et herboriste

Sylvaine MULLER, PhD et Docteur en Science

**UNIVERSITÉ DE LORRAINE**  
**FACULTÉ DE PHARMACIE**  
**Année universitaire 2019-2020**

**DOYEN**

Raphaël DUVAL

**Vice-Doyen**

Julien PERRIN

**Directrice des études**

Marie SOCHA

**Conseil de la Pédagogie**

Présidente, Brigitte LEININGER-MULLER

Vice-Présidente, Alexandrine LAMBERT

**Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier**

Présidente, Béatrice DEMORE

**Commission Prospective Facultaire**

Président, Christophe GANTZER

Vice-Président, Jean-Louis MERLIN

**Commission de la Recherche**

Présidente, Caroline GAUCHER

**Chargés de Mission**

**Communication**

Aline BONTEMPS

**Innovation pédagogique**

Alexandrine LAMBERT

**Référente ADE**

Virginie PICHON

**Référente dotation sur projet (DSP)**

Marie-Paule SAUDER

**Référent vie associative**

Arnaud PALLOTTA

**Responsabilités**

**Filière Officine**

Caroline PERRIN-SARRADO

**Filière Industrie**

Julien GRAVOULET

Isabelle LARTAUD,

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

**Filière Hôpital**

Béatrice DEMORE

Marie SOCHA

**Pharma Plus ENSIC**

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

**Pharma Plus ENSAIA**

Xavier BELLANGER

**Pharma Plus ENSGSI**

Igor CLAROT

**Cellule de Formation Continue et Individuelle**

Luc FERRARI

**Commission d'agrément des maîtres de stage**

François DUPUIS

**ERASMUS**

Mihayl VARBANOV

**DOYENS HONORAIRES**

Chantal FINANCE

Francine PAULUS

Claude VIGNERON

**PROFESSEURS EMERITES**

Jeffrey ATKINSON

Max HENRY

Pierre LEROY

Philippe MAINCENT

Claude VIGNERON

**PROFESSEURS HONORAIRES**

Jean-Claude BLOCK

Pierre DIXNEUF

Chantal FINANCE

Marie-Madeleine GALTEAU

**MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES**

Monique ALBERT

Mariette BEAUD

François BONNEAUX

Gérald CATAU

Thérèse GIRARD  
 Pierre LABRUDE  
 Vincent LOPPINET  
 Alain NICOLAS  
 Janine SCHWARTZBROD  
 Louis SCHWARTZBROD

Jean-Claude CHEVIN  
 Jocelyne COLLOMB  
 Bernard DANGIEN  
 Marie-Claude FUZELLIER  
 Françoise HINZELIN  
 Marie-Hélène LIVERTOUX  
 Bernard MIGNOT  
 Blandine MOREAU  
 Dominique NOTTER  
 Francine PAULUS  
 Christine PERDIAKIS  
 Marie-France POCHON  
 Anne ROVEL  
 Gabriel TROCKLE  
 Maria WELLMAN-ROUSSEAU  
 Colette ZINUTTI

**ASSISTANTS HONORAIRES**

Marie-Catherine BERTHE  
 Annie PAVIS

**ENSEIGNANTS**

Section CNU

\*

Discipline d'enseignement

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS**

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	82	<i>Thérapie cellulaire</i>
Béatrice DEMORE	81	<i>Pharmacie clinique</i>
Jean-Louis MERLIN	82	<i>Biologie cellulaire</i>
Jean-Michel SIMON	81	<i>Economie de la santé, Législation pharmaceutique</i>
Nathalie THILLY	81	<i>Santé publique et Epidémiologie</i>

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES**

Ariane BOUDIER	85	<i>Chimie Physique</i>
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	86	<i>Pharmacologie</i>
Igor CLAROT	85	<i>Chimie analytique</i>
Joël DUCOURNEAU	85	<i>Biophysique, Acoustique, Audioprothèse</i>
Raphaël DUVAL	87	<i>Microbiologie clinique</i>
Béatrice FAIVRE	87	<i>Hématologie, Biologie cellulaire</i>
Luc FERRARI	86	<i>Toxicologie</i>
Pascale FRIANT-MICHEL	85	<i>Mathématiques, Physique</i>
Christophe GANTZER	87	<i>Microbiologie</i>
Frédéric JORAND	87	<i>Eau, Santé, Environnement</i>
Isabelle LARTAUD	86	<i>Pharmacologie</i>
Dominique LAURAIN-MATTAR	86	<i>Pharmacognosie</i>
Brigitte LEININGER-MULLER	87	<i>Biochimie</i>
Patrick MENU	86	<i>Physiologie</i>
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Bertrand RIHN	87	<i>Biochimie, Biologie moléculaire</i>

**MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

Alexandre HARLE	82	<i>Biologie cellulaire oncologique</i>
Julien PERRIN	82	<i>Hématologie biologique</i>
Loïc REPEL	82	<i>Biothérapie</i>
Marie SOCHA	81	<i>Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique</i>

**MAITRES DE CONFÉRENCES**

Xavier BELLANGER <sup>H</sup>	87	Parasitologie, Mycologie médicale
Emmanuelle BENOIT <sup>H</sup>	86	Communication et Santé
Isabelle BERTRAND <sup>H</sup>	87	Microbiologie
Michel BOISBRUN <sup>H</sup>	86	Chimie thérapeutique
Cédric BOURA <sup>H</sup>	86	Physiologie
Sandrine CAPIZZI	87	Parasitologie
Antoine CAROF	85	Informatique
Sébastien DADE	85	Bio-informatique
Dominique DECOLIN	85	Chimie analytique
Natacha DREUMONT <sup>H</sup>	87	Biochimie générale, Biochimie clinique
Florence DUMARCAÏ <sup>H</sup>	86	Chimie thérapeutique
François DUPUIS <sup>H</sup>	86	Pharmacologie
Reine EL OMAR	86	Physiologie
Adil FAIZ	85	Biophysique, Acoustique
Anthony GANDIN	87	Mycologie, Botanique
Caroline GAUCHER <sup>H</sup>	86	Chimie physique, Pharmacologie
Stéphane GIBAUD <sup>H</sup>	86	Pharmacie clinique
Thierry HUMBERT	86	Chimie organique
Olivier JOUBERT <sup>H</sup>	86	Toxicologie, Sécurité sanitaire

**ENSEIGNANTS (suite)**

Section CNU

\*

Discipline d'enseignement

Alexandrine LAMBERT	85	Informatique, Biostatistiques
Julie LEONHARD	86/01	Droit en Santé
Christophe MERLIN <sup>H</sup>	87	Microbiologie environnementale
Maxime MOURER <sup>H</sup>	86	Chimie organique
Coumba NDIAYE	86	Epidémiologie et Santé publique
Arnaud PALLOTTA	85	Bioanalyse du médicament
Marianne PARENT	85	Pharmacie galénique
Caroline PERRIN-SARRADO	86	Pharmacologie
Virginie PICHON	85	Biophysique
Sophie PINEL <sup>H</sup>	85	Informatique en Santé (e-santé)
Anne SAPIN-MINET <sup>H</sup>	85	Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER	87	Mycologie, Botanique
Guillaume SAUTREY	85	Chimie analytique
Rosella SPINA	86	Pharmacognosie
Sabrina TOUCHET	86	Pharmacochimie
Mihayl VARBANOV	87	Immuno-Virologie
Marie-Noëlle VAULTIER	87	Mycologie, Botanique
Emilie VELOT <sup>H</sup>	86	Physiologie-Physiopathologie humaines
Mohamed ZAIYOU <sup>H</sup>	87	Biochimie et Biologie moléculaire

**PROFESSEUR ASSOCIE**

Julien GRAVOULET	86	Pharmacie clinique
------------------	----	--------------------

**PROFESSEUR AGREGÉ**

Christophe COCHAUD	11	Anglais
--------------------	----	---------

<sup>H</sup> Maître de conférences titulaire HDR

\* Disciplines du Conseil National des Universités :

80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

# **SERMENT DE GALIEN**

**En** présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

**D'**honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances

**D'**exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

**De** ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité

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

**De** ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession

**De** faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens

**De** coopérer avec les autres professionnels de santé

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

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



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

## **REMERCIEMENTS :**

*Mes remerciements vont tout d'abord au Professeur Dominique LAURAIN-MATTAR pour avoir acceptée d'être ma directrice de thèse, pour le temps qu'elle a pris à orienter et diriger mon travail et pour m'avoir proposé l'aide du docteur Rosella SPINA, Maître de conférences, qui a aimablement accepté de siéger parmi mon jury.*

*Je remercie ensuite le Docteur Sylvaine MULLER, pour les heures qu'elle a réservées à la lecture et à la relecture de mon ouvrage et pour les précieux conseils de rédaction qu'elle m'a donnés. Que cet ouvrage lui soit une marque de ma profonde affection et qu'il puisse être à la hauteur de ses compétences.*

*De même, j'exprime ma gratitude au Docteur Jean-Claude SONNTAG, pharmacien herboriste, pour sa gentillesse et l'intérêt qu'il a porté à mon travail dès notre premier contact. De par ses connaissances poussées en phytothérapie et de par le fait que la plante, objet de ce travail, est peu connue en France, il est l'une des seules personnes que j'ai consultées à la connaître pour l'avoir déjà vendue dans sa pharmacie. Ses informations m'ont été par conséquent bien utiles dans l'élaboration de mon travail.*

*J'adresse aussi mes remerciements à Monsieur Eric BRAYER, Monsieur Lionel D'ALTRI, Monsieur Marc MELLINGER et Monsieur Eric TEDESCHI (ainsi qu'à leurs équipes), pharmaciens chez lesquels j'ai eu le plaisir de travailler durant l'élaboration de ma thèse, qui en plus de m'apporter leur soutien et leurs encouragements ont su me transmettre la passion de leur métier.*

*Enfin, je remercie spécialement et je dédicace ce travail à Josette et Joël, mes parents, à Marguerite, ma grand-mère, à mes défunts grands-parents, à Isabelle et Xavier, ma tante et mon oncle et à Amandine et Florian, mes cousins, qui m'ont pour le meilleur et pour le pire épaulé tout au long de mon cursus sans oublier le reste de ma famille et mes amis pour leurs encouragements.*

# **TABLE DES MATIERES :**

INTRODUCTION :	2
I. Généralités-Historique :	3
A. La diversité du genre <i>Uncaria</i> :	5
B. Quelques mots d'histoire...	6
1. Les tribus indiennes de l'Amazonie :	6
2. Ouverture progressive au monde :	9
3. Des années 80 à aujourd'hui :	11
C. Aspect botanique d' <i>Uncaria tomentosa</i> :	15
1. Dénominations :	15
2. Description botanique :	17
3. Classification botanique:	19
4. Géographie et habitat :	21
II. Composition chimique:	25
A. Alcaloïdes :	27
1. Structures chimiques :	27
2. Extraction, identification :	30
3. Propriétés physico-chimiques :	32
4. Particularités structurales :	33
B. Polyphénols :	38
1. Structure chimique:	38
2. Extraction et identification :	42
3. Propriétés physico-chimiques :	43
4. Particularités structurales :	44
C. Triterpènes et phytostérols :	47
1. Structure chimique :	47
2. Extraction et identification :	50
3. Propriétés physico-chimiques :	51
4. Particularités structurales :	52
D. Autres composés actifs : les acides quiniques et analogues :	55

III.	Propriétés pharmacologiques .....	59
A.	Les principales propriétés : .....	61
1.	Effet immunostimulateur : .....	61
2.	Effet anti-inflammatoire : .....	66
3.	Effet antioxydant : .....	72
4.	Effet anticancéreux : .....	75
B.	Les autres propriétés : .....	86
1.	Anti-infectieux : .....	86
2.	Antimutagénicité : .....	93
3.	Effet sur la muqueuse utérine et les ovaires : .....	95
4.	Autres utilisations : .....	97
IV.	Utilisation de la plante en thérapeutique : .....	101
A.	Récapitulatif des formes existantes : .....	103
B.	Données pharmacologiques : .....	104
1.	Effets indésirables : .....	104
2.	Intéactions médicamenteuses : .....	107
3.	Précautions particulières : .....	108
C.	Incomplétude des études : .....	109
D.	Utilisation de la ressource : .....	110
	<i>BIBLIOGRAPHIE</i> : .....	117
	<i>ANNEXE</i> : .....	124

## **TABLE DES ILLUSTRATIONS :**

FIGURE 1: ZONES DE PRESENCE DES ESPECES DU GENRE UNCARIA .....	6
FIGURE 2: TERRITOIRE DES INDIENS ASHANINKA .....	7
FIGURE 3: LES 3 ESSENCES DU SYSTEME MEDICINAL ASHANINKA ET LES MALADIES ASSOCIEES .....	8
FIGURE 4: CENTRE DE COLLECTION D'UNCARIA TOMENTOSA.....	13
FIGURE 5: ECORCE D'UNCARIA TOMENTOSA SUR UN ETALAGE DE MARCHÉ .....	13
FIGURE 6: ENTREE DU CENTRE TAKIWASI AU PEROU .....	13
FIGURE 7: STIPULES DE LA GRIFFE DE CHAT .....	16
FIGURE 8: PHOTOS D'UNE RAMIFICATION (A) ET D'UNE INFLORESCENCE (B) D'UNCARIA TOMENTOSA .....	17
FIGURE 9: STIPULES D'UNCARIA TOMENTOSA (A GAUCHE) ET GUIANENSIS (A DROITE) .....	18
FIGURE 10: CLASSIFICATION APGIII (2009) .....	20
FIGURE 11: PTEROPODINE, SPECIOPHYLLINE, MITRAPHYLLINE ET LEURS ISOMERES RESPECTIFS CORRESPONDENT AUX 6 POA DE LA PLANTE.....	28
FIGURE 12: RHYNCHOPHYLLINE, CORYNOXEINE ET LEURS ISOMERES RESPECTIFS CORRESPONDENT AUX 4 TOA DE LA PLANTE .....	29
FIGURE 13: CHROMATOGRAMME D'UN EXTRAIT METHANOLIQUE D'ECORCE D'UNCARIA TOMENTOSA AVEC PRESENCE DE 6 PICS REPRESENTANT LES 6 POA (GANZERA ET AL.,2001) .....	32
FIGURE 14: REACTION DE SYNTHÈSE DE LA STRICTOSIDINE, PRECURSEUR DES ALCALOÏDES INDOLES ET OXINDOLES .....	33
FIGURE 15: NOYAU INDOLE ET OXINDOLE .....	33
FIGURE 16: ILLUSTRATION DE L'ISOMERIE REVERSIBLE DES POA LIEE A L'INSERTION DU NOYAU OXINDOLE .....	34
FIGURE 17: LES ALCALOÏDES TENDENT A SE REPARTIR DANS LA PLANTE SELON 3 CHIMIOTYPES. LES TOA PREDOMINENT DANS LE CHIMIOTYPE 3. LES POA PREDOMINENT DANS LES CHIMIOTYPES 1 ET 2 QUI DIFFERENT PAR L'EXISTENCE D'UNE ISOMERIE ENTRE LE 4EME CYCLE ET LE 5EME CYCLE DES POA .....	35
FIGURE 18: STRUCTURES DE LA QUERCETINE ET DE LA MYRICETINE BASEES SUR UN NOYAU 2-PHENYLCHROMONE .....	39
FIGURE 19: STRUCTURE DE LA CATECHINE ET DE L'EPICATECHINE .....	39
FIGURE 20: EXEMPLE DE DIMERES ET DE TRIMERES DE PROCYANIDINE .....	40
FIGURE 21: STRUCTURE DE L'AFZELECHINE .....	40
FIGURE 22: STRUCTURE DES PROANTHOCYANIDINES DE HAUT POIDS MOLECULAIRE.....	41
FIGURE 23: NOYAUX PHENOLIQUES PRECURSEURS DES ACIDES HYDROXYBENZOÏQUES ET HYDROXYCINNAMIQUES.....	44
FIGURE 24: STRUCTURE DE BASE DES FLAVONOÏDES D'UNCARIA TOMENTOSA.....	45
FIGURE 25: ILLUSTRATION DES 2 TYPES DE LIAISONS INTERFLAVANIQUES DE TYPE B.....	45
FIGURE 26: TRITERPENOÏDES DERIVES DE L'ALPHA-AMYRINE : ACIDES QUINOVIQUE ET URSOLIQUE .....	48
FIGURE 27: TRITERPENOÏDES DERIVES DE LA BETA-AMYRINE : ACIDES OLEANIQUE ET CINCHOLIQUE .....	49
FIGURE 28: LES PRINCIPAUX PHYTOSTEROLS DE LA PLANTE .....	49
FIGURE 29: CHROMATOGRAMME D'UN EXTRAIT HYDROETHANOLIQUE D'ECORCE D'UNCARIA TOMENTOSA OBTENU EN CLHP-PDA. LES 7 PICS CORRESPONDENT A L'ACIDE QUINOVIQUE ET SES FORMES GLYCOSYLEES (KAISER ET AL., 2013) .....	51
FIGURE 30: STRUCTURE CHIMIQUE DE L'ISOPRENE .....	52
FIGURE 31: VOIES DE SYNTHÈSE DES PRECURSEURS DES PHYTOSTEROLS ET DES TRITERPENOÏDES PENTACYCLIQUES D'UNCARIA TOMENTOSA.....	53
FIGURE 32: L'ACIDE QUINOVIQUE ET QUELQUES ESTERS.....	56
FIGURE 33: MISE EN EVIDENCE PAR ELECTROPHORESE DE L'INHIBITION DE FIXATION DU NFkB A L'ADN PAR DES EXTRAITS HYDROALCOOLIQUES D'ECORCE(ALLEN-HALL ET AL, 2010) .....	68
FIGURE 34: ACTIVATION DU NFkB .....	68
FIGURE 35: INHIBITION DES CYTOKINES PAR LA MITRAPHYLLINE ET LA DEXAMETHASONE (EN POURCENTAGE D'INHIBITION) (AZEVEDO ET AL.,2018) .....	70
FIGURE 36: CORRELATION ENTRE LES INDICES ORAC ET DPPH-IC50 ET LES PROANTHOCYANIDINES DE BAS POIDS MOLECULAIRE D'UNCARIA TOMENTOSA (NAVARRO-HOYOS ET AL.,2018) .....	74
FIGURE 37: SYSTEME ENZYMATIQUE ANTIOXYDANT .....	78

FIGURE 38: CONTROLE DU CYCLE CELLULAIRE (SOURCE:"HTTP://SLIDEPLAYER.FR") .....	81
FIGURE 39: INFLAMMATION CHRONIQUE ET STRESS OXYDATIF DANS LA CANCEROGENESE .....	81
FIGURE 40: IMMUNITE ANTI TUMORALE (SOURCE : « HTTPS://WWW.ROCHE.FR »).....	82
FIGURE 41: NEUTROPHILES CHEZ LES PATIENTES SAINES (CONTROL) ET ATTEINTES DE CANCER DU SEIN AVEC TRAITEMENT CHIMIOTHERAPIQUE EN PRESENCE (UTCa) OU NON (Ca) D'UNE SUPPLEMENTATION EN EXTRAITS D'UNCARIA TOMENTOSA (« SANTOS ARAUJO ET AL.,2012 ») .....	84
FIGURE 42: HISTOLOGIE DE L'UROTHELIUM VESICAL DE SOURIS CHEZ LE GROUPE SAIN (A), SUPPLEMENTE EN FRACTIONS D'ACIDE QUINOVIQUE (QAPF) SEULES (B), CYCLOPHOSPHAMIDE (CYP) SEUL (C), CYP+MESNA (D), CYP+QAPF (E) AINSI QUE L'INDEX DE DOMMAGES HISTOLOGIQUES (F) (« DIETRICH ET AL.,2015 »).....	85
FIGURE 43: OBSERVATION AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE DE BALAYAGE DE CANDIDA KRUSEI SANS ET AVEC ADJONCTION DE LA FRACTION INSOLUBLE A L'EAU D'EXTRAIT AQUEUX D'ECORCE A 7.81 MG/L .....	92
FIGURE 44: LES PROTEINES TAU HYPERPHOSPHORYLEES S'AGGREGENT ET NE MAINTIENNENT PLUS LA STRUCTURE DES MICROTUBULES NEURONAUX : LES AXONES SE DESINTEGRENT .....	98

## **LISTE DES TABLEAUX :**

TABLEAU I : LES CRITERES DE QUALITE RELATIFS AUX ALCALOÏDES DE L'ECORCE UNCARIA TOMENTOSA (MONOGRAPHIE AMERICAINE) 26	
TABLEAU II : ALCALOÏDES INDOLIQUES D'UNCARIA TOMENTOSA .....	30
TABLEAU III : SOLUBILITE DES FORMES PROTONEES (IONISEES) ET DEPROTONEES (NON IONISEES) DES ALCALOÏDES EN FONCTION DE LA POLARITE DES SOLVANTS .....	31
TABLEAU IV : POLYPHENOLS NON FLAVONOÏDES D'UNCARIA TOMENTOSA .....	38
TABLEAU V : FACTEURS IMPLIQUES DANS LA SURVIE OU LA MORT CELLULAIRE .....	79
TABLEAU VI : ETUDE DE LA SYNERGIE ENTRE DES EXTRAITS D'ECORCE D'UNCARIA TOMENTOSA ET LES TRAITEMENTS ANTIFONGIQUES DE REFERENCE SUR DES SOUCHES DE CANDIDA NON ALBICANS.....	91
TABLEAU VII : LES DIFFERENTES FORMES GALENIQUES D'UNCARIA TOMENTOSA SELON L'EMA (LISTE NON EXHAUSTIVE) .....	103

## **LISTE DES ABREVIATIONS :**

ADN :	Acide desoxyribonucléique
Afz/Cat :	Afzelechine/Catechine
AND :	Anidulafungine
AP-1 :	Proteine activatrice 1
APG :	Angiosperm Phylogeny Group
APP :	Proteine précurseur de l'amyloïde
ATP/ADP :	Adenosine triphosphate/Adenosine diphosphate
AVK :	Antivitamines K
CAE :	Carboxy-alkyl-ester
CAT :	Catalase
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince
CLHP :	Chromatographie Liquide Haute Performance
CLSI :	Clinical and Laboratory Standards Institute
Cmin :	Concentration minimale efficace
COX :	Cyclo-oxygenase
CPA :	Cellule présentatrice d'Antigène
CYP :	Cyclophosphamide
CYP3A4 :	Cytochrome P450 3A4
DC :	De Candolle
DCm/DCp :	Cellule dendritique myeloïde/plasmacytoïde
DER :	Drug extraction ratio
DP :	Degré de polymérisation
EBV :	Ebstein-Barr Virus
EMA :	Agence européenne du médicament
ERCC1 :	Excision repair cross-complementation group 1
FLZ :	Fluconazole
HSV :	Herpes Simplex Virus
IFN :	Interferon

IgE/IgG : ..... Immunoglobuline E/G  
M ASL : .....Meters above sea level (mètres au-dessus du niveau de la mer)  
NO : ..... Monoxyde d'azote  
NCA : .....Candida Non Albicans  
NCI : .....National Cancer Institute  
NF $\kappa$ B : .....Nuclear Factor kappa beta  
OA : ..... Alcaloïde oxindole  
OMS : ..... Organisation mondiale de la santé  
OTC : ..... Over the counter  
POA : ..... Alcaloïde oxindole pentacyclique  
PVPP : .....Polyvinylpyrrolidone  
QAG : .....Glycosides de l'acide quinovique  
QAPF : .....Fractions purifiées de l'acide quinovique  
RMN : .....Résonance magnétique et nucléaire  
ROS : ..... Espèces réactives à l'oxygène  
SM : ..... Spectrométrie de masse  
SOD : .....Superoxyde dismutase  
TGF $\beta$  : .....Tumor growth factor beta  
TNF $\alpha$  : ..... Tumor necrosis factor alpha  
TOA : .....Alcaloïde oxindole tétracyclique  
TRB : ..... Terbinafine  
VIH : .....Virus de l'immunodéficience humaine



*« La légende raconte qu'une nuit, lorsque Kashiri (la lune) éclairait le ciel, un chasseur Ashaninka était sur un sentier à la recherche d'une proie pour subvenir aux besoins de sa famille. Épuisé, après plusieurs heures de recherches infructueuses, la soif et le désespoir diminuaient les forces du promeneur solitaire.*

*Soudain, un murmure dans la forêt attira son attention et sa grande surprise fut de voir qu'un jaguar énorme déchirait l'écorce d'une épaisse vigne.*

*Apeuré mais curieux, l'homme regarda le jaguar boire l'eau qui coulait du cœur de la vigne. Ensuite, il vit comment le jaguar, avec sa férocité et son incroyable agilité, s'attaqua à un cerf qui passait.*

*Ayant récupéré, le chasseur s'approcha furtivement de la vigne et but la puissante eau.*

*Quelques minutes plus tard, le chasseur se sentit à nouveau plein de vigueur et décida de prendre un morceau d'écorce de cette vigne qui avait curieusement des épines semblables à celles du jaguar. Alors au crépuscule, un énorme tapir traversa le chemin. Par un tir de flèche précis vers son cœur, le chasseur vola sa vie.*

*Depuis lors, les Ashaninkas valorisent et utilisent cette liane qu'ils appellent samento ou griffe de chat, plante aux pouvoirs cicatrisants, magiques et revitalisants. »*

Légende Ashaninka

« Manejemos nuestro Una de gato »

Ashaninka.



## INTRODUCTION :

L'Amazonie constitue un trésor de ressources naturelles. Plus de 500 millions d'Hectares de forêts s'étendent du Brésil (60% de l'Amazonie) à l'Est, jusqu'au Pérou à l'Ouest et au Venezuela, la Colombie, l'Equateur, la Guyane et le Suriname au Nord de l'Amérique latine.

Les indiens d'Amazonie se sont depuis des temps immémoriaux servis des propriétés thérapeutiques des végétaux constituant la flore de l'Amazonie et leurs connaissances s'avèrent intéressantes pour compléter le répertoire de notre phytothérapie.

Dans leur savoir archaïque, ils intègrent l'utilisation d'une liane, *Uncaria tomentosa* ou la griffe de chat, dont ils se servent de diverses manières et pour plusieurs indications. L'écorce de cette liane est inscrite à la Pharmacopée française et américaine. Elle constitue la partie majoritairement employée en médecine traditionnelle.

La médecine moderne s'est depuis peu intéressée à cette plante, surtout pour ses propriétés anti-inflammatoires qui soulagent les douleurs rhumatismales et articulaires mais bien d'autres indications sont reliées à cette plante.

Au vu de la tendance croissante dont fait l'objet la phytothérapie, en réponse aux thérapies standards lourdes en effets secondaires et qui font parfois l'objet de résistance accrue comme c'est le cas pour les antibiotiques ou les antifongiques, il apparaît intéressant d'enrichir nos connaissances avec des ressources issues d'autres contrées.

Très en vogue sur le continent américain et dans les pays Anglo-saxons, *Uncaria tomentosa* est peu connue en Europe. Ce travail a pour principal objectif d'en donner un aperçu des plus précis et complet. Il permettra d'entrevoir les différentes études effectuées jusqu'à ce jour qui, pour une bonne majorité, confirment l'usage traditionnel de la plante. Le développement de ce travail se fera selon 4 grands axes :

- Dans un premier temps, l'historique de l'utilisation de la plante, ses diverses généralités avec sa classification, sa description botanique et son habitat géographique.
- Dans un second temps, la composition chimique de la plante.
- Dans un troisième temps, ses propriétés pharmacologiques et leurs mécanismes.
- Enfin, divers problèmes relatifs à l'utilisation de la plante en thérapeutique.

# **I. Généralités-Historique :**

Avant de traiter des propriétés thérapeutiques d'*Uncaria tomentosa*, il semble important de commencer par la présenter. D'où vient-elle ? Comment fut-elle découverte ? Quels sont ses critères botaniques ? Autant de questions qui peuvent nous venir à l'esprit d'autant que cette plante demeure méconnue en France contrairement aux pays Anglo-saxons, où elle est utilisée depuis plusieurs décennies. Ce premier chapitre aura donc pour but de présenter la plante.

Après avoir décrit le genre *Uncaria* en quelques lignes, il sera traité l'histoire de la plante. Nous verrons l'importance qu'elle tient chez les indiens de la forêt amazonienne et l'utilisation traditionnelle qu'ils en font pour remonter jusqu'à son utilisation contemporaine tant du point de vue industriel qu'économique.

Enfin, les caractéristiques morphologiques, botaniques ou encore géographiques de la plante seront décrites.

## A. La diversité du genre *Uncaria* :

Etymologiquement, le nom de genre *Uncaria* tire son origine du latin « *uncus* » signifiant « crochu » ou encore « recourbé ». Il fait référence à de petites stipules crochues qui ressortent de la base des feuilles des principales espèces composant ce groupe de lianes. Le genre *Uncaria* contient 34 espèces répertoriées à ce jour qui se répartissent sur le continent Américain, Africain et Asiatique mais qui sont absentes de certains territoires comme l'Europe de par leur affinité pour les climats équatoriaux et tropicaux. Elles rassemblent des caractéristiques communes mais diffèrent plus ou moins fortement de par leur morphologie, leur composition chimique ou encore de par les propriétés médicinales qui leurs sont attribuées.

On retrouve par exemple l'espèce *Uncaria rhynchophylla*, encore appelée « *Gou teng* », en Chine où elle est utilisée comme remède pour la tension, l'épilepsie ou encore l'insomnie. Son nom est tiré de l'isorynchophylline, alcaloïde qu'elle renferme en grande concentration et qui procède d'une activité inotrope négative pour le cœur. Cette espèce coexiste en Asie avec l'espèce « *Uncaria callophylla* » également utilisée contre la tension. On en retrouve également sur le territoire Africain comme par exemple les espèces *Uncaria donisii* et *Uncaria africana* (Petit, 1957).

Mais c'est en Amérique centrale et en Amérique du sud que l'on retrouve *Uncaria tomentosa*, territoire qu'elle partage avec une autre espèce du genre *Uncaria*, *Uncaria guianensis*. Leur ressemblance peut parfois amener à les confondre, comme en témoigne le fait qu'elles sont empiriquement désignées sous la même appellation, « *una de gato* » ou encore « *griffe de chat* » en Français, terme qui se réfère de manière scientifique plus à l'espèce *tomentosa* dans la mesure où la plupart des études entreprises portent sur elle.

Elles divergent pourtant d'une part d'un point de vue anatomique et d'autre part du point de vue de la composition, notamment en alcaloïdes. Ces différences, quelque peu minimes, suffisent pour provoquer des effets thérapeutiques différents, fait que les tribus indiennes intègrent à leur savoir ancestral puisqu'elles préfèrent l'utilisation d'*Uncaria tomentosa* qu'elles considèrent plus puissante (Kemper, 1999). Il est à noter, comme nous allons le voir, qu'il existe également des variations au sein même de l'espèce *Uncaria tomentosa*.

Notre étude ne portera que sur cette dernière dans la mesure où elle est la plus étudiée des 2 espèces, qu'il s'agit d'une plante en devenir, prometteuse dans de nombreux domaines mais aussi parce qu'elle constitue à elle seule un vaste sujet d'étude dont il est difficile de cerner avec précision tous les aspects.



Figure 1: Zones de présence des espèces du genre *Uncaria*

## B. Quelques mots d’histoire...

### 1. Les tribus indiennes de l’Amazonie :

#### a) Les Ashaninka :

C’est dans la forêt amazonienne, principalement sur les territoires correspondant à l’actuelle jungle centrale du Pérou, du nord et de l’ouest du Brésil que fut d’abord utilisée *Uncaria tomentosa*. Depuis plus de 2 millénaires et encore de nos jours en passant par l’époque de la grandeur des civilisations précolombiennes, des tribus indiennes perpétuent le savoir d’une médecine traditionnelle en partie à base de plantes dont la griffe de chat (“Tyler’s Herbs of Choice”, 2009).



Figure 2 : territoire des indiens Ashaninka

Parmi ces tribus, dont la colonisation par les conquistadores au 16<sup>ème</sup> siècle a grandement réduit l'espace vital, on retrouve actuellement les *Aguarana*, les *Campo*, les *Cashibo* ou encore les *Shipibo* (Steward, 2017). D'autres utilisations de cette plante au niveau de la frontière colombienne ont été rapportées chez les *Yanesha*, mais aussi dans le sud de l'Amazonie chez les *Boras* et à l'est du Brésil dans la région de *Maranhao* chez les *Kaapor* (De Jong et al., 1999).

Mais d'après les ethnopharmacologues, un peuple semble avoir une affinité particulière avec cette plante : ce sont les indiens *ashaninka*. Aujourd'hui, plus de

60000 *ashaninka* vivent sur un territoire situé à l'est du Pérou et dans la région d'Acre à l'Ouest du Brésil, dans un triangle géographique schématiquement délimité par les rivières *Pichis-Palcazu*, *Ucayali* et *Perene-Tambo* (Keplinger et al., 1999).

La plupart se sont occidentalisés mais certains n'ont quasiment jamais été en contact avec la civilisation dite « moderne » envers laquelle demeure une certaine méfiance. Pour cette raison, il est difficile d'avoir une liste exhaustive des diverses utilisations qu'ils font de la plante (Pasteur, 1997).

Cependant, on sait que leurs chamanes cueillent *Uncaria tomentosa* pour guérir de nombreuses maladies comme les désordres immunitaires, les ulcères gastriques, les rhumatismes et autres troubles inflammatoires mais également pour traiter les diarrhées, l'acné, les tumeurs, les plaies, les infections virales et urinaires ou encore l'asthme. D'autres groupes comme les *Tacanas* l'utilisent contre le diabète, la fièvre, les hémorragies, les problèmes hépatiques, rénaux et intestinaux ou les menstruations irrégulières... (Fleurentin, 2018) ; Certains indigènes lui prêtent volontiers des propriétés dépuratives pour le foie, le rein et les intestins ainsi que des propriétés contraceptives en l'utilisant par exemple pour réguler les naissances (Bourdy et al., 2000).

## b) La médecine Ashaninka :

De leur point de vue, *Uncaria tomentosa* est considérée comme sacrée des dieux, habitée par de bons esprits, et possède une action autant sur l'esprit que sur le corps selon leurs coutumes et traditions. Selon le système médicinal Ashaninka, l'être-humain est composé de 3 essences ; D'abord d'un « *ivasta* » qui correspond à la partie physique ou encore la chair, puis d'un « *isancane* » qui correspond à la partie spirituelle et enfin d'un « *ineatatsiri* » qui est une partie régulatrice qui permet l'harmonie et la communication entre la partie physique et spirituelle (figure 3). L'état de santé d'une personne dépend de l'équilibre entre ces 3 composantes.

Une maladie provient d'une dérégulation d'une ou plusieurs de ces essences. Selon les parties impliquées, il existe des maladies physique (*catsiarentsi*), psychique (*mantsiarentsi*), ou de régulation (*aparentsi*). Elles peuvent être traitées par des rituels, des régimes alimentaires ou des herbes médicinales choisies en fonction du type de désordre.

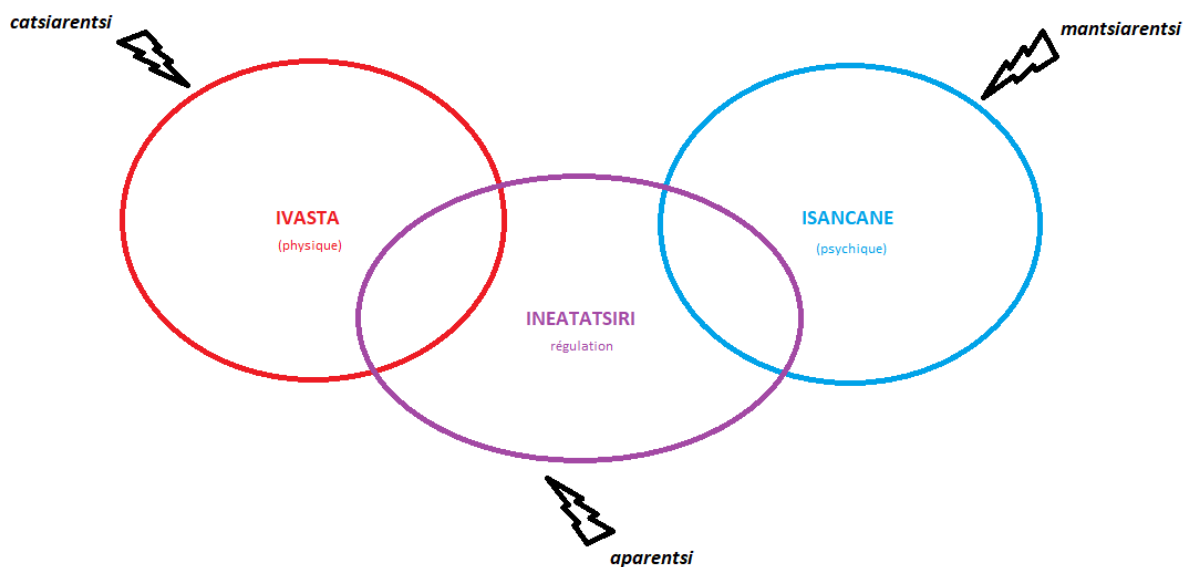


Figure 3: Les 3 essences du système médicinal Ashaninka et les maladies associées

Il existe parallèlement 3 niveaux de soignants mais dans le cas d'une maladie de régulation, liée à des facteurs comme le stress ou l'anxiété, les indiens font appel à un « *sancoshi* », prêtre connecté aux essences divines et rudement formé pour maintenir l'équilibre de la nature. Après des années d'éducation, devant mener une vie de célibat, suivre un régime végétarien et demeurer retranchés dans les profondeurs de l'Amazonie, ils sont capables de réaliser, à l'aide de leurs connaissances, des préparations en sélectionnant des plantes puissantes peuplées par de bons esprits (*manincaarite*) qui permettent de rétablir l'homéostasie chez le malade. *Uncaria tomentosa* fait partie de cette catégorie de plante. Elle



n'est pas directement considérée comme guérisseuse car les *sancoshi* l'utilisent dans une sphère plutôt religieuse. Cependant, pour les indiens, un lien très fort uni la spiritualité et la médecine et *a fortiori* les maladies psychiques et physiques (Keplinger et al., 1999).

### c) Utilisation traditionnelle :

Les ethnopharmacologues rapportent qu'*Uncaria tomentosa* tient une place importante dans leur médecine traditionnelle et que c'est surtout l'écorce qui est utilisée en infusion ou en décoction dans de l'eau bouillante. Elle est parfois utilisée en teintures ou extraits dans des élixirs d'alcool comme le rhum de sucre de canne. Ces derniers semblent avoir une meilleure efficacité, du fait que l'alcool est un meilleur extracteur que l'eau, ce que nous constaterons plus tard. Elle est souvent associée à d'autres plantes comme l'*ayahuasca* ou le *chuchuhuasi* pour masquer son goût amer, lié à la présence d'une forte concentration en alcaloïdes (Schwartz, 1995). Ces infusions sont parfois utilisées en gargarisme ou bien appliquées localement sur les zones à traiter. Plus rarement, les feuilles et l'écorce sèches sont fumées à la manière du tabac à chic (Elkins, 1995).

Par exemple, il a été rapporté que le *sancoshi* bout 20 g d'écorce dans 1 litre d'eau pendant 45 minutes puis laisse décanter, constituant une ration à boire de 10 jours (Keplinger et al., 1999). D'autres sources affirment que 3 morceaux d'écorce de tige d'approximativement 11 cm sur 3 sont placés dans 1 litre d'eau que l'on porte à ébullition afin d'obtenir un breuvage fort noir qu'il faut consommer à raison de 3 coupes par jour et ce dans le but de traiter tout type de désordre inflammatoire (Rojas et al., 2012). D'autres parties de la plante comme les feuilles ou les racines sont plus rarement utilisées par les indiens.

## 2. Ouverture progressive au monde :

### a) Du 16<sup>ème</sup> au 19<sup>ème</sup> siècle : premiers contacts

Au 16<sup>ème</sup> siècle, l'empire Inca règne sur le Pérou au moment du débarquement de Pizarro et des soldats espagnols en 1531. Quelques années plus tard, il fut démantelé et le territoire fut sous la domination de l'empereur Charles Quint d'Espagne. Curieusement, la découverte et le développement d'*Uncaria tomentosa* en Europe ne s'est pas fait immédiatement après l'arrivée des conquistadores en Amérique du sud. Il y a donc une période de vide historique pendant lequel on ne retrouve que très peu de référence contrairement à d'autres ressources comme le café ou le quinquina qui sont tous les 2 de la même famille botanique que la griffe de chat (Rubiaceae).

Il fallut ainsi attendre 1830 pour qu'elle soit officiellement décrite comme espèce botanique. Le botaniste de renommée, Charles Frederick Millsbaugh, en fit également référence en 1892, après que des explorateurs en contact avec des tribus indigènes de la Cordillère des Andes lui en aient rapporté ses effets bénéfiques sur divers problèmes comme l'arthrite, les cancers ou les désordres immunitaires en médecine traditionnelle (Schauss, 1995).

## b) 20<sup>ème</sup> siècle : Essor de la plante

C'est surtout dans la seconde moitié du 20<sup>ème</sup> siècle que la plante prit un essor important. Un naturaliste Allemand, Arthur Brell constata que les populations locales parvenaient à réguler la natalité en utilisant des infusions de plusieurs plantes, dont la griffe de chat. Il entreprit une expédition en 1965 dans les vallées de *perené-tambo* d'où il préleva quelques échantillons qu'il étudia en collaboration avec le Dr Eugene Withworth de l'université de Californie.

Quelques années plus tard en 1969, un anthropologue allemand, Oscar Schuler, décida d'en prescrire en décoction à la manière traditionnelle à son père qui souffrait d'un cancer en phase terminale résistant aux traitements. En rémission, il continua à vivre pendant plus de 15 ans. Oscar Schuler fonda une entreprise au Pérou dont le but était de cultiver et d'échanger la plante (De Jong et al., 1999).

Il communiqua ce traitement à Klaus Keplinger, scientifique autrichien, qui importa un spécimen de la liane à Innsbruck où il entreprit d'en découvrir la composition. Une étude datant de 1974 et dont il est l'un des auteurs marqua un tournant dans l'histoire de la plante. C'est à partir de cette période que plusieurs travaux confirmèrent les propriétés biologiques de la plante, notamment la stimulation du système immunitaire et l'effet anticancéreux. Sa composition fut également l'objet de plusieurs études ; à titre d'exemple, en 1975, *Phillipson* et *Hemminway* isolèrent certains composants dont des alcaloïdes oxindoles. Puis en 1976, *Matta* et ses collègues identifièrent, en plus des alcaloïdes, divers proanthocyanidines dans la fraction phénolique d'un extrait alcoolique de cette plante (Pérez et al., 2012).

Sous l'impulsion du président Nixon, le NCI (*national Cancer Institute*) entreprit l'étude de la plante. A la destitution de celui-ci, et malgré des résultats probants, le projet fut abandonné. Toutefois, d'autres chercheurs reprirent ces études et contribuèrent à alimenter les informations disponibles de nos jours au sujet d'*Uncaria tomentosa*.

Les milieux politique et artistique, au sein desquels plusieurs personnalités comme l'acteur Mexicain Andres Garcia en firent aussi la promotion. Alors qu'au début des années 70, il était relativement difficile de trouver de la griffe de chat en vente dans les marchés Péruviens, elle devint quelques années plus tard un produit de la scène mondiale (Schauss, 1995).

### 3. Des années 80 à aujourd'hui :

#### a) Boom mondial :

En 1988, un congrès international eût lieu à Lima au Pérou portant sur les thérapies traditionnelles Péruviennes. Certains médecins y rapportèrent qu'*Uncaria tomentosa* parvint à traiter 14 cancers différents chez 700 patients entre 1984 et 1987 tandis qu'en 1992, des chercheurs italiens de l'université de Milan mirent en avant le puissant pouvoir antioxydant de la plante (Elkins, 1995).

L'écorce de la liane connut un boom en Amérique du sud en premier lieu avant de conquérir la scène mondiale. Il eût comme répercussion l'intensification de la recherche scientifique. Pour qualifier ce boom, certains parlent de la « fièvre de *l'una de gato* » en référence à la « fièvre du caoutchouc » du début du 20<sup>ème</sup> siècle (Schwartz, 1995).

L'organisation mondiale de la santé (OMS) lui dédia une conférence internationale en 1994 à Genève à l'issue de laquelle elle fut considérée comme plante médicinale ; Parmi les vastes sujets débattus, on ne manqua pas de rappeler qu'aucune plante originaire d'Amérique du sud n'avait suscité un tel intérêt depuis le quinquina au 17<sup>ème</sup> siècle en Europe. Il fut aussi souligné l'importance de financer davantage de recherches sur la plante.

#### b) Industrie et commerce :

Parallèlement se sont développés son industrie et son commerce d'abord à une échelle locale, au Pérou notamment et pays voisins, puis à l'échelle mondiale où elle est exportée sous forme de matière première brute (écorce, racines) ou de produits dérivés et finis (extraits divers, poudre d'écorce, thé, gélule...).

##### (1) Exportation :

D'après certaines sources, les USA étaient les seuls importateurs en 1993. En 1995, ce sont plus de 726 tonnes d'écorce qui furent exportées vers de nombreuses nations au sein desquelles on retrouve parmi les plus gros importateurs les USA, le Mexique, l'Autriche, le Japon, l'Espagne ou encore l'Italie. L'écorce pure a constitué au cours des années 90 la principale forme exportée. D'après les experts, la demande des pays importateurs s'orientera au fil des années prioritairement vers la matière brute ou les produits dérivés, comme la poudre l'écorce mais peu vers les produits finis (De Jong et al., 1999).

## (2) Récolte et commerce :

Au Pérou, le commerce de la ressource est permis par l'entremise de collecteurs et traders, petits entrepreneurs locaux, qui la récoltent mais également par de grandes manufactures solidement implantées qui vendent les produits dérivés.

L'écorce est récoltée sur des spécimens d'au minimum 8 ans afin que leur épaisseur soit suffisante pour l'extraire. Le tronc est coupé à 1 mètre de hauteur pour permettre la repousse du plant. Du au poids du tronc coupé, l'écorce est séparée du rameau sur place et la tige intérieure est jetée. L'écorce est ensuite traitée et grattée pour éliminer les champignons, les insectes et autres parasites résidents.

Pour finir, les entrepreneurs locaux collectent l'écorce qu'ils stockent dans des « centres de collection » (figure 4) dans l'attente de la revendre sur les marchés ou aux manufactures. Une autre option, illégale, consiste à passer par des intermédiaires, ce qui permet aux traders de s'affranchir des nombreux permis obligatoires pour récolter et échanger la ressource (De Jong et al., 1999).

## (3) Industrie :

### (a) En Amérique du sud :

Les manufactures, dont l'activité a principalement débuté dans les années 90, vendent la matière première, des produits finis (gélules, comprimés, teintures ou extraits) et des produits dérivés (poudre d'écorce).

Certaines se servent de ce commerce pour diversifier leurs activités. Par exemple, le centre Takiwasi fondé en 1992 et qui possède un partenariat avec la faculté de médecine de Nancy tente de promouvoir les thérapies traditionnelles (figure 6). Il dispose depuis 2007 d'un laboratoire pharmaceutique qui lui permet de fabriquer ses propres produits manufacturés à partir de ressources naturelles comme la griffe de chat.

L'écorce est principalement employée mais d'autres parties peuvent parfois être retrouvées comme les racines ou plus rarement la feuille, dont plusieurs études ont montré qu'elle est la partie la plus riche en proanthocyanidine (Navarro et al., 2017)(Navarro-Hoyos et al., 2018).

Les manufactures obtiennent la matière première des centres de collection, ou par l'entremise d'intermédiaires ou encore d'autres compagnies. Certaines utilisent des plantations privées ou enrichissent les terrains naturels.



Figure 4: Centre de collection d'*Uncaria tomentosa* (Zavala Carrillo, n.d.)



Figure 5 : Ecorce d'*Uncaria tomentosa* sur un étalage de marché



Figure 6: Entrée du centre Takiwasi au Pérou

### (b) Développement dans les pays importateurs :

L'industrie de la griffe de chat s'est également développée dans d'autres pays comme aux USA où l'on dénombre en 1999, 12 manufactures fabriquant des produits dérivés ainsi qu'au moins 39 compagnies les redistribuant sur le marché. La matière première est acheminée d'Amérique du Sud ou acquise par des intermédiaires aux USA. Chaque laboratoire est en mesure de fabriquer 3 millions de gélules par jour en moyenne ainsi que d'autres conditionnements comme les sachets de tisane, les teintures, les extraits fluides et secs ou encore les comprimés.

Les industries aux USA ont un rendement de production bien supérieur en comparaison à l'Amérique du Sud. Des produits finis issus de l'industrie Péruvienne peuvent être retrouvés aux USA. Néanmoins, pour y être vendus, ils doivent être approuvés par la « *Food and Drug Administration* » et répondre à des critères plus sélectifs qu'au Pérou. De plus, les consommateurs aux USA, comme dans d'autres pays importateurs, se dirigent préférentiellement vers les produits finis issus de leur propre industrie. Le commerce se fait donc essentiellement avec de la matière première ou semi-manufacturée.

### c) Législation :

Constatant l'essor important de la plante, l'OMS a reconnu *Uncaria tomentosa* en tant que plante médicinale en 1994. A l'échelle nationale, on voit par exemple qu'au Brésil, le « système unique de santé », l'équivalent de la sécurité sociale française, reconnaît une liste de médicaments d'intérêt mise en place par le ministère de la santé, la *Relacao National de Medicamentos Essenciais* ou RENAME, dans laquelle figure la griffe de chat (Honório et al., 2017).

Aux USA, La pharmacopée Américaine a intégré l'écorce de tige de la griffe de chat ainsi que ses formes dérivées (poudre, extraits hydroalcooliques) en établissant leur monographie au cours de l'année 2004. En France, l'écorce de tige d'*Uncaria tomentosa* est inscrite à la pharmacopée sur la liste A des plantes utilisées en médecine traditionnelle (ANSM, 2017) tandis qu'un arrêté ministériel en date du 24 Juin 2014 l'inclut dans une liste de plantes autorisées dans la fabrication des compléments alimentaires (*Arrêté du 24 juin 2014*, n.d.).

Aujourd'hui, *Uncaria tomentosa* est exportée à travers le monde bien qu'elle demeure relativement méconnue en France et plus généralement en Europe. Faisant partie des 148 plantes listées à la pharmacopée française et libérées du monopole pharmaceutique, elle est disponible en pharmacie (écorce de tige et dérivés) et également sur internet. Divers problèmes existent aujourd'hui, comme la sur-exploitation de la ressource ou encore la partie de la plante à utiliser. La dernière partie de cette étude sera consacrée à donner plus de détails sur ces questionnements.

## C. Aspect botanique d'Uncaria tomentosa :

### 1. Dénominations :

- **Nom scientifique complet** : *Uncaria tomentosa* (Willd.ex Roem. & Schult.) DC (1830)

Le nom scientifique de la griffe de chat est issu de la nomenclature binomiale de «Carl von Linné», dite nomenclature Linnéenne. Il est ainsi composé de 2 parties ; la première, *Uncaria*, correspond au nom de genre et la seconde, *tomentosa*, correspond à l'espèce. Il a été mentionné en début de chapitre l'origine étymologique du terme *Uncaria*. En ce qui concerne le nom d'espèce, il provient également du latin, «*tomentus*» signifiant poilu. Il fait référence à l'aspect velouté de la partie inférieure des feuilles, recouvertes de petits poils courts et flexibles (Schwartz, 1995).

Cette nomenclature est complétée en ajoutant les citations d'auteurs et la date de la première description ou parution dans la littérature. Ainsi, dans son ouvrage «*prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*» daté de 1830, le botaniste suisse Augustin Pyramus De Candolle en fait la première description botanique officiellement retenue. Il reprend celle de Willdenow parue dans une publication de Roemer et schultz datant de 1819 et qui rangeait la liane parmi le genre *Naucleae*. Ce faisant, il la reclassifia dans le genre *Uncaria* tout en en faisant une brève description (Candolle, 1987).

En suivant les règles de la nomenclature linnéenne s'ajoutent au nom binomial d'abord les noms des systématiciens dont la classification a été remplacée entre parenthèses puis les initiales officielles du botaniste dont la classification a été retenue. Enfin, pour être parfaitement complet, il faut ajouter entre parenthèse la date de la description qui ici correspond à l'année 1830.

Cette nomenclature binomiale a été mise en place par Linné en 1753 dans son ouvrage «*species plantarum*» et est depuis le début du 20<sup>ème</sup> siècle remise à niveau tous les six ans lors du «*congrès international de nomenclature botanique*».

- **Nom vernaculaire** : *Griffe de chat*

Dans les autres pays, la signification du nom vernaculaire demeure identique faisant toujours référence aux stipules en forme de griffe qui ressortent de la base des feuilles. Ils correspondent donc à la traduction quasiment mot pour mot du nom vernaculaire français. Dans les pays hispanophones, on parle de « *Una de gato* » (una : patte et Gato : chat). Dans les pays anglophones, il s'agit de « *cat's claw* ». Chez les germanophones, elle se nomme « *katzenkrallen* »...etc...



*Figure 7: Stipules de la griffe de chat*

Cette dénomination reste toutefois imprécise dans la mesure où en Amérique du Sud, elle intègre une autre espèce que *tomentosa*, l'espèce *guianensis*. Cette dernière pousse dans la même zone géographique et ressemble à s'y méprendre à *tomentosa*. Une analyse morphologique précise permet toutefois de les distinguer. L'usage du nom scientifique binomial est donc recommandé si l'on désire référencer précisément l'une ou l'autre des 2 espèces.

- **Autres dénominations** : Liane du Pérou, Saventaro, Garabato, Life-giving vine of Peru, Samenco, Uganangi, Pahuetai mosha, Casha, bejucho de agua, Rancaya...etc...

Non scientifiquement référencées, ces dénominations correspondent à des appellations populaires, principalement utilisées en Amérique latine et au sein des populations indigènes (Kemper, 1999).



## 2. Description botanique :

### a) Caractéristiques morphologiques :

*Uncaria tomentosa* est une liane grimpante qui peut atteindre 20 à 40 mètres de haut lorsqu'elle arrive à maturité (généralement au bout d'une vingtaine d'années). Elle est basée sur une tige ou tronc principal monopodial, dont le diamètre adulte à la base mesure jusqu'à 40 cm. Il donne de nombreuses branches latérales plagiotropiques ramifiées, fleuries, de croissance limitée qui permettent son ascension aux arbres.

Le long de ces ramifications (tiges) se développent les feuilles pétiolées. Plutôt oblongues, elliptiques et brillantes sur la face supérieure, elles sont implantées de manière opposée et sont recouvertes de poils fins sur la partie inférieure. A la base des feuilles croissent, par paire, les stipules, en forme d'épines pointues, effilées plus ou moins recourbées vers le bas ayant l'aspect de la griffe d'un chat. Pouvant mesurer jusqu'à 2 cm de large et plus de 5 cm de long, leur partie supérieure est recouverte de poils qui s'entremêlent parfois avec ceux des feuilles et qui leur donnent un aspect cotonneux.

Les fleurs, qui naissent à l'extrémité des tiges, ont une couleur jaune et constituent une inflorescence globuleuse pouvant regrouper jusqu'à 5 têtes. Les fleurs et les feuilles sont presque sessiles.



Figure 8 : Photos d'une ramification (a) et d'une inflorescence (b) d'*Uncaria tomentosa*

### b) Germination :

Elle est de type épigée. Dans des conditions favorables, les 2 cotylédons (*Uncaria tomentosa* est une espèce dicotylédone) émergent vers le 30<sup>ème</sup> jour après semis de la graine. Ces feuilles primordiales, ancrées à l'hypocotyle par un court pétiole blanc-vert, sont opposées, ovales

avec une base arrondie et un apex obtu. Elles mesurent approximativement 1 à 2 mm de long pour 1 mm de large.

A 45 jours, les cotylédons sont tombés et commencent à se développer l'épicotyle avec des feuilles vertes claires et glabres ainsi que les stipules interpétiolaires de forme triangulaire.

Au 60<sup>ème</sup> jour, la radicule a évolué en une racine principale exomorphe, large de couleur blanche à partir de laquelle se développe un réseau complexe de racines secondaires qui se ramifient à leur tour. L'hypocotyle est cylindrique, blanc verdâtre avec un diamètre de 1 à 4 mm. L'épicotyle est quadrangulaire avec une couleur similaire à l'hypocotyle.

### c) Différences avec *guianensis* :

Au-delà des variations intra-espèces qui ont pu être répertoriées, par exemple au niveau de la couleur de l'écorce ou encore de la forme des stipules ou des feuilles, il existe entre *guianensis* et *tomentosa* des distinctions inter-espèces caractéristiques.

L'espèce *guianensis* est généralement moins robuste et plus élancée que *tomentosa*. Elle dépasse rarement 10 mètres de hauteur avec un diamètre de base d'au plus 15 cm. Le premier ordre de branches latérales est simple, non ramifié.

Au niveau des tiges, les feuilles, les stipules et les bourgeons sont plus rapprochés chez *guianensis* de sorte que les bourgeons sont parfois recouverts par le sommet des feuilles de la rangée inférieure, ces dernières étant légèrement spiralées vers l'apex. Plus distinctif encore, les stipules sont nettement plus recourbées que chez *tomentosa* (figure 9) et sont de ce fait moins fonctionnelles pour grimper aux arbres ; Si *tomentosa* est une espèce qualifiée de grimpante, *guianensis* est davantage une espèce rampante. En outre, les stipules sont glabres à leur face supérieure chez *guianensis*.



Figure 9: Stipules d'*Uncaria tomentosa* (à gauche) et *guianensis* (à droite)

Les fleurs sont très similaires chez les 2 espèces excepté la corolle et le calice. Celui-ci est plus long chez *guianensis* (3 à 4 mm contre 0,6 à 0,8 mm) avec des sépales fondus au 2/3 (1/2 chez *tomentosa*). La corolle est entièrement couverte de poils chez *tomentosa* alors qu'elle ne

l'est qu'au sommet chez *guianensis*. Aussi, les fleurs sont sessiles pour les 2 espèces mais contrairement à *tomentosa* où il reste court, le pédicelle s'allonge (1 à 1,7 cm) lors de la formation du fruit chez *guianensis*.

Sur des critères autres que morphologiques, *guianensis* pousse à une altitude plus basse que *tomentosa*, préférentiellement entre 100 et 800 m asl. A la différence de *tomentosa*, elle affectionne les terrains plats faiblement drainés comme les plaines inondables. Enfin, il semble que *guianensis* est davantage demandeuse de lumière. Elle se retrouve préférentiellement en zones dégagées ou en forêt secondaire. A l'inverse, il a été montré que *tomentosa*, bien qu'héliophile, nécessite un certain degré d'ombrage pour se développer et s'adapte donc bien en forêt primaire (Honório et al., 2016).

### 3. Classification botanique:

#### a) Classification de Cronquist :

Selon la classification de Cronquist établie en 1981, la taxonomie d'*Uncaria tomentosa* est la suivante (Pollito and Bendezu, 2003):

- ❖ Règne : *Plantae*
- ❖ Sous-règne : *Tracheobionta (= Trachéophyte)*
- ❖ Division : *Magnoliophyta (=Spermatophyte)*
- ❖ Classe : *Magnoliopsida (=Angiospermes)*
- ❖ Sous-classe : *Asteridae*
- ❖ Ordre : *Rubiales*
- ❖ Famille : *Rubiaceae*
- ❖ Genre : *Uncaria*
- ❖ Espèce : *Tomentosa*

La famille des Rubiaceae regroupe de nombreuses plantes médicinales comme l'*Ipeca* ou le *quinquina*. Elle est caractérisée par l'insertion des feuilles qui sont opposées et par la présence de stipules interpétiolaires à leur base.

## b) Classification APG :

Contrairement à la classification de Cronquist, dite classique, l'APG appartient aux classifications phylogénétiques ou cladistiques qui prennent en compte des critères plus sélectifs (génétique, biochimique...).

En étudiant plusieurs centaines de séquences géniques végétales (comme celles du gène *rbcL* chloroplastique), des scientifiques proposent la classification APG en 1998. Certaines familles du schéma classique ont été modifiées selon des critères génétiques. Ainsi, la famille Rubiaceae, à laquelle appartient le genre *Uncaria*, auparavant classée chez les Rubiales se voit incluse chez les Gentianales. La classification APG est en constante évolution, la dernière étant l'APGIV (2016).

Parmi les innovations, on note la scission des Angiospermes en Protoangiospermes et Euangiospermes (plus évolués). Surtout, sur un critère microscopique, l'APG a apporté une distinction importante chez les dicotylédones : Selon que les graines possèdent une seule ouverture ou 3 se distinguent les dicotylédones monoaperturées ou triaperturées, ces derniers étant plus évolués.

Selon l'APG, la liane suit la taxonomie suivante dans la clade des Angiospermes :

Euangiospermes > Dicotylédones triaperturées > Evoluées > Astéridées > Astéridées I (=Lamiidées) > Gentianales > *Uncaria* > *Tomentosa*

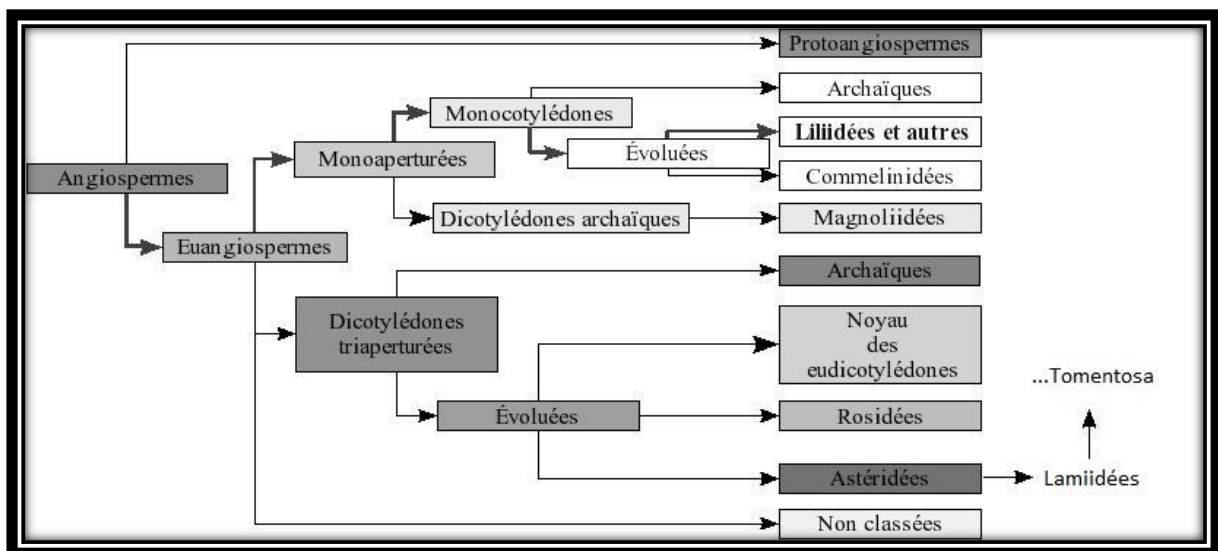


Figure 10: Classification APGIII (2009)

## 4. Géographie et habitat :

### (1) Fonction du climat :

*Uncaria tomentosa* se retrouve sur un vaste territoire situé en Amérique du Sud et centrale. Elle pousse principalement sur toute l'étendue de la forêt amazonienne de l'Ouest de la cordillère des Andes située au Pérou jusqu'à l'Est du Brésil dans la région d'Amapa. Elle remonte jusqu'à l'état de Belize en Amérique centrale et des sources citent qu'il est possible d'en localiser jusqu'au Paraguay au sud du Brésil (Zavala Carrillo and Zevallos Pollito, 1996).

La forêt Amazonienne possède un climat équatorial, dont les caractéristiques et notamment la pluviosité et l'humidité expliquent le développement de la liane. Au-delà, le climat tropical est moins propice à son épanouissement.

### (2) Fonction de l'altitude :

D'autres paramètres inhérents à la niche écologique de cette plante existent également comme l'altitude. *Uncaria tomentosa* préfère pousser en altitude. Des désaccords existent toutefois sur l'importance de cette altitude : *Zavala et Zevallos* rapportent dans une étude que cette niche se situe entre 100 et 995 m asl tandis que *Maxwell* la situe entre 600 et 2500 m asl (Zavala Carrillo and Zevallos Pollito, 1996).

### (3) Fonction du type de sol :

Tout comme *guianensis*, *tomentosa* affectionne les acrisols (riches en argile et en minéraux) et les fluvisols (sols peu différenciés constitués de sédiments alluviaux ou marins). Pour cette raison, on la retrouve au sein de la forêt amazonienne composée en majorité d'acrisol et au bord des rivières ou des lacs composés de fluvisol.

A la différence de *guianensis*, elle préfère les terrains vallonnés avec un bon drainage, c'est-à-dire une bonne évacuation de l'eau qui évite sa stagnation au niveau des racines. Cependant, on en retrouve également sur les plaines inondables des rivières amazones.

#### (4) Fonction de la luminosité :

*Uncaria tomentosa* est une liane héliophile, ce qui explique qu'elle grimpe aux arbres pour aller puiser la lumière à la cime. Elle parvient à croître dans les zones denses en végétation de la forêt amazonienne où les rayons de soleil sont partiellement bloqués par un premier niveau de végétation montrant qu'elle est tout à fait capable de s'adapter à une faible luminosité (De Jong et al., 1999).

#### (5) Densité des spécimens :

Ces critères, non exhaustifs, constituent des paramètres essentiels de la niche écologique d'*Uncaria tomentosa* qui conditionnent d'une part le rendement en principes actifs de la plante et d'autre part l'expansion de la liane dans une zone géographique.

D'après les études, peu nombreuses, qui ont été entreprises pour recenser les populations d'*Uncaria tomentosa* en forêt amazonienne, les plus fortes valeurs de densité ont été retrouvées dans la vallée de *Palcazù* au Pérou où 17 individus adultes par Ha furent recensés. La densité moyenne en forêt Amazonienne se situe entre 2 et 8 individus adultes par Ha de forêt. Il manque des données pour les plaines ainsi que pour les forêts secondaires, c'est-à-dire modifiées par l'activité humaine dans lesquelles plus de lumière traverse.

Il apparaît que les spécimens poussent plus facilement dans ces zones mieux éclairées. Une étude mentionne une densité de plus de 40 individus par Ha dans certaines zones de forêts secondaires (Honório et al., 2016). Mais, la luminosité n'étant pas le seul critère, le biome d'une forêt primaire non modifiée par l'Homme, comme la forêt amazonienne, offre à la plante le cadre et les paramètres écologiques optimums pour son développement.

*Uncaria tomentosa* est donc une liane de la famille des Rubiaceae et elle exhibe les 2 caractéristiques principales du genre *Uncaria* qui sont l'insertion opposée des feuilles et l'émergence à la base d'une paire de stipules crochues.

Elle croit majoritairement au sein de la forêt amazonienne qui lui apporte les meilleurs paramètres, notamment en termes de sols, d'humidité et de climat.

Bien qu'utilisée traditionnellement depuis des millénaires par les tribus indiennes, l'essor de cette plante dans le monde moderne s'est déroulé à la fin du 20<sup>ème</sup> siècle. L'intérêt qu'elle suscite depuis plusieurs décennies est démontré à la fois par une industrie, un commerce et des études scientifiques qui se sont développés au début des années 80, mais également par l'établissement d'un cadre juridique comme en témoigne l'inscription de l'écorce de tige à la Pharmacopée française et américaine.

L'écorce de tige est en effet la partie la plus utilisée. La législation ne prend en compte que cette partie qui est la seule disponible en pharmacie sous ses formes brutes ou dérivées (poudre, teintures ou extraits hydroalcooliques fluides ou secs).

Après avoir donné quelques généralités relatives à cette plante et sa description botanique, nous aborderons dans un second temps sa composition chimique. Ce qui nous permettra ensuite de détailler ses propriétés thérapeutiques.





## **II. Composition chimique :**

Plusieurs familles de molécules du métabolisme végétal spécialisé rentrent dans la composition d'*Uncaria tomentosa*. On y retrouve des alcaloïdes, des polyphénols, des triterpènes ou encore des stérols.

D'après James DUKE, dont les travaux datent de 1994, elle renfermerait 29 constituants chimiques (Williams, 2001). L'année suivante, Steinberg en comptait plus de 50 présents dans les espèces du genre *Uncaria* dont 35 exclusifs à l'espèce *tomentosa* (Steinberg, 1995). D'autres études donnent des résultats plus ou moins différents, sachant que de nouvelles recherches ont permis d'isoler de nouveaux constituants.

En guise de synthèse, il sera détaillé les différentes familles de molécules organiques du métabolisme spécialisé de la plante, leurs structures chimiques, en passant par leurs modes d'extraction, leur répartition dans la plante, leurs propriétés et leurs particularités. Les composés du métabolisme primaire (amidon, cellulose...) ne seront pas évoqués.

La monographie d'*Uncaria tomentosa* de la Pharmacopée américaine, disponible en annexe, ne considère que l'écorce de tige ainsi que ses extraits hydroalcooliques. Concernant les principes actifs, elle ne prend en compte que les alcaloïdes oxindoles (OA), pentacycliques (POA) et tétracycliques (TOA), selon les critères de qualité suivants :

*Tableau I : Les critères de qualité relatifs aux alcaloïdes oxindoles de l'écorce d'Uncaria tomentosa (monographie américaine)*

		POA	TOA
Ecorce pure ou broyée	Teneur en OA	>0,3 % m/m	<0,05 % m/m
	Rapport POA/TOA	>6	
Extrait sec (DER 4-6 :1)	Teneur en OA	>90% et <110% de la quantité calculée à partir de la matière sèche.	
	Rapport POA/TOA	>4	
	Effets	-Immunostimulant -Anti-inflammatoire -Anticancéreux...etc...	-Antagoniste des POA -Cardiotoxique

OA : « Oxindole Alkaloid »      POA/TOA : « Pentacyclic/Tetracyclic Oxindole Alkaloid »

Le chapitre débute par les alcaloïdes puisqu'ils sont les principaux composants actifs de la plante. Il sera pourtant constaté, tout au long de ce travail, que les autres composants, polyphénols et triterpènes entre autres, ont également des effets pharmacologiques.

## A. Alcaloïdes :

Dans la plante, les alcaloïdes sont majoritairement représentés par 2 groupes, les alcaloïdes pentacycliques et les alcaloïdes tétracycliques pouvant être de type oxindole ou de type indolique.

Les alcaloïdes oxindoles sont les composants actifs. Ils peuvent être soit pentacyclique (POA) ou tétracyclique (TOA) : la prédominance de l'un ou l'autre de ces alcaloïdes dans la liane conditionne l'appartenance à un chimiotype.

Il est admis que les POA sont responsables des effets thérapeutiques de la plante tandis que les TOA inhibent leurs activités par des voies antagonistes et ont un effet chronotrope négatif sur le cœur (Reinhard, 1999).

Leurs méthodes d'extraction sont basées sur leur caractère basique lié à la présence d'atomes d'azote dans leurs structures.

### 1. Structures chimiques :

#### a) Les Alcaloïdes oxindoles :

##### (1) Alcaloïdes pentacycliques : (= POA)

Masse molaire = 368,4263 g/mol

Même formule brute :  $C_{21}H_{24}N_2O_4$

-Pteropodine (ou Uncarine C)

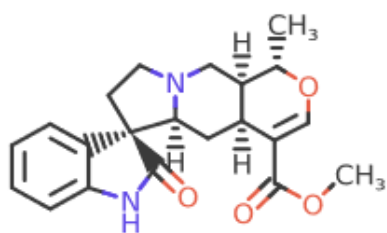
-Isopteropodine (ou Uncarine E)

-Speciophylline (ou Uncarine D)

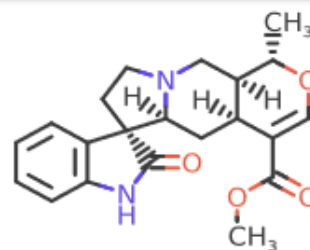
-Speciofiline (ou Uncarine F)

-Mitraphylline (ou Ajmalicine oxindole B)

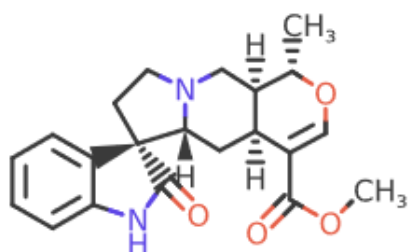
-Isomitraphylline (ou Ajmalicine oxindole A)



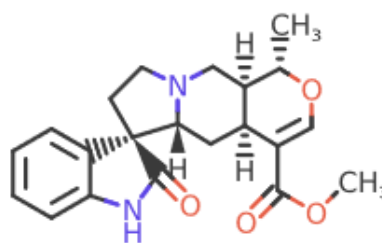
PTEROPODINE



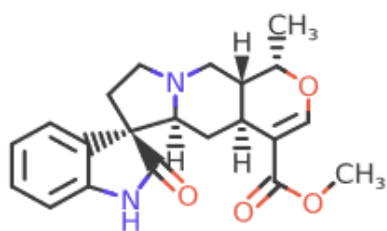
ISOPTEROPODINE



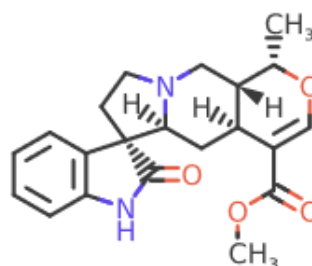
SPECIOPHYLLINE



SPECIOFILINE



MITRAPHYLLINE



ISOMITRAPHYLLINE

Figure 11: Pteropodine, Speciophylline, Mitraphylline et leurs isomères respectifs correspondent aux 6 POA d'*Uncaria tomentosa*

(2) Alcaloïdes tétracycliques : (= TOA)

-Rhynchophylline	}	Masse molaire = 384,4687 g.mol <sup>-1</sup> / Formule brute : C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>
-Isorhynchophylline		
-Corynoxéine	}	Masse molaire = 382,4528 g.mol <sup>-1</sup> / Formule brute : C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>
-Isocorynoxéine		

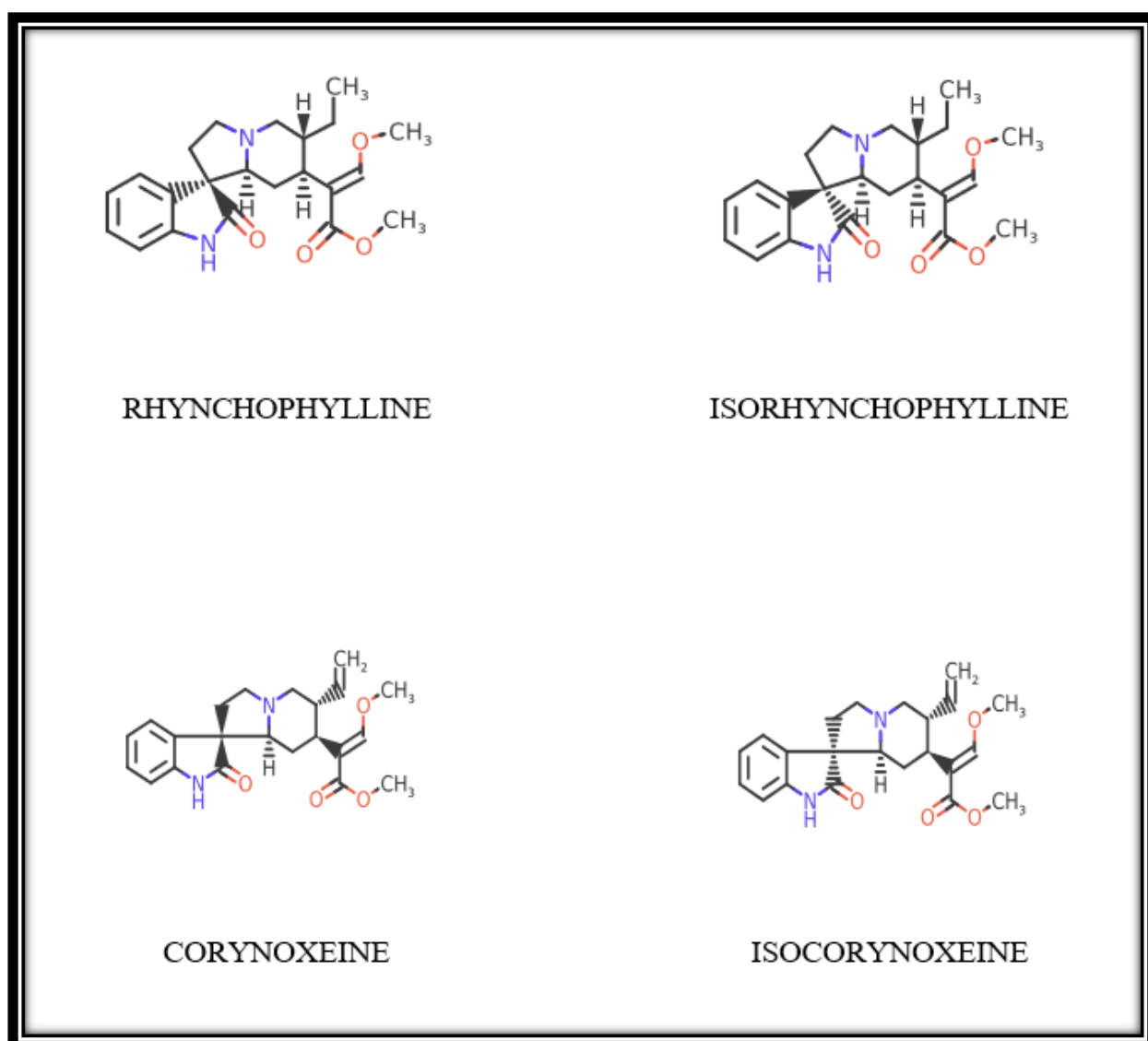


Figure 12: Rhynchophylline, Corynoxéine et leurs isomères respectifs correspondent aux 4 TOA d'*Uncaria tomentosa*

b) Autres alcaloïdes :

(1) Alcaloïdes indoliques :

Ils n'ont pas ou peu d'intérêt et seront donc juste mentionnés dans le tableau suivant.

Tableau II: Alcaloïdes indoliques d'*Uncaria tomentosa*

Pentacyclique	Tétracyclique
Akuammigine Tetrahydroalstonine Isoajmalicine	Hirsutine Hirsutéine Corynanthéine Dihydrocorynanthéine

(2) Alcaloïde précurseur :

La strictosidine est le précurseur de biosynthèse des alcaloïdes indoliques et oxindoles mais n'a pas d'effet thérapeutique.

(3) Autres alcaloïdes minoritaires:

-(Iso)Rotundine

-Harmine

## 2. Extraction, identification :

a) Méthode d'extraction :

L'extraction des alcaloïdes est basée sur leur propriété d'exister sous forme de base non ionisée en milieu alcalin ou sous forme de sel ionisé en milieu acide en raison de la présence de l'atome d'azote dans leurs structures :

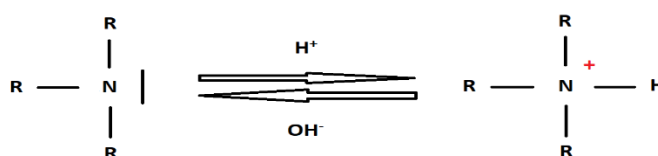


Tableau III: Solubilité des formes protonées (ionisées) et déprotonées (non ionisées) des alcaloïdes en fonction de la polarité des solvants

	Forme sel ionisée	Forme base non ionisée
Solvant polaire	+	-
Solvant non polaire	-	+
Alcool	+	+
Eau	+	-

+ : soluble / - : insoluble

En faisant varier le pH du milieu, la solubilité des alcaloïdes varie et il existe 3 façons de les extraire :

- Extraction par un solvant organique non polaire en milieu basique (Navarro Hoyos et al., 2015).
- Extraction par un solvant organique polaire en milieu acide (Kośmider et al., 2017).
- Extraction par de l'eau acide

Il est également possible de les extraire avec un solvant alcoolique (Ganzera et al., 2001) et de les caractériser par des réactions de précipitation en pulvérisant un échantillon avec certains réactifs iodés (Mayer, Dragendorff et Bouchardat).

## b) Méthode d'identification :

Pour l'identification et la quantification des alcaloïdes, on utilise:

- Chromatographie liquide haute performance (CLHP) ou la chromatographie sur couche mince (CCM)
- Résonance magnétique nucléaire (RMN)
- Spectrométrie de masse (SM)

RMN et SM servent principalement à identifier les molécules et leurs structures tandis que la CLHP permet également de les quantifier. Elles peuvent être couplées (couple CLHP-SM qui permet de séparer les différents alcaloïdes en donnant un rapport m/z caractéristique du composé pour chaque pic).

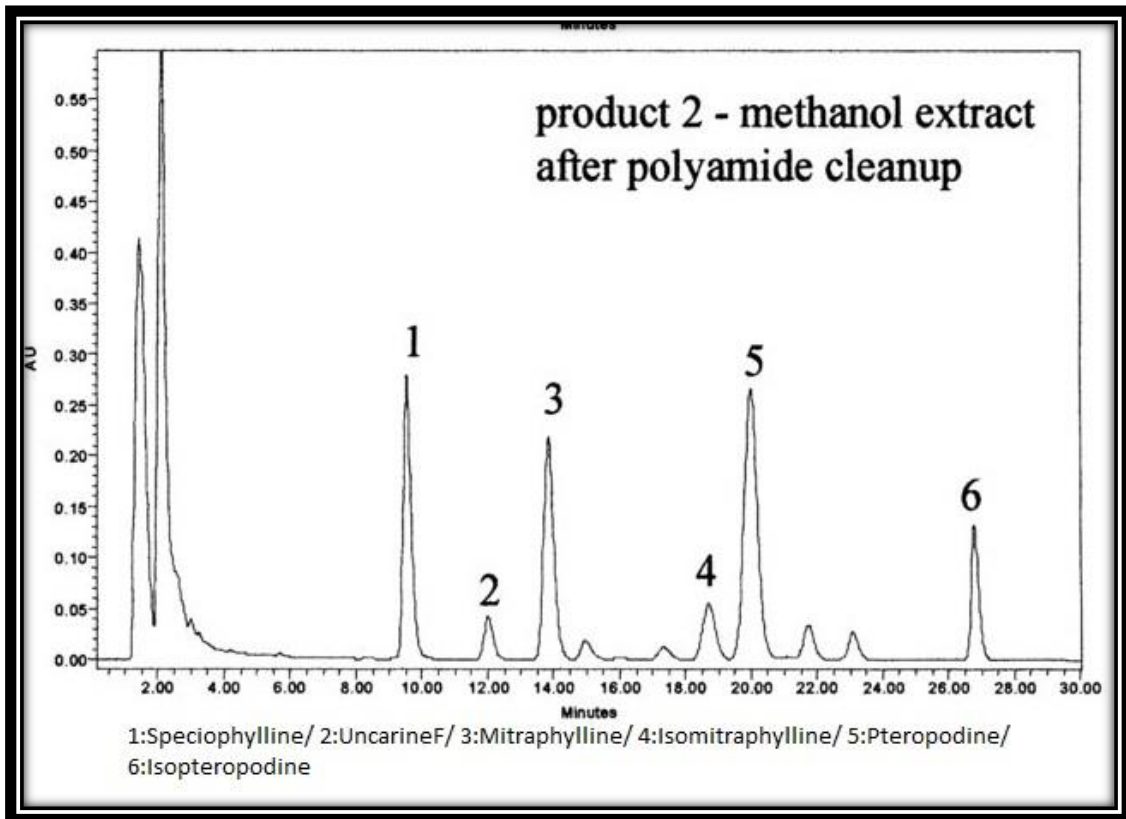


Figure 13: Chromatogramme d'un extrait méthanolique d'écorce d'*Uncaria tomentosa* avec présence de 6 pics représentant les 6 POA (Ganzera et al., 2001)

### 3. Propriétés physico-chimiques :

A température ambiante, les alcaloïdes non oxygénés (indolique) se retrouvent à l'état liquide tandis que les alcaloïdes oxygénés (oxindole) se retrouvent à l'état solide cristallisé. Ils sont rarement colorés mais dévient la lumière polarisée.

Leur solubilité dépend de l'électronégativité de l'atome d'azote présent dans leurs structures : protonés en milieu acide, les solvants polaires solubilisent les alcaloïdes. Déprotonés en milieu alcalin, ils sont alors miscibles dans les solvants apolaires.

Les alcaloïdes ont de fortes activités pharmacologiques. Il en découle des propriétés thérapeutiques nombreuses. Dans le cas d'*Uncaria tomentosa*, les POA ont des propriétés anti-inflammatoires, anticancéreuses et surtout immunostimulantes entre autres. Les TOA ont des effets qui antagonisent ceux des POA. De cette activité pharmacologique importante peut aussi découler des risques de toxicité. En provoquant une diminution du rythme cardiaque, les TOA sont potentiellement cardiotoxiques. Ainsi, l'utilisation de l'écorce de la plante est d'autant plus sûre et efficace que les teneurs en POA et TOA sont respectivement hautes et faibles.



## 4. Particularités structurales :

### a) Précurseur des alcaloïdes :

Les alcaloïdes indoliques et oxindoles de la liane sont de type hétéroyohimbiq. Plusieurs voies de biosynthèse permettent de les obtenir. L'un des précurseurs est la strictosidine, alcaloïde issu de l'assemblage d'une molécule de secogolanine et d'une molécule de tryptamine (Jean, 2009).

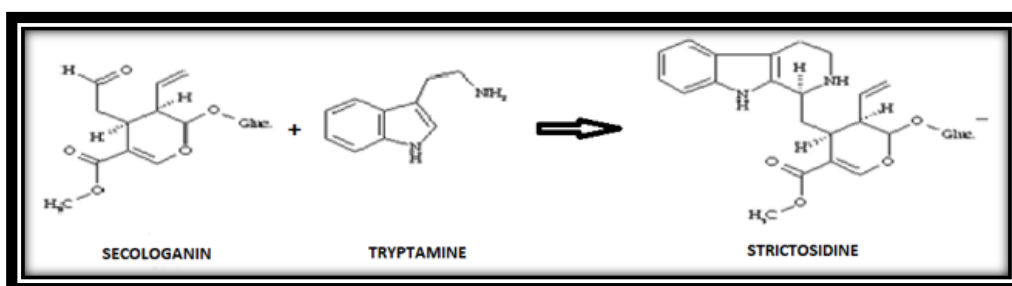


Figure 14 : Réaction de synthèse de la strictosidine, précurseur des alcaloïdes indoliques et oxindoles

La strictosidine se transforme entre autres en hétéroyohimbane, structure à partir de laquelle dérivent les alcaloïdes pentacycliques de la plante et en secoyohimbane pour les alcaloïdes tétracycliques (Manske, 1973).

### b) Isomérisation :

#### (1) Isomérisation entre le cycle B et le cycle C :

Les alcaloïdes d'*Uncaria tomentosa* sont basés sur un noyau indole ou son dérivé oxydé, le noyau oxindole dont les 2 cycles constituent le cycle A et le cycle B de leurs structures.

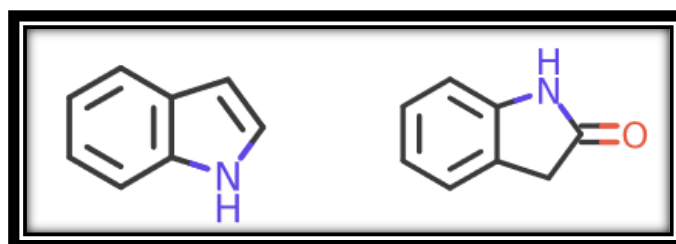


Figure 15: Noyau indole et oxindole

Lorsqu'il est incorporé au cycle C, ce noyau peut s'insérer de 2 manières donnant lieu à une isomérisation. La liaison du noyau oxindole au cycle C donne par exemple la pteropodine ou l'isoptéropodine.

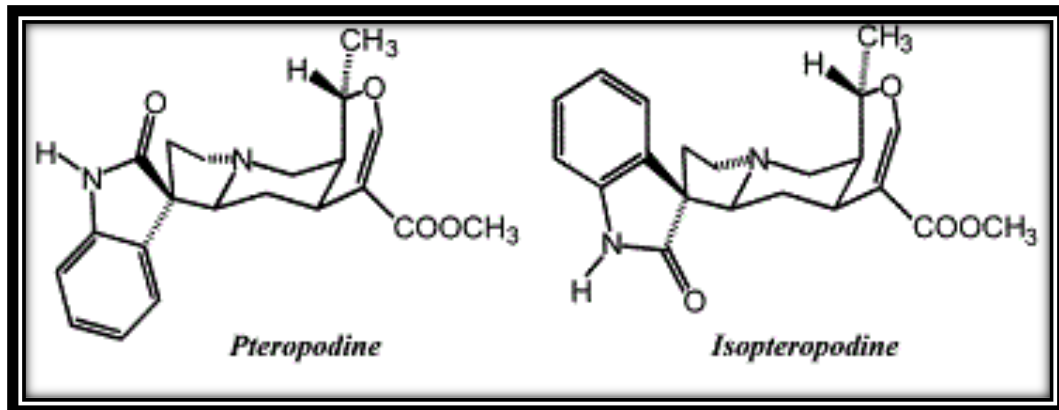


Figure 16: Illustration de l'isomérisation réversible des POA liée à l'insertion du noyau oxindole

L'isomérisation d'un composé peut augmenter ou diminuer son activité. Les évaluations des propriétés pharmacologiques d'un composé spécifique peuvent être faussées lorsqu'apparaît son isomère. Par exemple, la concentration initiale de speciophylline peut chuter à 5% de sa valeur après seulement 2 heures à 37°C au profit de l'apparition de son isomère (speciofiline).

D'après *Keplinger* (1999), le mécanisme de l'isomérisation consiste en l'ouverture, la rotation puis la fermeture de l'anneau de retro-mannich. L'isomérisation est de plus fonction de la polarité puisqu'elle diminue avec la protonation du solvant et donc avec la diminution de sa polarité (Keplinger et al., 1999).

## (2) Isomérisation entre le cycle D et le cycle E :

Une deuxième isomérisation dans la structure des POA se situe entre les cycles D et E. Elle donne lieu à une isomérisation cis/trans constitutive. Elle est détaillée dans le chapitre suivant car elle intervient dans la formation de chimiotypes.

### c) Chimiotypes :

La répartition des alcaloïdes est variable. Des travaux ont toutefois montré la tendance d'*Uncaria tomentosa* à former 2 chimiotypes, l'un à prédominance de POA et l'autre à prédominance de TOA (Keplinger et al., 1999). D'autres études ont montré que le chimiotype POA tend lui-même à former 2 sous chimiotypes, concluant ainsi à l'existence de 3 chimiotypes.

Les 2 sous-chimiotypes de POA (chimiotypes 1 et 2) proviennent de l'existence d'une isomérisation cis/trans au niveau de la liaison entre le cycle D et le cycle E, respectivement le 4<sup>ème</sup> et le 5<sup>ème</sup> cycle des POA. Il y aura donc des POA de la conformation trans ou cis.

Cette isomérisation est constitutive du composé. La bioconversion trans vers cis ou inversement amène à un changement de composé et non à un isomère. Par exemple, la pteropodine et l'isopteropodine possèdent une jonction cis alors que la mitraphylline et l'isomitraphylline possèdent une jonction trans.

Le chimiotype 1 est ainsi essentiellement composé des POA avec jonction cis (pteropodine, isopteropodine, speciophylline, speciofiline) tandis que le chimiotype 2 des POA avec jonction trans (mitraphylline et isomitraphylline). Etant donné que cette isomérisation n'intervient qu'entre le 4<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> cycle, elle ne touche pas les TOA, composants majoritaires du chimiotype 3, qui ne sont composés que de 4 cycles.

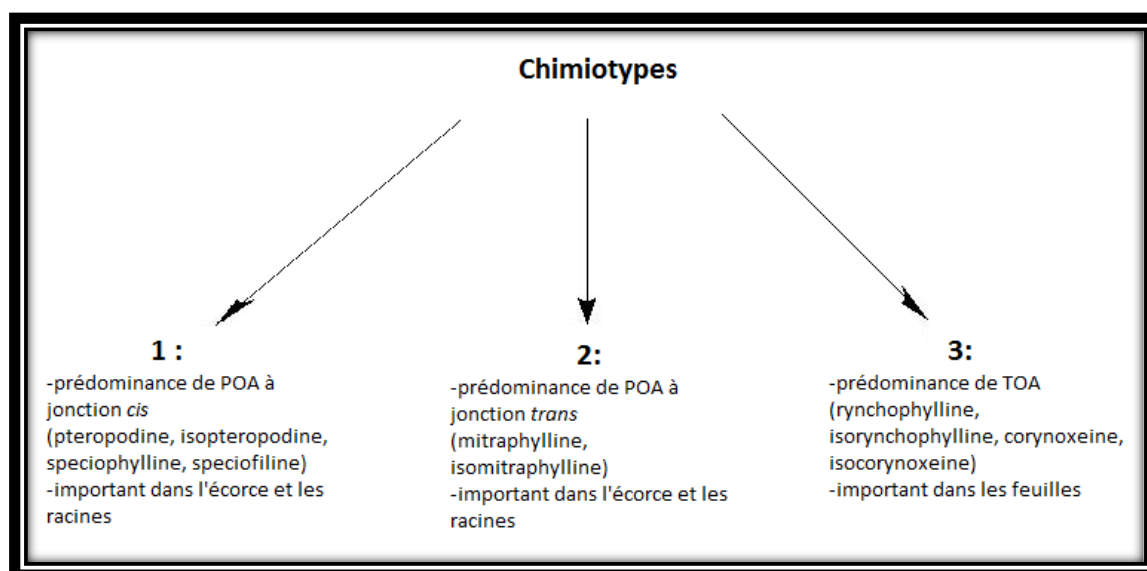


Figure 17: Les alcaloïdes tendent à se répartir dans la plante selon 3 chimiotypes. Les TOA prédominent dans le chimiotype 3. Les POA prédominent dans les chimiotypes 1 et 2 qui diffèrent par l'existence d'une isomérisation entre le 4<sup>ème</sup> cycle et le 5<sup>ème</sup> cycle des POA.

Le chimiotype 3 à prédominance TOA se localise principalement dans les feuilles. Le ratio chimiotype POA/TOA est aux alentours de 1 :1 dans les feuilles et de 6 :1 dans l'écorce et les racines (supérieur à 6 :1 en saison sèche).

L'explication provient de la bioconversion des TOA en POA au fur et à mesure que les alcaloïdes sont transportés dans le phloème (sève élaborée) de leur lieu de biosynthèse, c'est-à-dire les feuilles où ils sont fabriqués en quantité équivalente, jusqu'à leur lieu de stockage que sont les racines et l'écorce.

La conséquence en est la forte teneur en TOA dans les feuilles par rapport aux autres organes de la plante. Même si elles présentent la plus forte teneur en alcaloïdes totaux, cette propriété est un frein important à l'utilisation des feuilles en thérapeutique et explique pourquoi elles ne sont pas ou peu retrouvées dans les produits commerciaux.

#### d) Variation chimique-Répartition dans la plante :

Le profil en alcaloïdes n'est pas fixe de sorte que les études montrent parfois des chromatogrammes qui diffèrent. Cette variabilité de répartition est entre autres fonction de la saison (sèche ou des pluies), de l'altitude, de la localisation géographique ou encore de l'organe de la plante.

##### (1) Au niveau des feuilles :

Les feuilles présentent la teneur massique en alcaloïdes totaux la plus élevée (0,40 à 4,80 % m/m) avec une teneur en POA entre 0,04 et 2,20 % m/m d'après *Penazola et al.* (2015). Elles présentent également la concentration en TOA la plus forte par rapport aux autres organes (teneur entre 0,003 à 4,40 % m/m) (Peñaloza et al., 2015).

D'après *Keplinger et al.* (1999) et d'autres équipes de scientifiques, elles sont riches en rhynchophylline et isorhynchophylline (TOA) mais, selon les cas, également en pteropodine, mitraphylline, isomitraphylline, dihydrocorynantheine, hirsutine et hirsuteine. Il a été rapporté l'isolement de (iso)rotundine, un alcaloïde mineur.

La présence des chimiotypes TOA diminue avec l'altitude de sorte que les spécimens évoluant sous 220 m asl présentent un ratio TOA/POA plus élevé que les autres. L'humidité modifie la concentration des POA des feuilles puisque cette concentration est accrue lors de la saison des pluies (à l'inverse des racines et de l'écorce).

## (2) Au niveau de l'écorce de tige :

D'après *Penazola et al.* (2015), la teneur en alcaloïdes totaux s'échelonne entre 0,3 et 2,6 % m/m avec une nette prédominance des POA (entre 0,06 à 2,58 % m/m contre 0,001 à 1 % m/m pour les TOA).

Dans l'écorce se retrouvent préférentiellement pteropodine, speciophylline, speciofiline et isomitraphylline. Comme pour les racines, la concentration en POA de l'écorce est la plus élevée lors de la saison sèche alors que la concentration en TOA ne subit pas de variations et reste faible tout au long de l'année.

La concentration en OA total et le ratio POA/TOA dans l'écorce et les racines sont donc accrus lors de la saison sèche qui correspond à la période de récolte optimale en vue de l'utilisation thérapeutique de la liane.

## (3) Au niveau des racines :

*Stuppner et al.* (1992) et *Keplinger et al.* (1999) confirment la présence des 6 POA comme alcaloïdes majeurs et le caractère exceptionnel des TOA dans les racines.

La concentration en POA des racines s'accroît de la saison des pluies à la saison sèche. Son contenu qualitatif en alcaloïdes est similaire à celui de l'écorce de tige avec une prédominance globale de la ptéropodine et de l'isomitraphylline. Selon *Alvarenga et al.*, la racine est quantitativement moins concentrée en alcaloïde que l'écorce, tandis que d'autres chercheurs affirment le contraire.

*Reinhard* et ses collègues (1999) observent, dans les racines de plusieurs spécimens de la liane récoltés au Pérou sur plusieurs années consécutives, une teneur totale en OA entre 1,5% et 3,5% m/m. Les chimiotypes POA sont plus de 10 fois plus concentrés en POA qu'en TOA. Les chimiotypes TOA sont en faible proportion mais présentent une forte teneur en TOA (environ 3% m/m).

## **B. Polyphénols :**

Plusieurs travaux de recherche ont été menés sur les polyphénols d'*Uncaria tomentosa*, composants sous-estimés au profit des alcaloïdes et qui n'avaient été que peu étudiés jusque-là.

Selon *Navarro-Hoyos et al.*(2015) , il a été retrouvé 32 polyphénols de bas poids moléculaire dans la plante répartis en 2 groupes : les composants de type non-flavonoïdes et de type flavonoïdes. Puis en 2017, ces mêmes scientifiques se sont intéressés aux polyphénols de haut poids moléculaire, ou polymères de type proanthocyanidines (Navarro-Hoyos et al., 2017).

Des corrélations ont été rapportées entre la présence de ces constituants et certaines propriétés thérapeutiques (notamment l'effet antioxydant), soulignant le potentiel thérapeutique non négligeable des polyphénols.

### **1. Structure chimique :**

#### **a) Polyphénols de bas poids moléculaire :**

##### **(1) Non flavonoïdes : Acides phénoliques et dérivés**

*Tableau IV: Polyphénols non flavonoïdes d'Uncaria tomentosa*

<b>Acide (hydroxy)benzoïque</b>	<b>Acide (hydroxy)cinnamique</b>
Acide benzoïque	Acide caffeique
Acide salicylique	Acide coumarique
Acide parahydroxybenzoïque	Acide felurique
Acide protocatechique	Acide isofelurique
Acide gallique	
Acide vanillique	
Acide syringique	

Les dérivés de ces acides sont aussi retrouvés dans la plante comme par exemple l'epigallocatechine gallate qui est un dérivé de l'acide gallique.

Les acides hydroxycinnamiques peuvent être estérifiés à un acide quinique pour former l'acide chlorogénique, composant important de la plante.

(2) Flavonoïdes :

On retrouve des flavonols, des flavalignanes et surtout des flavan-3-ols (et leurs dérivés).

(a) Flavonol:

Les Flavonols qui ont été retrouvés sont la quercétine ( $C_{15}H_{10}O_7$ ;  $Mr = 302,2357 \text{ g.mol}^{-1}$ ) et la myricétine ( $C_{15}H_{10}O_8$ ;  $Mr = 318,2351 \text{ g.mol}^{-1}$ ).

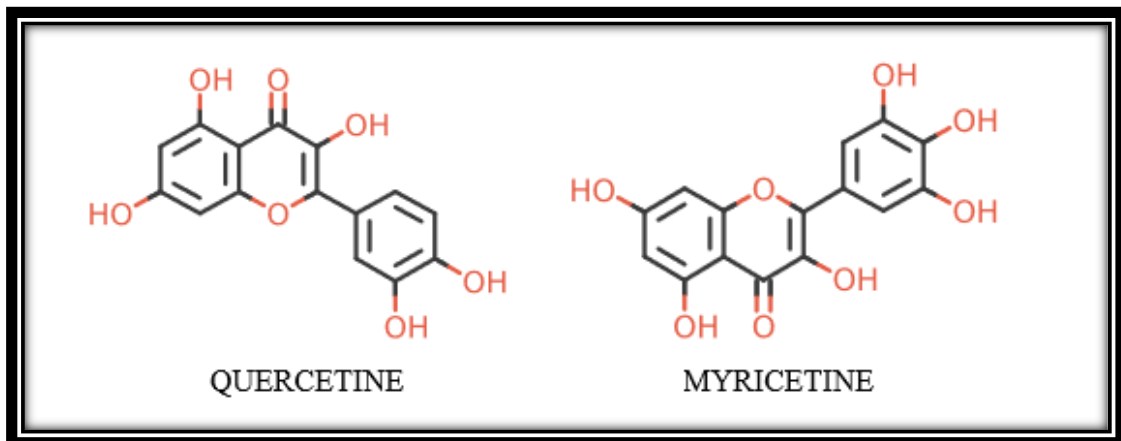


Figure 18 : Structures de la quercétine et de la myricétine basées sur un noyau 2-phenylchromone

(b) Flavan-3-ols :

Ils peuvent être retrouvés sous forme de monomères ou bien condensés en oligomères.

(i) *Catechine et épicatechine:*

- Monomère:  $C_{15}H_{14}O_6$

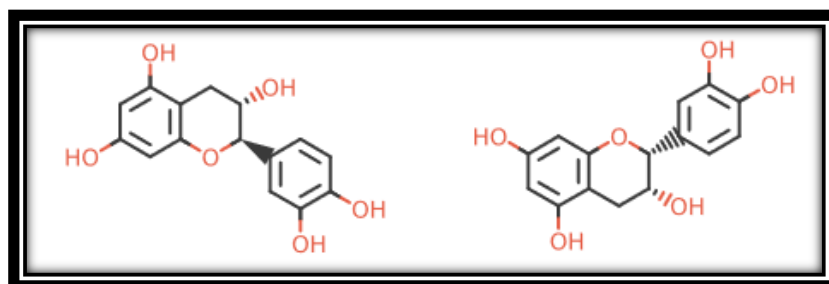


Figure 19: Structure de la catechine et de l'épicatechine

- Catechine condensées : **Procyanidine**
  - Dimère de catechine : procyanidine B, B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7
  - Trimère de catechine : procyanidine C1, T2 et autres structures

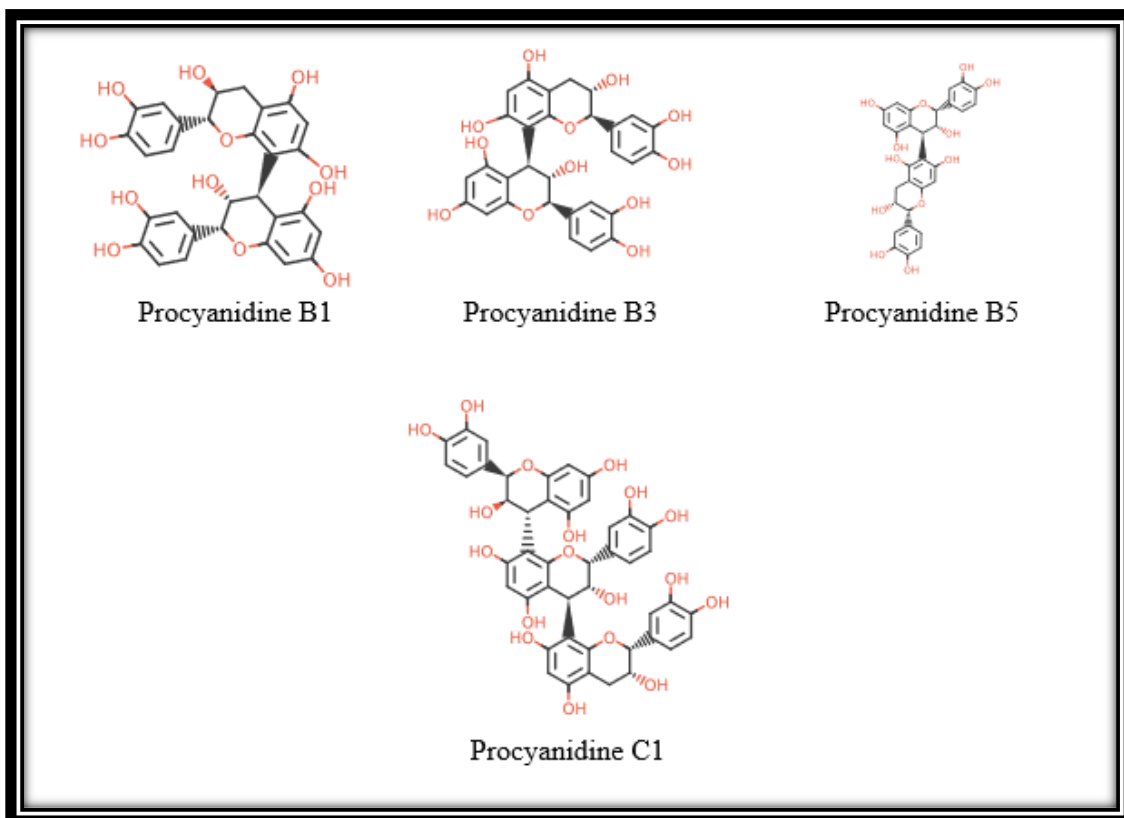


Figure 20: Exemple de dimères et de trimères de Procyanidine

(ii) Afzelechine et isoafzelechine :

- Monomère :  $C_{15}H_{13}O_5$

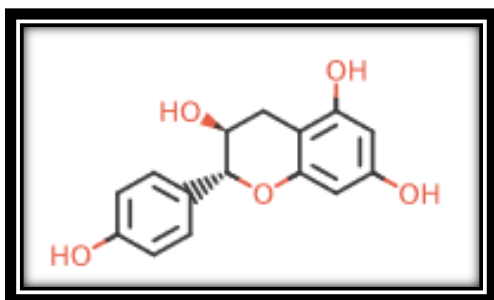


Figure 21: Structure de l'Afzelechine

La structure est basée sur le même noyau que la catechine (2-phenylchromane) avec une fonction hydroxyle en moins. La différence de masse molaire permet l'identification des différents polymères de proanthocyanidines en spectrométrie de masse (pic m/z différent).



- Afzelechine condensées : **Propelargonidine**

(c) Flavalignanes : Cinchonain

Les cinchonains consistent en l'association d'une catechine et d'un phenylpropanoide.

b) Polyphénols de haut poids moléculaire :

Ce sont les polymères de **proanthocyanidines** ou **tanins condensés** (flavonoïdes). Dans *Uncaria tomentosa*, ils correspondent à l'assemblage de catechine et/ou d'afzelechine à un degré de polymérisation allant de 3 à 11 unités. Ils sont les principaux polyphénols de la plante et lui confèrent des propriétés antiradicalaires (complexation des espèces réactives).

Ces oligomères peuvent être purs, n'étant composés que de catechine ou que d'afzelechine, ou bien mixtes renfermant les 2 composés à un ratio variable. On parlera respectivement de procyanidine, de propelargonidine ou de proanthocyanidine mixte. A titre d'exemple, les proanthocyanidines à 5 unités donnent 6 pics de rétention sur les chromatogrammes correspondants aux 6 assemblages possibles : catechine-afzelechine (5:0 / 4:1 / 3:2 / 2:3 / 1:4 / 0:5).

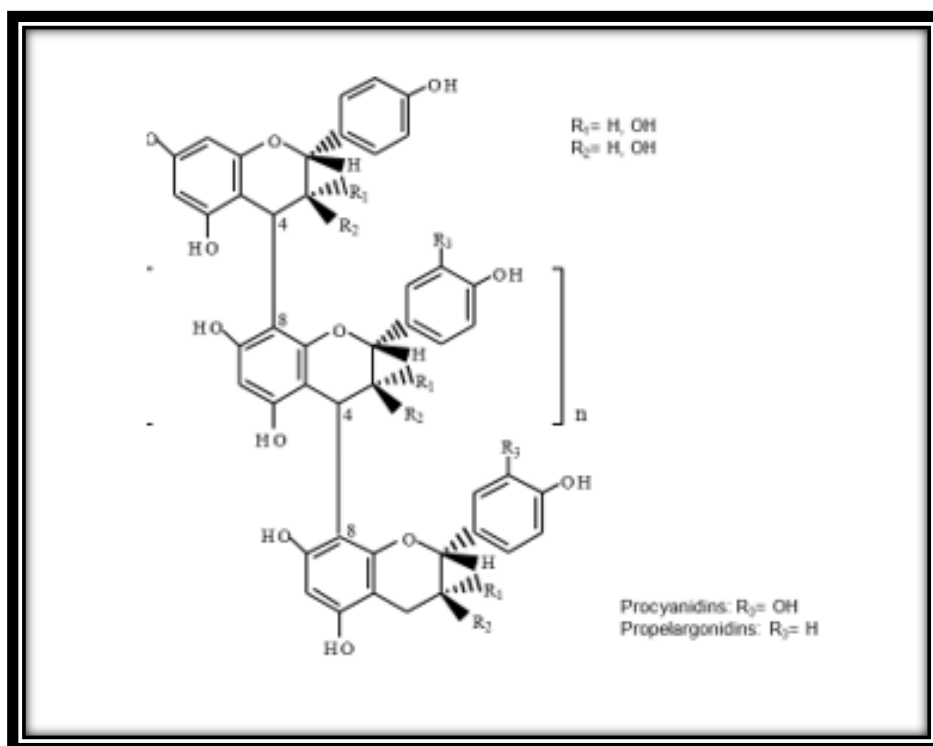


Figure 22: Structure des proanthocyanidines de haut poids moléculaire

## 2. Extraction et identification :

### a) Extraction :

Des solvants polaires sont souvent utilisés en notant que l'eau possède un rendement d'extraction inférieur à l'alcool (Navarro et al., 2017).

Les génines de flavonoïdes sont toutefois moins polaires et peuvent nécessiter l'utilisation de solvants apolaires (éther ou chloroforme par exemple) à l'inverse de leurs hétérosides qui ont une bonne solubilité dans les solvants aqueux.

Les différentes classes de polyphénols n'ayant pas le même degré de polarité, certaines extractions utilisent un mélange de solvants à polarité différentielle pour les séparer. L'hydrophobie augmente avec le degré de polymérisation des proanthocyanidines (Moraes et al., 2017).

### b) Identification :

Comme pour les autres composants, l'association de la CLHP, de la spectrométrie de masse et de la RMN est nécessaire pour l'identification structurale.

Des pics  $m/z$  caractéristiques sont obtenus sur les chromatogrammes : les monomères de (epi)catechine ont un pic  $m/z$  égal à 289, les dimères de procyanidines et propelargonidines ont des valeurs  $m/z$  de 577 et 561 respectivement. Les trimères de procyanidines ont une valeur  $m/z$  égale à 865 et les flavalignanes ont une valeur  $m/z$  égal à 451.

L'ajout d'un analyseur de type MALDI-TOF permet une meilleure résolution dans les gammes de plus hautes masses moléculaires ( $> 1000$  Da) et il est donc utile pour l'identification des tanins condensés dont les pics  $m/z$  caractéristiques s'élèvent jusqu'à des valeurs supérieures à 3100 (pour les tanins à DP=11) (Navarro-Hoyos et al., 2017).

### c) Caractérisation et dosage :

#### (1) Contenu total en polyphénols :

Il se fait par l'utilisation du réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est composé d'un mélange d'acide phosphomolybdique et phosphotungstique, qui lorsqu'ils sont réduits, comme c'est le cas avec les polyphénols, acquièrent une coloration bleue qui peut être mesurée par absorbance aux alentours de 750 nm.

#### (2) Contenu total en proanthocyanidines :

Il se fait par l'utilisation de la méthode de Bate-Smith. Cette réaction consiste en l'hydrolyse acide des liaisons interflavaniques de type B des proanthocyanidines dans un milieu chauffé (90°C) et acide (HCl). L'absorbance à 550 nm est ensuite comparée à un standard de type monomère flavan-3-ol.

#### (3) Caractérisation des tanins condensés :

Ils sont caractérisés par des réactions de précipitation. Parmi elles, il y a la réaction colorimétrique avec le perchlorure de fer ou encore la méthode de la vanilline qui forme un composé rouge en présence de tanins condensés et permet le dosage par absorbance.

### **3. Propriétés physico-chimiques :**

Les polyphénols sont détenteurs d'un pouvoir réducteur qui explique leur effet anti-oxydant. En cédant l'hydrogène de leurs fonctions hydroxyles aux espèces radicalaires, l'anion qui en résulte est stabilisé par un effet de résonance (cycles benzènes dans leurs structures).

Les acides phénoliques sont solubles dans les solvants polaires tels que l'eau, l'alcool ou le mélange hydroacétone. La solubilité et la polarité des tanins condensés varient avec le nombre de fonctions hydroxyles, leur estérification et leur degré de polymérisation.

Les oligomères de proanthocyanidines sont instables. Dans un milieu chaud et acide, il peut y avoir lyse des liaisons interflavaniques et décomposition de la molécule en monomères flavan-3-ols (catechine ou afzelechine).

Au sein des végétaux, les formes hétérosides se retrouvent stockées dans les vacuoles tandis que les aglycones, moins solubles, se retrouvent davantage dans la cuticule où ils jouent un rôle de barrière protectrice contre les UV, les bactéries ou les champignons. Les flavonoïdes sont contenus essentiellement chez les Angiospermes.

En thérapeutique, les polyphénols possèdent surtout des propriétés antioxydantes. Ils sont également protecteurs cardio-vasculaires. Ils diminuent en effet la perméabilité des capillaires, sont vasodilatateurs, anti-agrégants plaquettaires et protègent contre l'athérosclérose.

Leurs effets vasculoprotecteurs et veinotoniques sont utilisés dans la prévention post-infarctus et les troubles veino-lymphatique. A titre d'exemple, les spécialités pharmaceutiques Esberiven® (hétéroside de la quercétine : le rutoside) ou encore Daflon® (Flavonoïdes) sont indiquées dans les troubles de retour veineux.

Des chercheurs ont aussi démontré l'activité anticancéreuse et antibactérienne des polyphénols d'*Uncaria*.

## 4. Particularités structurales :

### a) Structures de base :

#### (1) Pour les non flavonoïdes :

La structure de base des acides phénoliques d'*Uncaria tomentosa* est basée sur un noyau phénolique de type C6-C1 pour les acides hydroxybenzoïques et de type C6-C3 pour les acides hydroxycinnamiques.

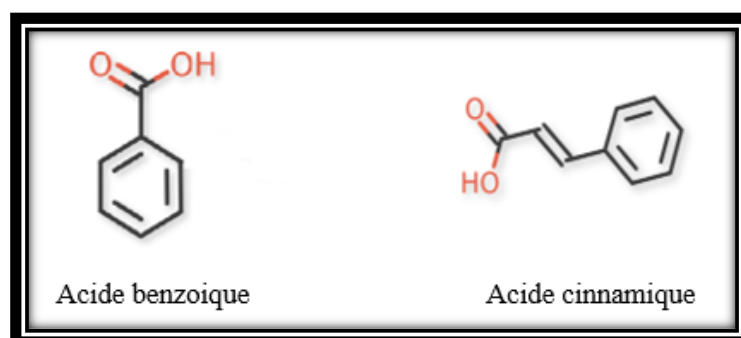


Figure 23: Noyaux phénoliques précurseurs des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques

Ces acides peuvent être estérifiés ou glycosylés. L'estérification des acides hydroxycinnamiques avec les acides quiniques forme l'acide chlorogénique.

(2) Pour les flavonoïdes :

Leur structure de base correspond à un noyau phénylchromane précurseur des flavanes (ou le dérivé oxydé phénylchromone précurseur des flavones) composé d'un assemblage de 2 cycles conjugués (cycles A et C) formant le chromane (ou chromone) substitué par un phényl (cycle B).

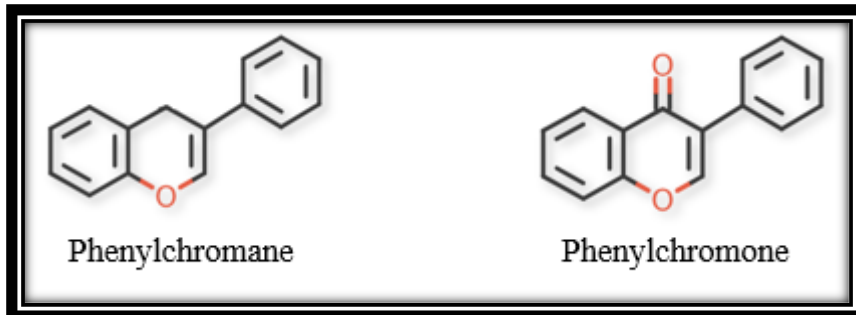


Figure 24: Structure de base des Flavonoïdes d'*Uncaria tomentosa*

(3) Isomérisation :

L'isomérisation des flavan-3-ols provient de l'insertion du cycle B sur la base chromane (configuration : trans pour catechine et afzelechine / cis pour epicatechine et epiafzelechine).

(4) Les liaisons interflavaniques des tanins :

Les monomères sont liés par des liaisons interflavaniques de type B soit (4 $\alpha$ -6) ou (4 $\alpha$ -8).

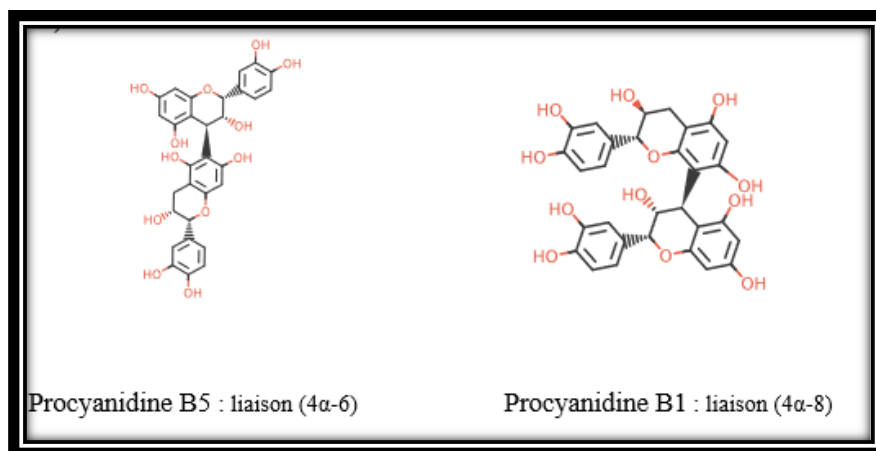


Figure 25: Illustration des 2 types de liaisons interflavaniques de type B

## b) Variabilité et répartition chimique :

### (1) Répartition chimique :

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties de la plante mais il y a des variations chimiques entre autres en fonction de la localisation géographique et de la partie de la plante. Le degré de polymérisation (DP) et la complexité des flavonoïdes diminuent des parties aériennes vers les racines. Les branches renferment la plus faible quantité de polyphénols.

#### (a) Les feuilles :

Elles présentent la plus forte concentration en polyphénols suivies de l'écorce de tige et sont caractérisées par la présence d'homopolymères de propylargonidine et de proanthocyanidines à ratio afz/cat élevé et de DP>10. Ce qui explique leurs fortes activités antioxydantes et anticancéreuses constatées par *Navarro-Hoyos et al.* (2017). Elles renferment préférentiellement des monomères et dimères de flavan-3-ols (notamment procyanidine B4), des flavalignanes et des proanthocyanidines mixtes.

#### (b) Ecorce de tige :

L'écorce contient préférentiellement epicatechine, procyanidine (notamment B2), proanthocyanidines mixtes à DP=11 avec un rapport afz/cat faible et des flavalignanes. Les acides hydroxybenzoïques y sont plus caractéristiques que dans les feuilles.

### (2) Exemples de teneurs :

Selon *Navarro-Hoyos et al.* (2015) la teneur en polyphénols des feuilles peut atteindre 6 % m/m avec plus de 2/3 de proanthocyanidines. L'écorce en contient un peu moins avec une teneur variant entre 1 et 5,5 % m/m. Les branches de la liane contiennent la teneur la plus faible (inférieure à 1,5 % m/m). L'acide chlorogénique et les tanins condensés apparaissent comme les polyphénols majoritaires.

D'autres travaux ont montré une teneur en polyphénols inférieure à 1 % m/m pour chaque partie (la feuille et l'écorce restant toutefois les plus concentrées) (*Peñaloza et al.*, 2015).

## **C. Triterpènes et phytostérols :**

*Uncaria tomentosa* renferme des triterpénoïdes pentacycliques, ainsi basés sur un squelette à 30 carbones et 5 cycles et leurs dérivés phytostérols à 4 cycles.

En association avec les autres composants, ils confèrent à la plante des propriétés anti-inflammatoires, anti-infectieuses et anticancéreuses.

### **1. Structure chimique :**

#### **a) Triterpénoïdes pentacycliques :**

Les triterpénoïdes pentacycliques d'*Uncaria tomentosa* sont substitués par une ou deux fonctions carboxyliques et sont donc des acides. Ils peuvent être distingués en fonction de leurs structures de base (alpha ou bêta-amyrine) et subsistent sous forme libre (génine) ou bien sous forme glycosylée (hétéroside).

#### **(1) Dérivés de l'alpha-amyrine :**

##### **(a) Acide quinovique et analogues :**

(C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>O<sub>5</sub>; Mr = 486.693 g.mol<sup>-1</sup>)

Les travaux entrepris sur les fractions purifiées d'acides quinoviques de la plante ont rapporté la présence de 7 pics majeurs sur les chromatogrammes (Dietrich et al., 2014). D'autres rapportent la présence de 14 pics (Pavei et al., 2012). Ils correspondent à des acides quinoviques aglycones ou mono, bi et tri-glycosylés (QAG) ainsi que dans une moindre mesure à des dérivés plus ou moins hydroxylés (Aquino et al., 1997). Les QAG sont les triterpénoïdes majoritaires de la plante (figure 26).

(b) Acide ursolique et analogues :

(C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub> ; Mr = 456.7 g.mol<sup>-1</sup>)

81 triterpénoïdes dérivés de l'acide ursolique furent découverts à la fin des années 80 par les travaux d'une équipe de chercheurs de l'université de Naples en Italie. Puis, en 1990, elle isole à partir de l'écorce 3 nouveaux triterpènes, qui après analyse structurale se révèlent être un acide ursolique hydroxylé (C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>5</sub> : pic m/z= 488,35) et 2 de ses dérivés substitués (C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>O<sub>6</sub> : pic m/z = 502 et C<sub>29</sub>H<sub>44</sub>O<sub>5</sub> : pic m/z = 472) (Aquino et al., 1990). Sept années plus tard, cette même équipe isole 2 autres dérivés d'acide ursolique (Aquino et al., 1997).

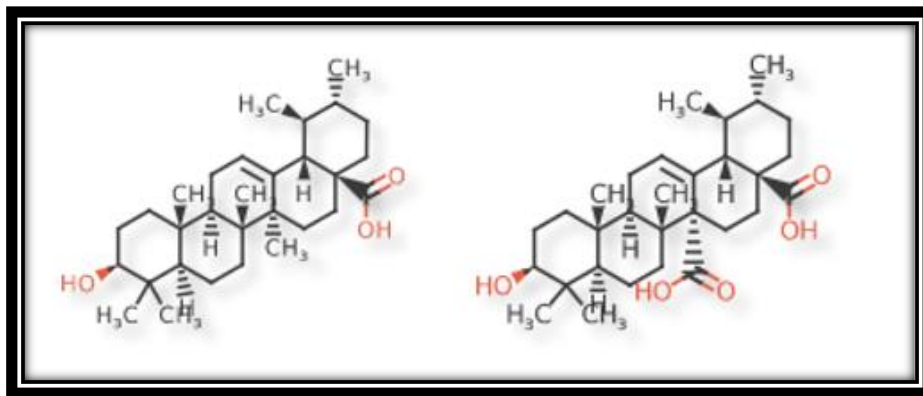


Figure 26: Triterpénoïdes dérivés de l'alpha-amyrine : Acides quinovique et ursolique

(2) Dérivés de la bêta-amyrine :

(a) Acide oléanique et analogues :

En 2004, des chercheurs japonais ont isolé dans un extrait méthanolique d'écorce, un dérivé de l'acide oléanique (C<sub>30</sub>H<sub>47</sub>O<sub>6</sub> : pic m/z = 503,33) (Kitajima et al., 2004). Il s'y trouve en faible quantité par rapport aux acides ursoliques et quinoviques.

(b) Acide cincholique et analogues :

Kitajima et al. (2004) ont aussi mis en évidence 3 glycosides d'acide cincholique : 2 diglycosylés (C<sub>42</sub>H<sub>65</sub>O<sub>14</sub> ; pic m/z = 793,4348) ainsi qu'un triglycosylé ( C<sub>48</sub>H<sub>76</sub>O<sub>19</sub> ; pic m/z = 979,4908). 2 sucres rentrent dans la composition de ces acides (le D-glucose et le D-fucose) avec des liaisons glycosidiques de type β(1 : 4) pour les chaînes disaccharidiques. Peu d'études mentionnent la présence d'acide cincholique dans la plante.



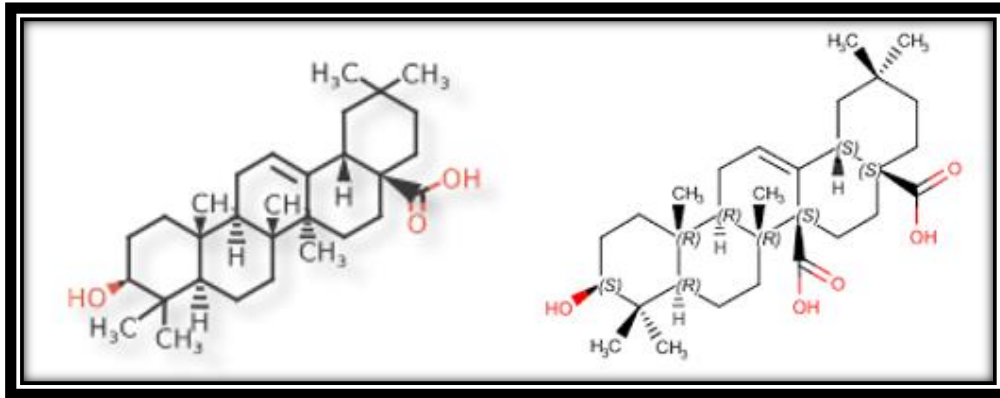


Figure 27: Triterpénoïdes dérivés de la bêta-amyrine : Acides oléanique et cincholique

### b) Les phytostérols :

Les phytostérols se retrouvent dans presque tous les végétaux. Leur structure de base, à 4 cycles, est le cycloarténol qui dérive du même précurseur que les triterpénoïdes pentacycliques (squalène). Les 3 principaux sont : stigmasterol, campesterol et bêta-sitosterol.

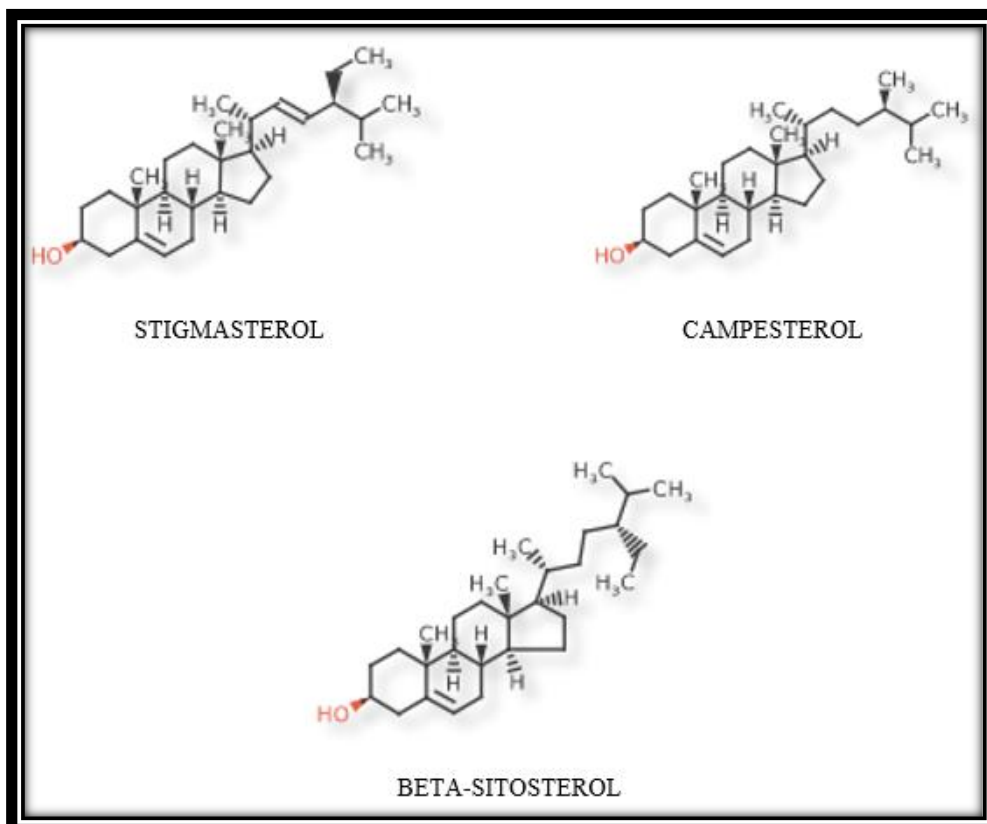


Figure 28: Les principaux phytostérols de la plante

### c) Les saponines :

Les saponines correspondent aux formes glycosylées des triterpénoïdes pentacycliques et des phytostérols. Ils se retrouvent principalement sous cette forme dans la plante.

Toutefois, en fonction de la polarité de l'extraction, leurs concentrations dans les extraits peuvent varier. Les saponines sont en effet plus hydrophyles que leurs génines.

## 2. Extraction et identification :

### a) Extraction :

Des solvants moyennement polaires (mélanges hydroalcooliques à ratio variable) et apolaires (éther et chloroforme) ont été utilisés dans les différentes études. L'utilisation d'un solvant polaire favorise l'extraction des saponines tandis qu'un solvant apolaire favorise l'extraction des formes aglycones.

Pour extraire spécifiquement les triterpénoïdes, il peut être nécessaire d'avoir recours à une purification. Par exemple, pour l'étude des propriétés anticancéreuses spécifiques des glycosides d'acide quinovique, une équipe de chercheurs brésiliens a élué un extrait d'écorce, obtenu par macération dans un solvant méthanol/eau, avec du PVPP dans le but d'éliminer les polyphénols (Dietrich et al., 2014).

*Kaiser et al.* (2013) concluent que le rendement d'extraction optimal pour les triterpénoïdes (notamment les QAG) est obtenu par macération dynamique de l'écorce d'*Uncaria* (à un ratio 0.5:10) pendant 2 heures dans un mélange hydroéthanolique à 69%.

### b) Caractérisation / Identification :

Les stérols et les triterpénoïdes peuvent être caractérisés par la réaction de Liebermann-Burchard. Il s'agit d'un test colorimétrique. Lorsque ces composés sont mis en contact avec du chloroforme, de l'acide sulfurique et de l'anhydride acétique, le milieu prend une coloration bleu-vert caractéristique qui peut être mesurée par absorbance au spectrophotomètre.

Ils peuvent également être isolés et identifiés par chromatographie sur couche mince ou liquide (CLHP) qu'il est possible de coupler à la spectrométrie de masse (CLHP-SM). Compte-tenu du caractère plutôt apolaire des terpènes, la chromatographie en phase inverse

est utilisée. L'utilisation de solvants de différente polarité permet une séparation plus nette des différents terpènes (Aquino et al., 1990).

En CLHP-SM, des valeurs de m/z correspondent aux différentes formes d'acides quinoviques. Ce composé est le terpène majoritaire de l'écorce d'*Uncaria tomentosa*.

Ainsi le pic de la forme aglycone donne une valeur m/z égale à 487. Les pics des formes mono, bi et triglycosylées donnent des valeurs égales à 650, 817 et 979 respectivement.

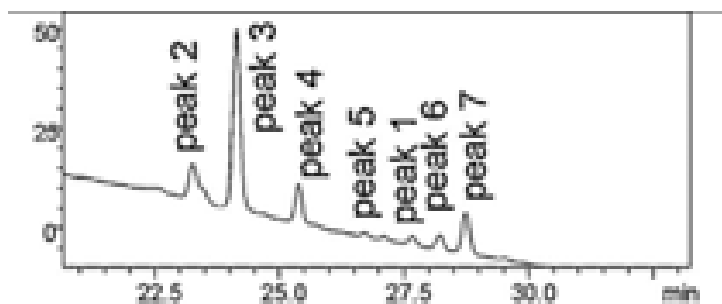


Figure 29: Chromatogramme d'un extrait hydroéthanolique d'écorce d'*Uncaria tomentosa* obtenu en CLHP-PDA. Les 7 pics correspondent à l'acide quinovique et ses formes mono, bi et triglycosylées (Kaiser et al., 2013)

### 3. Propriétés physico-chimiques :

Les terpènes confèrent à la plante ses arômes et son parfum. Ils rentrent dans la constitution de la paroi (écorce) où ils exercent un rôle protecteur (antibactérien, antiviral, antimycosique).

Les triterpénoïdes sont cristallins, incolores et optiquement actifs. Ils ont un haut point de fusion et sont stables, ce qui explique pourquoi ils sont retrouvés dans les substances fossiles. Il est donc relativement difficile de les caractériser. Les acides quinoviques de la plante ont des propriétés anti-inflammatoires, anticancéreuses et antivirales qui seront décrites dans la troisième partie.

Les phytostérols se présentent sous forme d'une poudre blanche insoluble dans l'eau mais soluble dans les solvants alcooliques. Ils présentent des propriétés hormonales avec des effets de type stéroïdiens qui sont à l'étude dans les troubles de la prostate. Les phytostérols ont également la capacité de piéger le cholestérol alimentaire et donc de réduire le LDL.

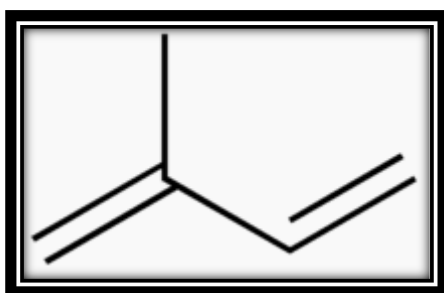
Les saponines ont un pôle hydrophile (chaîne sucrée) et un pôle plus hydrophobe (génine). Ce caractère amphiphile est responsable de réactions de saponification.

## 4. Particularités structurales :

### a) Structures de base :

#### (1) Motifs isoprènes :

L'isoprène, ou 2-méthylbuta-1,3-diène, est une molécule organique de formule brute  $C_5H_8$  présentant des liaisons conjuguées.



*Figure 30: Structure chimique de l'isoprène*

Les terpènes sont composés par l'assemblage de ce motif pour former une molécule linéaire ou cyclique. Selon la fréquence d'assemblage des motifs isopréniques se distinguent différentes familles de terpènes. Les monoterpènes sont par exemple composés de 2 motifs isopréniques (donc de 10 carbones :  $C_{10}$ ), les diterpènes de 4 motifs ( $C_{20}$ ) et les triterpènes de 6 motifs (ou encore de 3 monoterpènes :  $C_{30}$ ). Au-delà se retrouvent les polyterpènes dont le principal représentant est le caoutchouc.

## (2) Précurseurs et squelettes de base :

Les triterpènes et les phytostérols d'*Uncaria tomentosa* dérivent d'un précurseur commun qui est le squalène (intermédiaire essentiel à la synthèse des stérols).

Le squalène est un triterpène de type linéaire. Il est synthétisé par une enzyme : la squalène-synthase. Il subit ensuite l'action de la squalène monooxygénase pour donner le 2,3-époxy-squalène à partir duquel découlent les précurseurs cycliques directs des triterpénoïdes et des phytostérols.

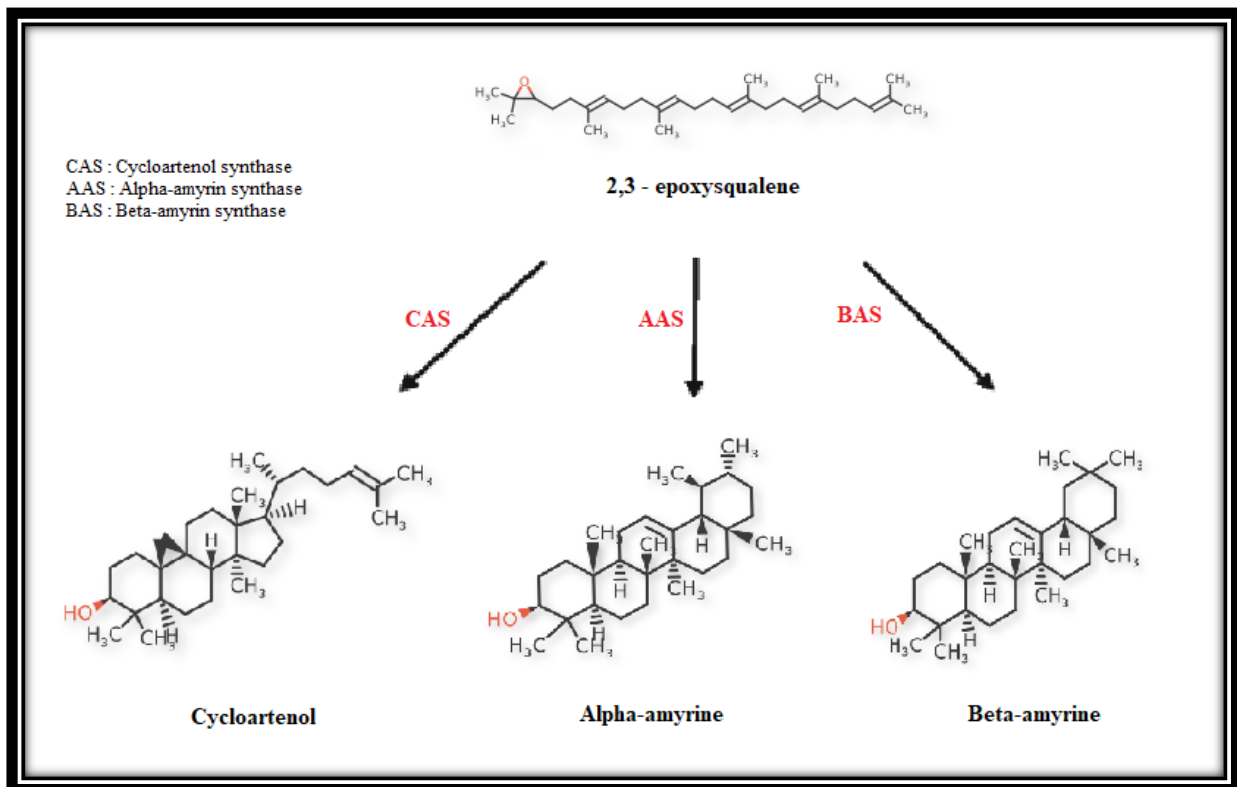


Figure 31: Voies de synthèse des précurseurs des phytostérols et des triterpénoïdes pentacycliques d'*Uncaria tomentosa*

Le cycloarténol est un triterpène tétracyclique précurseur direct des stérols. L'alpha et la bêta-amyrine qui diffèrent par l'insertion d'un méthyle sur le 5<sup>ème</sup> cycle sont des triterpènes pentacycliques précurseurs directs des différents triterpénoïdes de la plante.

La substitution de ces structures de base par un ou plusieurs groupements carboxyles donne les différents triterpénoïdes. Ainsi, de l'alpha-amyrine naissent les acides quinoviques et ursoliques et de la bêta-amyrine naissent les acides oléaniques et cincholiques.

## b) Glycosylation :

Les triterpénoïdes de la plante peuvent être mono bi ou triglycosylés ou peuvent se retrouver sous forme aglycone. Les hétérosides diffèrent par le carbone substitué, les sucres engagés et leurs enchainements dans les chaînes glycosidiques.

Les sucres présents dans leurs structures sont le glucose, le fucose, le fructose, le galactose, le quinovose ainsi que le rhamnose. Ils peuvent former des chaînes disaccharidiques liées par des liaisons  $\beta(1 : 3)$  (principalement pour les acides quinoviques) ou  $\beta(1 : 4)$ . Les substitutions ont lieu sur C<sub>3</sub>, C<sub>27</sub> et C<sub>28</sub> par l'intermédiaire des fonctions carboxyliques (liaison ester) ou des fonctions hydroxyles (liaison éther) qui y sont présentes.

## c) Variations et teneurs :

Le triterpénoïde majoritaire d'*Uncaria tomentosa* est l'acide quinovique (et ses dérivés). Dans une moindre mesure, l'acide ursolique et ses dérivés y sont aussi présents de manière récurrente. A l'inverse, les acides cincholiques et oléaniques, dérivés de la bêta-amyrine, semblent beaucoup moins fréquents.

Les triterpénoïdes sont surtout présents dans l'écorce (teneur en QAG entre 0.1 et 1 % m/m) tandis qu'ils ne sont présents qu'à l'état de trace dans les autres parties (Peñaloza et al., 2015).

## D. Autres composés actifs : les acides quiniques et analogues :

Les acides quiniques appartiennent au groupe des acides phénoliques (rattachés aux polyphénols). Ils constituent la partie active des extraits aqueux standardisés d'*Uncaria tomentosa* C-MED-100® et AC-11® qui leurs confèrent des propriétés aussi bien sur l'ADN, que sur l'inflammation ou encore l'immunité (Sheng et al., 2005).

### a) Structure chimique :

Selon l'extraction, les acides quiniques existent sous forme estérifiée ou libre (hydrolyse des esters). Dans la plante ou les extraits standardisés se retrouvent principalement les formes estérifiées.

#### (1) Acide quinique sous forme libre :

(C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> ; Mr = 192.17 g/mol)

L'acide quinique libre constitue une faible fraction des acides quiniques totaux (< 20%) contenus dans les extraits standardisés, la majeure partie se trouvant sous forme ester.

#### (2) Acide quinique sous formes ester :

En fonction de la liaison ester, il existe les esters d'acide quinique (moins de 5 % des esters totaux) ou bien des carboxy-alkyl esters (CAE).

##### (a) Esters d'acide quinique :

La fonction carboxyle de l'acide quinique est estérifiée. Elle peut l'être par ses propres fonctions hydroxyles formant l'acide quinique lactone (figure 32).

(b) Carboxy-alkyl esters (CAE):

Les acides quiniques constituent le groupement alkyl de ces esters à l'exemple de l'acide chlorogénique (estérification de la fonction carboxyle d'un acide hydroxycinnamique avec une fonction hydroxyle de l'acide quinique). Majoritaires, les CAE représentent 8 à 10 % m/m des extraits C-MED-100<sup>®</sup> et 16 à 20 % m/m des extraits AC-11<sup>®</sup>.

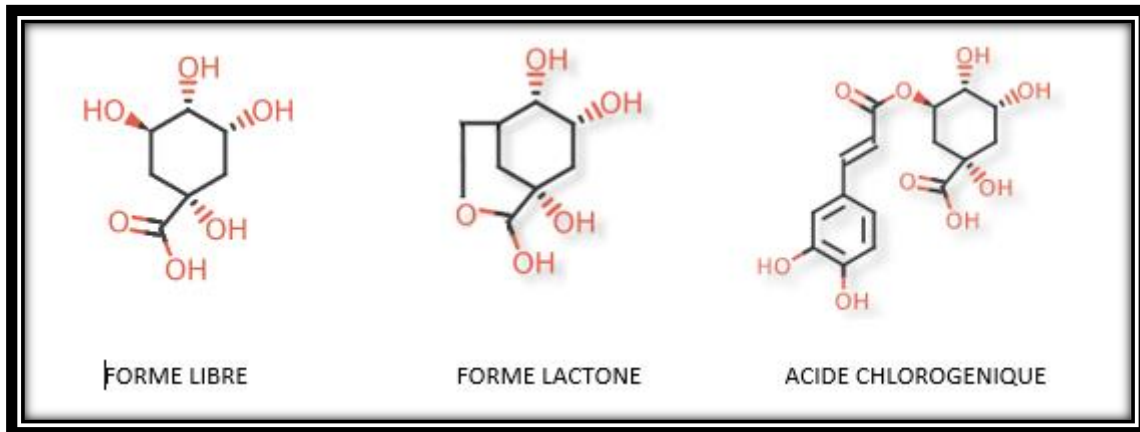


Figure 32: L'acide quinique et quelques esters

b) Extraction, analyse et propriétés :

(1) Méthode d'extraction basée sur la fabrication des extraits standardisés C-MED-100<sup>®</sup> :

Les acides quiniques et analogues sont miscibles dans les solvants aqueux. Ainsi, 150 g d'écorce de la plante sont chauffés à 95°C dans 5 L d'eau pendant 12 heures. Après décantation, la fraction soluble est récupérée puis subit une ultrafiltration dans le but d'éliminer les composants de haut poids moléculaire (comme les tanins) avant séchage. Une purification peut être nécessaire pour enlever les impuretés.

(2) Analyse et caractérisation :

Les acides quiniques et analogues des extraits purifiés peuvent être analysés par RMN et la spectrométrie de masse pour déterminer leur structure.

Les formes libres sont caractérisées par titrage acido-basique en utilisant une base, comme par exemple la soude.



Les esters d'acide quinique (fonction carboxyle estérifiée) peuvent être caractérisés par la réaction de Bartos.

L'ensemble des composés à base d'acide quinique peut être caractérisé par spectrophotométrie UV (maximum d'absorption aux alentours de 200 nm). Les CAE étant majoritaires, leur concentration peut être estimée par absorbance à 200 nm.

### (3) Propriétés physico-chimiques :

Les acides quiniques ont une saveur acide. Tout comme les tanins, ils interagissent fortement avec les protéines salivaires et la muqueuse buccale dans laquelle ils diminuent la lubrification (propriétés astringentes). Ils sont solubles dans les solvants aqueux et sont utilisés dans le secteur pharmaceutique pour synthétiser certains médicaments (comme le TAMIFLU®).

#### c) Forme libre et forme estérifiée :

Les esters d'acide quinique peuvent subir une hydrolyse acide ou basique pour donner la forme libre. Dans la plante ou dans l'extrait standardisé C-MED-100®, les acides quiniques sont sous forme estérifiée. Si une méthode d'extraction fait intervenir un acide ou une base forte, des formes libres peuvent être retrouvées dans l'extrait.

*In vivo*, l'acidité de l'estomac ainsi que les systèmes enzymatiques du microbiote intestinal provoquent une hydrolyse des composés du C-MED-100® lorsqu'il est administré par voie orale. La forme active majoritaire absorbée par l'organisme est donc la forme libre.

*In vitro*, pourtant, la forme libre des acides quiniques a montré des effets thérapeutiques bien moins prononcés que les formes esters sur l'inhibition des cellules cancéreuses HT60 (IC50 5 fois plus élevée) et il apparaît que l'activité thérapeutique serait plutôt liée aux formes esters.

Pour clore ce chapitre, les composés du métabolisme secondaire d'*Uncaria tomentosa* sont représentés par 4 grandes familles

Les principaux alcaloïdes, hétéroyohimbiqes, sont de type oxindole et sont les seuls composants mentionnés dans la monographie de la pharmacopée US. Les oxindoles pentacycliques (POA) sont thérapeutiquement actifs alors que les tétracycliques (TOA) les antagonisent et peuvent ralentir le rythme cardiaque. Une bioconversion des TOA en POA a lieu dans la sève élaborée de sorte que les feuilles sont riches en TOA tandis que les racines et l'écorce sont plus concentrées en POA. La répartition en alcaloïdes tend à former 3 chimiotypes, 2 à POA et un à TOA.

Les polyphénols sont largement représentés par les polymères de catéchine et/ou afzelechine (tanins condensés) dont la concentration est la plus forte dans les feuilles. Des acides phénoliques et des flavaliganes sont aussi retrouvés.

Les terpènes sont constitués par des triterpénoïdes pentacycliques et leurs hétérosides dont le principal est l'acide quinovique (et ses dérivés). Ils sont présents dans l'écorce. La plante renferme également des phytostérols.

Enfin, on y trouve aussi des acides quiniques ainsi que leurs esters qui constituent les principes actifs des extraits standardisés aqueux d'écorce d'*Uncaria tomentosa* C-MED-100<sup>®</sup> et AC-11<sup>®</sup>.

Des variations plus ou moins importantes de répartition des composants sont observées notamment en fonction de l'organe de la plante, de la localisation géographique ou encore de l'altitude et la saison. L'usage de l'écorce (et des racines) est justifié par une teneur importante en POA.

Dans le chapitre suivant sera mise en relation la composition avec les effets thérapeutiques de la plante.

### **III. Propriétés pharmacologiques**

Ce troisième chapitre détaille les effets thérapeutiques de la plante. Pour cela, il est divisé en 2 grands sous-chapitres :

La première traite des processus de l'organisme qui sont modifiés par l'utilisation de la plante constituant ainsi les propriétés qui peuvent être qualifiées de pivots. Parmi ces mécanismes, on retrouve l'immunité, le stress oxydant, l'inflammation et les cancers.

Le second aborde des applications secondaires de la plante, moins courantes comme par exemple les effets anti-infectieux, sur l'épithélium utérin, sur la protection de l'ADN ainsi que sur l'amélioration du profil cardiovasculaire ou du vieillissement cérébral utile pour traiter les démences comme la maladie d'Alzheimer.

Cette partie s'appuie sur les données des études scientifiques effectuées jusqu'à nos jours et en fait une synthèse générale. Relativement récentes, leurs conclusions nécessitent d'être complétées tout en sachant que des propriétés restent encore à découvrir.

## **A. Les principales propriétés :**

Les caractéristiques principales d'*Uncaria tomentosa* sont l'immunostimulation ainsi que les effets anti-inflammatoire, antioxydant et anticancéreux. Ces propriétés sont reliées entre elles. On sait par exemple que l'immunité, l'inflammation et le stress oxydatif ont un rôle dans le développement des processus tumoraux. Les chapitres suivants détaillent l'effet de la plante sur ces 4 mécanismes.

### **1. Effet immunostimulateur :**

*Uncaria tomentosa* booste certaines composantes du système immunitaire, ce qui justifie l'usage traditionnel dans les infections bactériennes ou virales. Cette propriété lui confère une importance dans l'immunodépression, par exemple liée au VIH, mais aussi dans les cancers où elle permet une meilleure élimination des cellules tumorales par l'immunité anticancéreuse.

Plusieurs études corroborent l'augmentation du potentiel immunitaire par la liane qui se produit par 2 mécanismes principaux que sont le renforcement de la phagocytose et l'augmentation du nombre et de l'activation des lymphocytes ainsi qu'un mécanisme plus ambigu sur la sécrétion des cytokines.

#### **a) Renforcement de la phagocytose :**

A l'analyse des frottis sanguins ainsi qu'à l'aide de divers tests comme le test de la clairance au carbone, des chercheurs montrent que les POA de la plante, notamment la pteropodine, l'isomitraphylline et surtout l'isopteropodine, sont responsables d'une stimulation de la phagocytose et d'une augmentation de l'activité macrocytaire. Une synergie est mise en évidence puisque dans le test de clairance, les POA ne sont efficaces que lors de l'admixture de catéchine au milieu de culture.

La phagocytose est le mécanisme clé de la réponse immunitaire innée et elle permet, via la présentation des antigènes par les CPA, de déclencher et d'orienter la réponse immunitaire adaptative médiée par les lymphocytes et les cytokines. Sa consolidation participe à l'optimisation des 2 réponses immunitaires (Wagner et al., 1985).

## b) Modulation des cytokines :

Les cytokines, sécrétées par les cellules présentatrices d'antigène et les lymphocytes T helpers, accentuent et orientent la réponse immunitaire adaptative. Il en existe 3 grands groupes en fonction du pathogène impliqué et de l'environnement d'activation : Th1 (IFN, IL-2, TNF $\alpha$ ), Th2 (IL-4, IL-5, IL-6 et IL-10) et Th17 (IL-17).

La réponse de type Th1 est principalement à visée cellulaire en stimulant la prolifération et la différenciation des lymphocytes ainsi que la sécrétion d'IgG qui permettent la lyse des cellules infectées.

La réponse Th2 est davantage à visée humorale en favorisant la sécrétion des immunoglobulines (notamment IgE) par les Lymphocytes B et elle oriente vers une réaction allergique médiée par les basophiles. Lorsqu'une réponse est engagée, elle tend à s'auto-amplifier et à inhiber les autres réponses.

*Uncaria tomentosa* modifie le profil cytokinique. Cet effet immunomodulateur n'est pas complètement élucidé. *Nunez et al.* (2015) ont par exemple observé que les POA de la plante provoquent un boost des 3 réponses tandis que *Domingues et al.* (2011) ont plutôt constaté une inhibition du profil Th1.

Il a été constaté que les extraits stimulent les cytokines de l'immunité tout en inhibant fortement les cytokines pro-inflammatoires (notamment le TNF $\alpha$ ) permettant un effet immunomodulateur important.

## c) Modulation des leucocytes :

### (1) Effets sur les lymphocytes :

#### (a) Prolifération et survie :

*Sheng et al.* (2000) ont induit une prolifération lymphocytaire sur plusieurs cultures de splénocytes de rats par injection de phytohémataglutinine. Les groupes complémentés en extraits aqueux standardisés d'écorce d'*Uncaria tomentosa* (C-MED-100<sup>®</sup>) ont présenté un taux de mitoses lymphocytaires, mesuré par l'incorporation de thymidines, augmenté de manière dose-dépendante, qui permet de conclure à une stimulation de la prolifération.

Ces mêmes extraits standardisés sont responsables d'une survie prolongée des lymphocytes sur des modèles murins, chez lesquels une augmentation de la cellularité de la rate est observée, réversible à l'arrêt de la supplémentation. Les extraits C-MED-100<sup>®</sup> ont montré dans d'autres études des capacités de réparation et de protection de l'ADN qui peuvent expliquer cette propriété (Akesson et al., 2003).

Curieusement, les extraits standardisés C-MED-100<sup>®</sup> sont dépourvus d'alcaloïdes, composants qui, selon les sources officielles, sont responsables des propriétés immunologiques de la plante. La prolifération des lymphocytes, d'après *Keplinger et al.* (1999), ferait en effet intervenir les cellules endothéliales qui sécrèteraient, sous l'effet des POA, un facteur de prolifération entraînant le développement des lymphocytes.

Ils observent une augmentation significative de la population en lymphocytes B et T corrélée à une diminution des blastes et de cellules cancéreuses (Raji et Jurkat) en présence des cellules endothéliales mais non en l'absence. Le rôle des cellules endothéliales dans l'accroissement de la population lymphocytaire par la liane est donc important mais non essentiel puisqu'elle a également lieu avec le C-MED-100<sup>®</sup>. Le facteur de prolifération, toujours inconnu, selon *Keplinger et al.* ne correspond pas à une interleukine.

L'augmentation des lymphocytes n'est donc pas liée à une stimulation de la lymphopoïèse et des progéniteurs comme le soulignent les lignées de blastes inhibées mais correspond plutôt à un mécanisme périphérique. Quant aux lignées Raji et Jurkat inhibées, elles confirment que *tomentosa* est en mesure de provoquer l'apoptose des cellules cancéreuses tout en prolongeant la survie des cellules saines. Les chercheurs se sont aperçus également que les TOA antagonisent l'effet des POA autant sur les lymphocytes, que sur les blastes et les lignées cancéreuses.

#### (b) Activation :

*Lozada-Requena et al.* (2015) l'ont démontrée en utilisant le marqueur CD44 sur des modèles murins mélanome-induits nourris avec des extraits de la plante. Ils ont observé un ratio CD4/CD8 augmenté dans le milieu systémique confirmant la prolifération des Lymphocytes, notamment des CD4 helpers. L'augmentation du ratio CD4-CD44/CD8-CD44 dans le milieu systémique rend compte de l'activation accrue de ces lymphocytes.

(c) Application thérapeutique : le SIDA

L'infection par le VIH, virus qui infecte les lymphocytes T helpers provoquant une immunodépression pouvant être fatale, est une application intéressante de ces propriétés de prolifération et de survie des lymphocytes. *Keplinger* a testé l'ingestion d'extraits hydroalcooliques secs d'écorce de la plante (1,2 % m/m de POA) 1 fois par jour pendant plusieurs mois chez 13 patients âgés de 24 à 38 ans atteints du VIH. Au bout de 4 mois, une significative augmentation du pourcentage des lymphocytes est observée. Leur faible taux initial est réhaussé parfois au-dessus des normes physiologiques (*Keplinger et al.*, 1999).

(2) Effet sur les autres cellules de l'immunité :

(a) Polynucléaires neutrophyles :

Des extraits hydroalcooliques secs d'écorce ont été selon plusieurs études responsables d'un accroissement important du nombre de neutrophiles avec un effet comparable au Filgrastim. Dans le test clonogénique, la prolifération de leurs précurseurs myéloïdes (CFU-GM) est accrue lors de l'ajout des extraits dans le milieu de culture (à une dose de 100 µg/ml) montrant que la myélopoïèse est stimulée par les extraits de la plante. Cette propriété s'avère utile en cancérologie pour pallier aux neutropénies induites par les chimiothérapies (*Farias et al.*, 2011).

(b) Cellules présentatrices d'antigène :

Des études démontrent une modulation de leur prolifération par *Uncaria tomentosa*.

(i) *Les cellules dendritiques :*

Elles subissent 2 voies de différenciation distinctes menant à 2 types de populations : les cellules dendritiques myéloïdes (ou CDm) et les cellules dendritiques plasmocytoïdes (ou CDp) que l'on retrouve en petites quantités dans le sang. Les DCm orientent la réponse vers Th1 tandis que les DCp l'orientent plutôt vers Th2(*CIRI et al.*, n.d.).



*Nunez et al.* (2015) ont observé que l'ingestion d'extraits hydroalcooliques d'écorce chez l'Homme provoque une légère diminution des 2 populations tandis que *Lozada-Requena et al.* (2015) montrent plutôt une augmentation des DCm avec orientation de la réponse immunitaire vers un profil Th1. Une majoration de leur maturation mesurée par les marqueurs HLA-DR et CD86 est observée dans les 2 cas.

(ii) *Monocytes :*

Ils dérivent du CFU-GM dans la moelle osseuse, précurseur commun aux neutrophiles. Puisque ce précurseur est stimulé par les extraits de la plante, il en résulte, comme le confirment *Santos-Araujo et al.* (2012), que les monocytes sont eux aussi augmentés. Les monocytes mûrissent en macrophages qui ont la propriété de phagocyter les pathogènes et de sécréter de nombreuses substances chimiotactiques qui orientent et renforcent la réponse immunitaire.

L'immunostimulation qu'induit *Uncaria tomentosa* passe donc d'abord par la majoration de la phagocytose et de la sécrétion des cytokines (ce dernier mécanisme est responsable d'un effet immunomodulateur). Elle consolide ensuite la réponse immunitaire adaptative, principalement en renforçant l'activité des lymphocytes CD4 helpers. La sécrétion d'un facteur de prolifération par les cellules endothéliales sous l'effet des POA semble en être la cause, ce qui correspond à un mécanisme périphérique. Toutefois, une stimulation de la production des précurseurs est aussi observée pour les lignées myéloïdes (mécanisme central).

Les POA sont les principaux composants responsables de la stimulation immunitaire. Ils permettent une majoration de la phagocytose et un accroissement de la population lymphocytaire tandis que *Keplinger* démontre que les TOA ont un effet antagoniste. La pteropodine a par exemple provoqué un accroissement de 25% de la production de lymphocytes après seulement 4 jours de traitement sur des modèles murins (*Paniagua-Pérez et al.*, 2009). Toutefois, l'implication d'autres composants ne peut être exclue puisque le C-MED-100<sup>®</sup> dépourvu d'alcaloïdes a aussi exhibé des propriétés immunostimulatrices.

Ces propriétés immunostimulatrices contre-indiquent l'utilisation de la plante dans le cas de pathologies auto-immunes ou de l'utilisation de traitements immunosuppresseurs. Cependant, lorsque ces pathologies auto-immunes sont associées à une forte composante inflammatoire (notamment articulaire), l'usage de la plante peut s'avérer bénéfique pour en soulager les symptômes, surtout en période de poussées.

## 2. Effet anti-inflammatoire :

Les propriétés anti-inflammatoires de la plante lui confèrent une indication dans le traitement des inflammations chroniques principalement en vue de soulager leur symptomatologie. Elle agit également directement sur certains mécanismes physiopathologiques de l'inflammation.

### a) Réduction de la symptomatologie :

Sur des modèles souffrant de diverses pathologies inflammatoires naturelles ou induites, une réduction de l'œdème, de la raideur et des douleurs est observée.

Un essai clinique sur 40 patients atteints de polyarthrite rhumatoïde séparés en 1 groupe placebo et 1 groupe traité par un extrait aqueux d'*Uncaria* (exempt de TOA) à raison de 3 gélules de 20 mg par jour sur une période de 52 semaines, a montré une baisse significative de la douleur et des raideurs articulaires ainsi que de l'indice de Ritchie (Mur et al., 2002). De même, des fractions purifiées de triterpènes d'acide quinovique (QAPF)(Dietrich et al., 2015) ainsi que des extraits hydroalcooliques de la plante ont été en mesure de diminuer fortement les œdèmes inflammatoires de pattes induits sur modèle murin (Aguilar et al., 2002).

Des extraits d'écorce et de feuilles contenant des POA, dont la mitraphylline en tête de liste, sont en mesure de diminuer l'infiltrat et le processus inflammatoire dans les bronches et d'en réduire la bronchoconstriction. Le profil respiratoire chez l'asthmatique pourrait de cette façon être amélioré. Les 2 extraits ont des effets légèrement différents. L'extrait d'écorce contenant seulement des POA a une plus forte activité anti-inflammatoire avec une diminution plus importante de l'infiltrat inflammatoire dans les tissus. L'extrait de feuilles a quant à lui montré une activité bronchodilatatrice plus marquée imputée aux TOA (notamment la rhynchophylline). L'usage d'*uncaria tomentosa* pourrait constituer un traitement phytothérapeutique complémentaire utile à la thérapie standard de l'asthme inflammatoire (Azevedo et al., 2018).

## b) Effet sur les mécanismes de l'inflammation :

Les travaux de recherche ont permis d'observer une action sur certaines voies de signalisation, notamment la voie clef du NF $\kappa$ B (« *nuclear factor kappa b* »), ainsi qu'une modulation des cytokines en lien avec les processus inflammatoires. D'autres études ont montré une régulation des voies purinergiques et une action sur les médiateurs lipidiques.

### (1) Inhibition des voies de signalisation :

Les voies de signalisation médiées par les facteurs de transcription NF $\kappa$ B et AP-1 ont un rôle central dans le développement de l'inflammation. NF $\kappa$ B régule plus de 500 gènes pro-inflammatoires. Il permet notamment la production du TNF $\alpha$  et de certaines interleukines. L'inhibition de l'expression de ces 2 facteurs par la plante permet d'atténuer en amont le processus inflammatoire.

#### (a) Voie du NF $\kappa$ B :

Le NF $\kappa$ B existe dans le cytoplasme sous forme de dimères inactivés par une chaîne i $\kappa$ B. Lors d'un stimulus externe, comme par exemple la liaison du TNF $\alpha$  à son récepteur cellulaire, une cascade déclenche la phosphorylation par une Ik kinase de la chaîne i $\kappa$ B qui est éliminée par le protéasome (ubiquitination).

NF $\kappa$ B alors activé migre dans le noyau où il se fixe à l'ADN pour déclencher la transcription des gènes pro-inflammatoires et immunomodulateurs (Figure 34).

Plusieurs études, comme celle d'*Azevedo et al.* (2018), constatent l'effet inhibiteur des extraits de la plante sur le NF $\kappa$ B. Selon plusieurs chercheurs (Allen-Hall et al., 2010), l'inhibition n'intervient pas sur la phase d'activation (phosphorylation de la chaîne i $\kappa$ B) mais plutôt sur la phase de fixation à l'ADN et elle est corrélée aux POA (Aguilar et al., 2002) (Figure 33).

Cette inhibition provoque notamment la diminution de sécrétion du TNF $\alpha$  et de l'IL-6, principales cytokines pro-inflammatoires. La boucle d'auto-amplification TNF $\alpha$  / NF $\kappa$ B et les voies de signalisation sous-jacentes sont donc atténuées. Le NF $\kappa$ B a également un rôle dans la survie cellulaire et son activation aberrante est à l'origine du développement de processus tumoraux. Son inhibition constitue une cible thérapeutique contre le cancer.

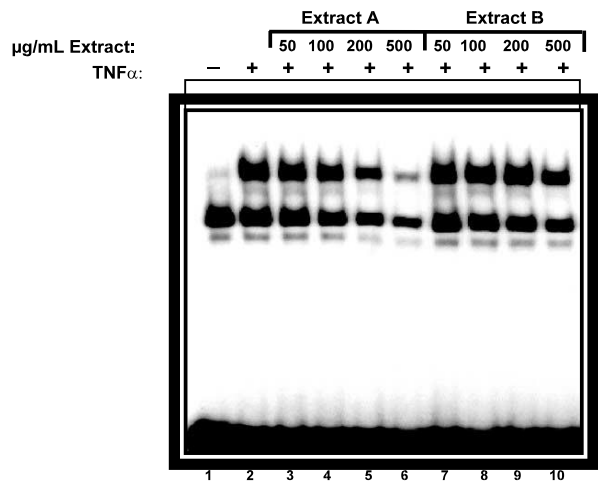


Figure 33: Mise en évidence par électrophorèse de l'inhibition de fixation du NF $\kappa$ B à l'ADN par des extraits hydroalcooliques d'écorce : La formation du complexe NF $\kappa$ B-ADN est visible sur la colonne 2 (cellules stimulées par TNF $\alpha$ ) par rapport aux cellules non stimulées (colonne 1). Les complexes s'amenuisent avec l'ajout de concentrations croissantes d'extraits, l'extrait A (5,61% de POA) ayant une meilleure efficacité que l'extrait B (0,29% de POA). (Allen-Hall et al., 2010)

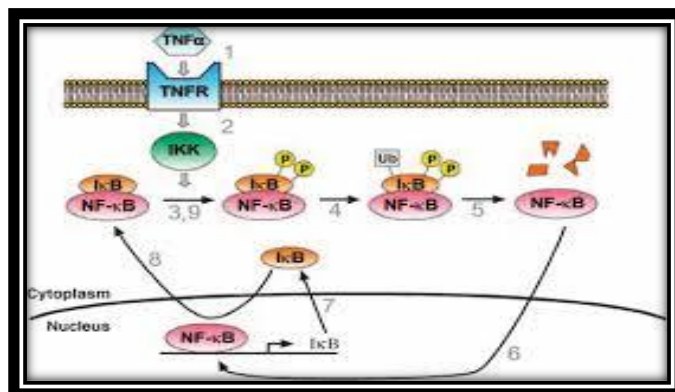


Figure 34: Activation du NF $\kappa$ B

(b) Voie AP-1 :

Le facteur de transcription AP-1 (« *activation protein 1* ») est aussi retrouvé dans le cytoplasme des cellules sous forme d'homo ou hétérodimères. En se fixant à leurs promoteurs, ils déclenchent entre autres la transcription de gènes impliqués dans l'inflammation. Les extraits éthanoliques d'écorce d'*Uncaria tomentosa* diminuent significativement les taux de sous-unités AP-1 sur des monocytes THP-1 (Allen-Hall et al., 2010).

L'inhibition des facteurs AP-1 et NF $\kappa$ B permet de diminuer la différenciation, la prolifération et le recrutement sur le site enflammé des agents de l'inflammation. Tout en stimulant l'immunité, *Uncaria tomentosa* atténue donc le processus inflammatoire en agissant d'une autre manière sur les agents et médiateurs en rapport avec l'inflammation.

## (2) Cytokines pro-inflammatoires :

Plusieurs études montrent un effet immunomodulateur avec inhibition des cytokines pro-inflammatoires que sont le TNF $\alpha$ , l'IL-1 et l'IL-6 de la réponse Th1 et stimulante sur les cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10 et le TGF $\beta$ . Une inhibition de la réponse Th2 et des processus allergiques inflammatoires médiés par les basophiles et les IgE a aussi été observée.

## (3) Régulation des récepteurs purinergiques :

L'ATP et l'ADP constituent des médiateurs de l'immunité et de l'inflammation. Ils sont majoritairement intracellulaires et leur relargage en milieu extracellulaire est minutieusement contrôlé. Ils sortent des cellules lors d'un stimulus par excrétion à l'aide de canaux transmembranaires comme les pannexine ou bien lors de dommages tissulaires importants impliquant rupture de l'intégrité cellulaire (Gicquel, 2014). Ils se fixent alors à tout un panel de récepteurs purinergiques déclenchant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et l'activation du NF $\kappa$ B et de l'AP-1.

Parmi ces récepteurs, le P2X7R est largement exprimé chez les neutrophiles, les monocytes et les macrophages recrutés sur un site enflammé. Des chercheurs ont observé, après l'ajout de QAPF issues de la plante, une down-régulation de ces récepteurs sur des tissus inflammatoires de vessie de rats. En parallèle, ils ont noté une diminution de la symptomatologie et de l'infiltrat inflammatoire (douleur, œdème) (Dietrich et al., 2015).

## (4) Régulation des médiateurs lipidiques :

Les prostaglandines et les leucotriènes sont produits par les cellules phagocytaires suite à un stimulus activant les enzymes COX (cyclo-oxygénase). Des extraits d'écorce d'*Uncaria tomentosa* ont montré une action inhibitrice sur les COX1 et les COX2. L'extrait hydroalcoolique contenant 10 fois plus de POA que l'extrait aqueux inhibe plus fortement COX2 (Aguilar et al., 2002) et témoignerait d'une sélectivité des POA pour COX2. Cette sélectivité est souvent recherchée car elle permet d'agir sur l'inflammation et la douleur en évitant les effets indésirables induits par l'inhibition des COX1.

### (5) Action antioxydante et inflammation :

Le stress oxydatif et les espèces réactives à l'oxygène (ROS) sont liés à l'inflammation. Outre leurs actions oxydantes pro-inflammatoires, les ROS agissent aussi comme des médiateurs se fixant à des récepteurs cellulaires dans ce qui peut être appelé les voies de signalisation Red-ox.

Les cascades de signalisation qui en découlent sont complexes et font l'objet de plusieurs travaux de recherche. Ils provoquent notamment une auto-amplification de l'inflammation qui, à long terme, peut être à l'origine de la formation de tissu tumoral. Ainsi, les propriétés antioxydantes d'*Uncaria tomentosa* sont impliquées dans l'inhibition de l'inflammation.

#### c) Molécules impliquées :

Les POA sont les composants anti-inflammatoires principaux. La mitraphylline a des effets semblables à la dexaméthasone en ce qui concerne l'inhibition de cytokines inflammatoires (Rojas et al., 2012):

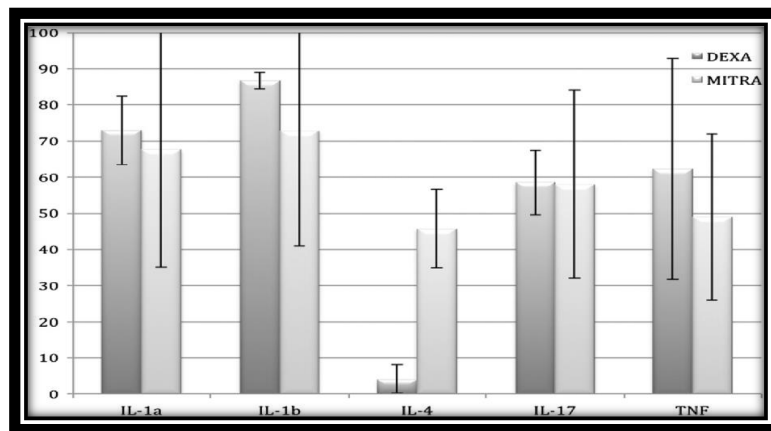


Figure 35: Inhibition des cytokines par la mitraphylline et la dexaméthasone (en pourcentage d'inhibition) (Azevedo et al., 2018)

Son effet est marqué sur l'Il-4 en comparaison à la dexaméthasone lui permettant aussi d'inhiber la réponse Th2 et les processus inflammatoires allergiques (asthme allergique).

L'Il-1 permet le recrutement des leucocytes sur le lieu de l'inflammation. Avec le TNF $\alpha$ , elle stimule aussi la sécrétion d'Il-6 qui est impliquée dans l'inhibition des Lymphocytes Treg, la sécrétion d'Il-17 et la transcription de facteurs pro-inflammatoires. L'inhibition de ces

cytokines par la mitraphylline (et les autres POA) constitue une des voies qui explique les propriétés anti-inflammatoires de la plante.

Les glycosides d'acide quinoviques ont réduit l'œdème inflammatoire de pattes induit chez le rat. Ils sont aussi responsables des diminutions de la douleur, de la concentration en Il-1, du recrutement en neutrophiles et des P2X7R observées dans les tissus inflammatoires de vessie chez le rat.

D'autres molécules comme les proanthocyanidines, l'acide quinique, la rutine et l'acide chlorogénique (polyphénols et dérivés) ont également montré des effets anti-inflammatoires (action sur NFκb et œdèmes) (Azevedo et al., 2018) mais de manière moins convaincante que les POA et les triterpénoïdes.

Enfin, des travaux soulignent l'existence d'un synergisme d'action entre les différents composants.

#### d) Applications thérapeutiques :

L'effet anti-inflammatoire d'*Uncaria tomentosa* est utile pour soigner les troubles articulaires inflammatoires chroniques. Elle est capable de réduire la symptomatologie de patients atteints de polyarthrite rhumatoïde. Elle est également efficace dans les pathologies rhumatismales et arthrosiques. En pré-clinique, elle soulage les symptômes de l'asthme allergique en réduisant l'inflammation et en améliorant le profil respiratoire chez le rat. Elle s'est aussi montrée efficace dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

En somme, l'effet anti-inflammatoire d'*Uncaria tomentosa* passe principalement par une forte inhibition du NFκb, du TNFα et d'autres cytokines pro-inflammatoires. Ce mécanisme, en association avec l'inhibition des COX et des voies purinergiques, permet une diminution de la symptomatologie, utile notamment dans les maladies inflammatoires des articulations.

Bien que la plante stimule l'immunité par la voie des lymphocytes et qu'elle soit donc contre-indiquée en cas de processus auto-immun, cet effet immunomodulateur peut s'avérer intéressant dans le traitement de certaines maladies auto-immunes à forte composante inflammatoire articulaire (polyarthrite rhumatoïde, spondylarthrite...). Les anti-TNFα, classe de médicaments fréquemment utilisés dans ces maladies, comme le REMICADE® ou l'HUMIRA®, agissent d'ailleurs par une inhibition importante du TNFα.

La plante constitue un traitement naturel aux effets significatifs mais qui demeurent modestes en comparaison aux traitements anti-inflammatoires de référence. Sa toxicité est cependant bien plus faible que ces traitements. Il est donc possible de concevoir l'utilisation d'*Uncaria tomentosa* en thérapie complémentaire des anti-inflammatoires classiques dans le but d'en réduire la posologie et les effets secondaires.

### 3. Effet antioxydant :

La plante est riche en composés antioxydants. Il existe des variations selon les parties de la plante, la feuille restant de loin la partie la plus efficace.

#### a) Mécanismes antioxydants de la plante :

On retrouve une modulation des enzymes antioxydantes, un accroissement de l'activité *scavenger* (ou antiradicalaire par piégeage des radicaux libres) ainsi qu'une diminution de la production des espèces réactives dans les cellules traitées par la plante.

##### (1) Modulation des enzymes antioxydantes :

Des extraits hydroéthanoliques d'écorce d'*Uncaria tomentosa* ont augmenté l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase (CAT) sur certaines cellules provoquant une élimination plus rapide des espèces radicalaires (Oliveira et al., 2014).

Il existe une sélectivité des extraits de la plante qui se comportent différemment en milieu sain et tumoral à l'exemple d'extraits de feuilles qui diminuent l'activité de la catalase (CAT) dans des lignées cancéreuses HepG2 tandis qu'elles l'augmentent dans des cellules saines (Kośmider et al., 2017). Cette sélectivité d'action explique en partie les propriétés anticancéreuses de la plante.

##### (2) Piégeage des radicaux libres :

Les extraits d'écorce, de racines et de feuilles d'*Uncaria tomentosa* possèdent (d'après les méthodes de l'indice TARBs, du DNA sugar damage et de la chimiluminescence initiée par l'hydroperoxyde) une forte activité *scavenger*. D'après *Pilarski et al.* (2010), le pourcentage d'inhibition est le plus fort pour les extraits méthanoliques de feuilles dont les proanthocyanidines sont les composants principaux.

Ces résultats sont confirmés par 3 études dont *Navarro-Hoyos et al.* (2017, 2018) sont les auteurs, portant sur les polyphénols de bas poids moléculaire et sur les polyphénols de haut poids moléculaire. L'activité *scavenger*, mesurée par les indices ORAC et DPPH, suit la répartition des polyphénols dans la plante. L'extrait éthanolique de feuille, le plus concentré en polyphénol, a eu l'activité la plus forte. Une corrélation positive entre le taux de



proanthocyanidine des extraits et l'indice ORAC a plusieurs fois été observée (Navarro-Hoyos et al., 2017)(Kośmider et al., 2017).

### (3) Diminution de la production des espèces radicalaires :

La production d'espèces radicalaires par la chaîne respiratoire mitochondriale des échantillons traités par les extraits d'*Uncaria tomentosa* tend à diminuer dans les cellules saines. Des chercheurs observent dans ce cas aussi une sélectivité de tissu : leur production augmente dans les cellules tumorales. Par la méthode de fluorescence au DCF, *Kosmider et al.* (2017) constatent que la fluorescence, dans la population de cellules saines, diminue avec les concentrations croissantes d'extraits d'*Uncaria tomentosa* alors qu'elle augmente dans la population de cellules tumorales.

*Sandoval-Chacon et al.* (1998) ont observé que des extraits hydroalcooliques d'écorce de la plante inhibent l'expression du gène de la NO synthase, enzyme responsable de la production d'espèces radicalaires. Il est possible qu'*Uncaria tomentosa* module la transcription de gènes liés à la production d'espèces radicalaires, de la même manière qu'elle module l'expression du gène du NFkb.

### b) Molécules impliquées :

Les composés polyphénoliques d'*Uncaria tomentosa*, et plus spécifiquement les polymères de proanthocyanidines, lui confèrent son activité antiradicalaire (*scavenger*). Plusieurs corrélations entre les indices ORAC et DPPH et le contenu total en phénols et surtout en proanthocyanidines ont été observées. Leur pouvoir antioxydant croît avec le degré de polymérisation. Les tanins de haut poids moléculaire sont donc les plus efficaces.

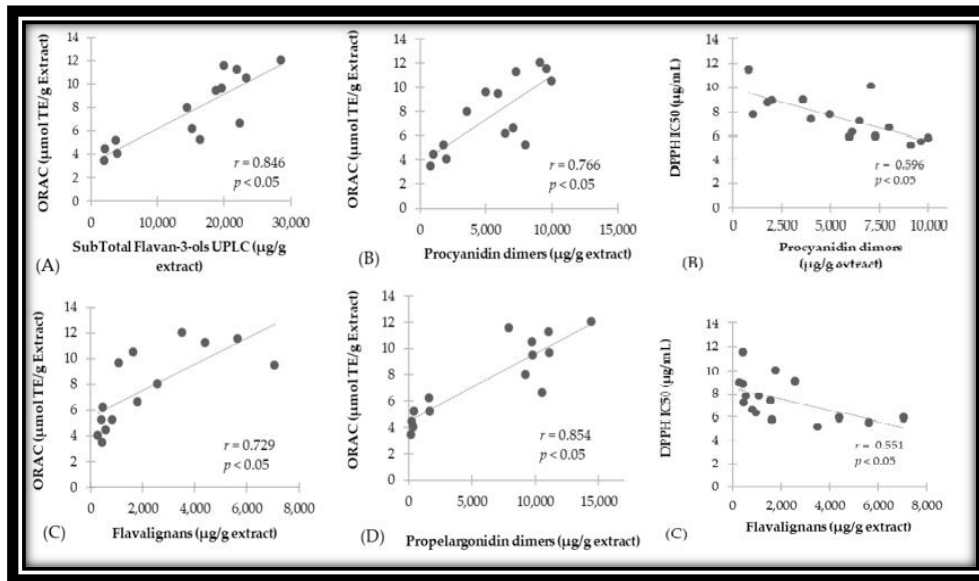


Figure 36: Corrélation entre les indices ORAC et DPPH-IC50 et les proanthocyanidines de bas poids moléculaire d'*Uncaria tomentosa* (Navarro-Hoyos et al., 2018)

Parmi les proanthocyanidines de bas poids moléculaires, seuls les dimères de propelargonidine, les procyanidines B2 et B4 et les flavalignanes ont un effet d'après Navarro-Hoyos et al. (2018). Pour les hauts poids moléculaires, ils soulignent l'importance des polymères de propelargonidine dans les propriétés *scavenger* de la liane qui sont d'ailleurs hautement caractéristiques des feuilles d'*Uncaria tomentosa*.

D'autres composants sont susceptibles de conférer à la plante des propriétés antioxydantes. La régulation sur la synthèse des espèces radicalaires ou la modulation de l'activité des enzymes antioxydantes ne sont pas propres aux tanins condensés. Etant donné la composition des extraits utilisés dans les études, il ne peut être exclu que les alcaloïdes en soient également responsables.

Toutefois, 2 études travaillant sur des extraits aqueux d'*Uncaria tomentosa* exempt de tanins (extraits standardisés C-MED-100<sup>®</sup>) n'ont pas montré d'effet antioxydant significatif. Ce qui d'une part permettrait de conclure que les acides quiniques et leurs analogues (composés actifs du C-MED-100<sup>®</sup>) n'exhibent pas de propriété antioxydante et d'autre part confirmerait l'importance des tanins dans le potentiel antioxydant de la plante (Farias et al., 2011)(Farias et al., 2012).

Pour conclure, les propriétés antioxydantes s'accomplissent par plusieurs mécanismes, le principal étant la complexation des espèces réactives. Les principaux composants antioxydants sont les tanins condensés qui font de la feuille la partie la plus efficace. L'action des extraits est associée à une sélectivité de tissu sain/tumoral qui renforce les défenses antioxydantes dans les tissus sains mais les affaiblit dans les cellules cancéreuses. Ce qui a conduit bon nombre de chercheurs à étudier les propriétés anticancéreuses de la plante.

## 4. Effet anticancéreux :

Depuis qu'il a été découvert des effets cytotoxiques d'extraits de la plante sur différentes lignées de cellules cancéreuses ainsi qu'une capacité à réduire certains effets indésirables des chimiothérapies, *Uncaria tomentosa* s'est vue ouvrir des portes en cancérologie.

### a) Cytotoxicité et inhibition des lignées cancéreuses :

Des extraits d'*Uncaria tomentosa* se sont montrés cytotoxiques contre diverses lignées cellulaires cancéreuses. Conjointement, ils ont épargné la survie des cellules saines.

#### (1) Effets sur différentes lignées cancéreuses :

Parmi les lignées inhibées se retrouvent HT29, HepG2, Walker256, T24, AGS et SW620.

##### (a) Les cellules HT29 (Colon humain):

Les extraits d'écorce d'*Uncaria* (750 µg/ml) seule ou en combinaison avec l'oxaliplatine (20 µmol/l) sont responsables d'une cytotoxicité majeure de ces cellules en comparaison à l'oxaliplatine seul.

Ils induisent une stimulation de l'activité des Caspases (1, 3 et 8) et une augmentation de la production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par modulation des enzymes antioxydantes dans ces cellules (Oliveira et al., 2014). L'augmentation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est corrélée à une apoptose des cellules cancéreuses *in vitro*, à un effet antitumoral *in vivo* et à la survie des cellules saines. De même, l'utilisation de N-acétylcystéine, précurseur du glutathion (GSH), diminue le taux de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et provoque une diminution de l'efficacité des chimiothérapies (Alexandre et al., 2007).

Les extraits diminuent aussi les mécanismes de réparation de l'ADN (ERCC1) des cellules HT29 induits par l'utilisation de l'oxaliplatine. L'ERCC1 (« *excision repair cross-complementing 1* ») intervient dans l'excision des ponts ADN formés par les adduits oxaliplatine/ADN, ce qui est un mécanisme de résistance à l'oxaliplatine des cellules cancéreuses du colon.

(b) Les cellules HepG2 (Foie humain) :

Des extraits de décoctions de feuilles principalement composées de tanins condensés ont provoqué l'apoptose sélective (sauvegarde des fibroblastes sains) de ces cellules avec une IC50 égale à 580 µg/ml et un effet synergique avec le cisplatine *in vitro* (Kośmider et al., 2017).

Ils induisent là-aussi une augmentation de la concentration en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par une diminution de l'activité de la GSH dans les cellules cancéreuses (Figure 37). L'augmentation du GSH, responsable d'une diminution de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, constitue un facteur de résistance des cellules cancéreuses aux chimiothérapies (Reuter et al., 2010). En conséquence de cette augmentation qui favorise le stress oxydatif, les Caspases 3 et 7 ont été stimulées.

(c) Walker256 (Tumeur mammaire de rats):

*In vivo*, des rats traités pendant 14 jours par différents types d'extraits d'*Uncaria* ont eu une réduction de moitié du poids et du volume de ces tumeurs (Dreifuss et al., 2013).

La modulation du stress oxydant (Activités de SOD, CAT et GSH diminuées en milieu tumoral) a provoqué une accumulation de ROS dans le milieu tumoral alors que des mécanismes inverses ont été observés en milieu sain. Les extraits ont aussi réprimé l'augmentation du TNFα liée à la tumeur.

L'inefficacité des extraits chloroformique remet en doute le rôle des alcaloïdes oxindoles seuls dans les propriétés anti-cancéreuses de la plante. A l'inverse, si les extraits butanoliques (contenant des tanins condensés) ont montré une efficacité satisfaisante pointant l'importance du stress oxydant, les extraits bruts se sont montrés plus que convaincants (existence d'un synergisme entre les composants).

(d) Les cellules T24 (Vessie humaine):

Des extraits bruts d'écorce ainsi que leurs fractions purifiées d'acide quinovique (QAPF) ont provoqué une inhibition dose-dépendante de la croissance des cellules T24 *in vitro* (Dietrich et al., 2014).

Curieusement, une stimulation du NFκB est observée par les QAPF, ce qui contredit plusieurs travaux montrant l'implication de ce facteur dans les cancers. Toutefois, de nombreuses variations sont observées du fait des spécificités de chaque cancer.

En induisant une apoptose sélective, *Uncaria tomentosa* et ses acides quinoviques offrent une alternative intéressante pour les cancers de la vessie, qui constituent le 2<sup>ème</sup> cancer le plus

fréquent des voies génito-urinaires et dont les traitements sont peu efficaces et lourds en effets indésirables.

(e) AGS (Gastriques) et SW260 (Colorectales) :

Des extraits de proanthocyanidines de haut et de bas poids moléculaire de la plante ont été capables de cytotoxicité envers ces lignées humaines (Navarro et al., 2017a)(Navarro-Hoyos et al., 2017b) avec une franche sélectivité (IC50 < 75µg/ml contre > 500 µg/ml pour les cellules saines).

Propelargonidine et Procyanidine ont montré la plus forte cytotoxicité. Une corrélation négative entre leur indice ORAC et l'IC50 pour les SW260 démontre le rôle de la modulation du stress oxydant dans les processus antinéoplasiques de la plante.

Les propriétés *scavenger* des proanthocyanidines constituent toutefois un paradoxe puisque la cytotoxicité contre les cellules tumorales est habituellement liée à une augmentation de l'action des ROS. Les mécanismes du stress oxydant dans les processus tumoraux sont complexes et multifactoriels en plus d'être sélectifs des différents cancers.

Leur faible absorption intestinale fait des proanthocyanidines d'*Uncaria tomentosa* (notamment des feuilles et de l'écorce) des traitements à visée locale à approfondir dans les cancers des voies digestives d'autant qu'ils ont inhibé d'autres types de lignées cancéreuses (lignées MDA et MB-231) du sein confirmant ainsi leur potentiel antinéoplasique.

(f) Autres lignées inhibées :

Les cellules leucémiques K562 et les lymphomes de lymphocytes B induits par l'EBV ont été inhibés par des extraits d'écorce. *De même, Pilarki et al. (2010) ont observé une nette corrélation entre la concentration en POA d'extraits et leurs effets antiprolifératifs sur certaines souches cancéreuses (LL/2, MCF7, KB, A549, SW707).*

## (2) Synthèse sur les mécanismes impliqués :

Plusieurs mécanismes d'actions sur l'inhibition des cellules cancéreuses et la prévention de la cancérogénèse par les extraits de la plante ont été mis en lumière par les études entreprises.

### (a) Modulation du stress oxydant :

Les ROS induisent des dommages moléculaires, notamment de l'ADN, qui font entrer la cellule cancéreuse en apoptose. L'usage d'un antioxydant dans les cancers est donc controversé. Cependant, *Uncaria tomentosa* exerce une modulation Redox différente dans les cellules cancéreuses et saines de sorte qu'elle augmente le stress oxydatif dans les premières et l'inhibe dans les secondes.

Les mécanismes régulateurs dans l'organisme permettent d'une part de métaboliser les ROS et d'autre part de les complexer. Il s'agit pour le premier d'un système d'enzymes comme la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPX) (figure 37). Pour le second, il s'agit des substances antioxydantes à activité *scavenger* comme par exemple la Vitamine C, le glutathion (GSH) ou les proanthocyanidines d'*Uncaria*.

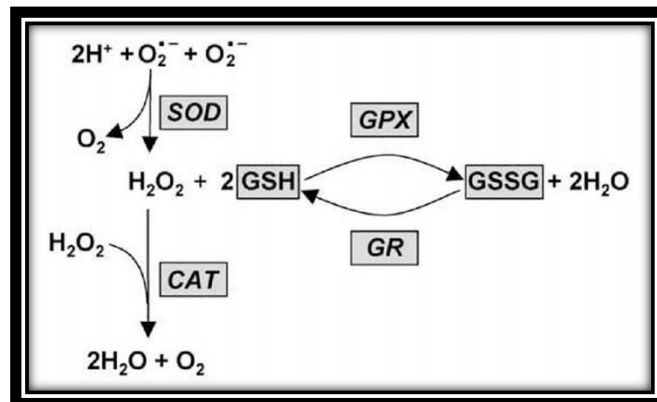


Figure 37 : Système enzymatique anti-oxydant

Alors que la production des ROS est augmentée par les processus tumoraux, les systèmes enzymatiques régulateurs favorisent leur élimination et la survie des cellules cancéreuses. La régulation des enzymes antioxydantes par les extraits de la plante permet d'un côté une accumulation de ROS dans les cellules tumorales qui rentrent ainsi plus facilement en apoptose et d'un autre côté leur élimination du milieu sain (sélectivité de tissu).

Les extraits d'*Uncaria tomentosa* permettent aussi une diminution de la production des ROS dans les tissus sains avec un effet protecteur. Dans les tissus tumoraux, en revanche, ils peuvent être responsables d'une augmentation de leur production.

Le stress oxydatif déclenche ensuite l'apoptose des cellules tumorales par activation de la voie des Caspases.

(b) Stimulation de la voie des Caspases et apoptose:

Les caspases, protéases cytoplasmiques, sont réparties en plusieurs groupes ; principalement les Caspases initiatrices (2, 8, 9, 10) et les Caspases effectrices (3, 6, 7). 280 protéines situées dans le noyau ou dans le cytoplasme sont catalysées par ces enzymes provoquant des anomalies morphologiques qui conduisent à l'apoptose.

L'activation de l'apoptose se fait en 3 phases. La phase d'induction consiste à rechercher dans l'environnement cellulaire des signaux qui favorisent ou inhibent la survie (Tableau 5). Le stress oxydant est un facteur inhibiteur de la survie. L'intégration de ces signaux avec sécrétion de médiateurs intracellulaires pro ou anti apoptotiques constitue la seconde phase ou phase d'intégration. S'il y a franchissement du point de non-retour, la phase de destruction avec l'activation du système des Caspases est enclenchée. Les Caspases initiatrices activent alors par protéolyse les caspases effectrices qui catalysent les substrats protéiques ayant pour conséquence le déclenchement de l'apoptose.

*Tableau V: Facteurs impliqués dans la survie ou la mort cellulaire*

<b>FACTEURS DE PROMOTION DE LA VIABILITE CELLULAIRE</b>	<b>FACTEURS D'INHIBITION DE LA VIABILITE CELLULAIRE</b>
<i>Adhérence au stroma de la moelle</i>	<i>Agents chimiothérapeutiques</i>
<i>Facteurs de croissance divers: EPO./GM-CSF</i>	<i>UV et irradiation gamma</i>
<i>Cytokines : IL-1, IL-3, IL-6</i>	<i>Stéroïdes (cortisone)</i>
	<i>Oxydants</i>
	<i>Lymphocytes T cytolytiques</i>
	<i>Certains virus (VIH)</i>
	<i>Cytokines: Fas-L, TGF-<math>\beta</math>, IFN-<math>\gamma</math>, TNF-<math>\alpha</math></i>
	<i>Signaux intracellulaires (cycle cellulaire et p53)</i>

A la différence de la nécrose cellulaire (nécrose primaire), l'apoptose (nécrose secondaire) est un processus organisé et physiologique nécessaire au renouvellement cellulaire. La cellule se fragmente en de multiples vésicules (corps apoptotiques) qui sont éliminées par phagocytose sans déclencher de réactions inflammatoires.

L'activation des Caspases, notamment de la caspase 3, est en lien étroit avec la modulation Redox des extraits de la plante d'abord parce que les ROS provoquent des dommages cellulaires importants (voie d'activation intrinsèque des caspases) mais aussi parce qu'ils stimulent les récepteurs de la voie d'activation extrinsèque des caspases. D'autres mécanismes sont en jeu. Les extraits ont été capables d'interrompre le cycle cellulaire ou de diminuer la sécrétion de facteurs de survie suite à l'inhibition du NF $\kappa$ b, autant de signaux menant à l'activation des Caspases et à l'apoptose des cellules tumorales.

### (c) Inhibition du NFkb et de l'inflammation :

L'inflammation chronique et le stress oxydatif sont des facteurs impliqués dans la cancérogénèse. Parmi les mécanismes qui en sont responsables se retrouve l'activation aberrante du facteur de transcription NFkb.

L'accumulation des ROS provoquée par l'inflammation est responsable de dommages dans l'ADN et de mutations qui peuvent résulter en l'activation pathologique du NFkb. Le NFkb entretient le processus inflammatoire et permet l'expression de facteurs anti-apoptotique (Bcl-2, c-FLIP, cIAPs...), de survie et de prolifération qui empêchent les cellules dégénérées de rentrer en apoptose. Le phénotype cancéreux se développe plus ou moins rapidement à l'ensemble des cellules.

Entre autres gènes cibles du NFkb se trouvent ceux codant pour la cycline-D1. Cette dernière est impliquée dans la progression du cycle cellulaire en tant qu'en s'associant aux CDK 4 et 6, elle permet la validation du point de contrôle G1/S (figure 38). La non-validation des points de contrôle implique l'arrêt du cycle et l'entrée en apoptose. A l'inverse, la validation aberrante de ces différents points peut empêcher une cellule cancéreuse de rentrer en apoptose.

Lors de dommages à l'ADN, les mécanismes de surveillance induisent la sécrétion de p53 qui inhibe l'activation des complexes Cyclines/Cdk. Ce qui d'abord ralentit le cycle cellulaire pour permettre la réparation mais déclenche ensuite l'apoptose si la réparation est insuffisante. Cette régulation sur les Cyclines, comme beaucoup d'autres mécanismes, est réprimée par l'activation incontrôlée du NFkb.

Le dérèglement du NFkb associé au développement tumoral est un fait bien documenté. Son activation est par exemple corrélée à la prolifération de cancers colorectaux et gastro-intestinaux et la voie non canonique du NFkb est associée au développement de tumeurs lymphoïdes.

La capacité d'*Uncaria tomentosa* d'inhiber l'inflammation et ses mécanismes (inhibition du NFkb) a donc un effet bénéfique sur la prévention et la thérapie des cancers. L'inhibition du NFkb constitue une finalité de nombreux traitements anti-cancéreux.

Toutefois, les spécificités des différents cancers donnent parfois de curieux résultats. *Dietrich et al.* (2015) ont par exemple observé qu'une augmentation de la translocation de NFkb par les fractions QAPF d'*Uncaria tomentosa* était associée à un effet antiprolifératif sur certaines lignées tumorales.



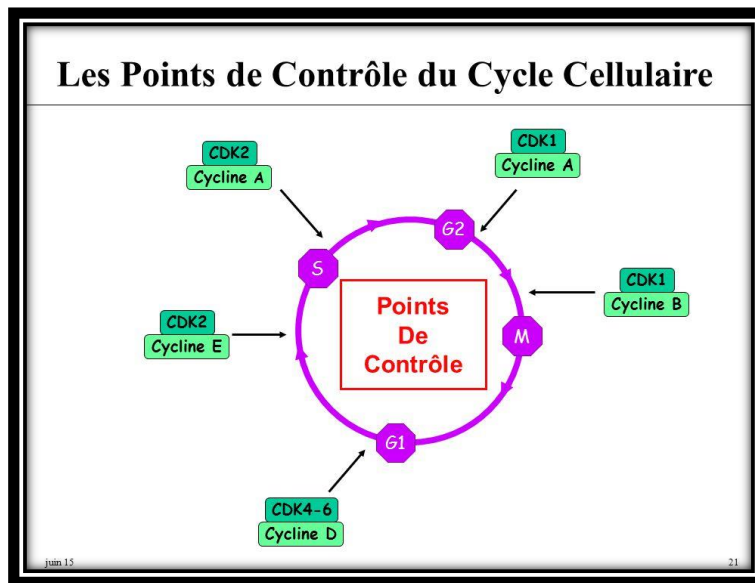


Figure 38: Contrôle du cycle cellulaire (source: "<http://slideplayer.fr>")

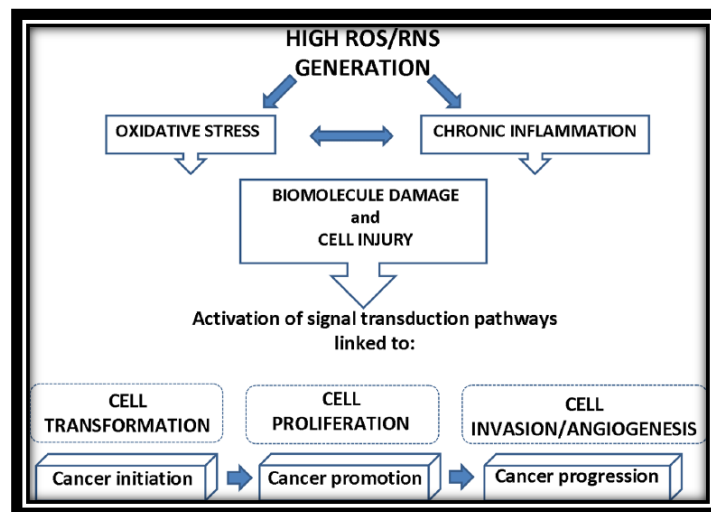


Figure 39: Inflammation chronique et stress oxydatif dans la cancérogénèse (Benedetti et al., 2015)

(d) Stimulation de l'immunité antitumorale :

Les propriétés immunostimulantes de la plante renforcent l'immunité antitumorale. Il en résulte une meilleure présentation des antigènes tumoraux aux lymphocytes par les CPA et un accroissement de la cytotoxicité contre les cellules cancéreuses.

Si la réponse Th1 a un effet antitumoral puissant, les stimulations de Th2 et Th17 sont moins utiles et plus controversées. La voie Th1 aboutit principalement à la stimulation de l'immunité à médiation cellulaire, c'est-à-dire des processus cytotoxiques spécifiques médiés par les LT CD8. La réponse Th2 qui aboutit plutôt à une immunité à médiation humorale à visée antiallergique ou antiparasitaire (sécrétion IgE, dégranulation des mastocytes...) n'est toutefois pas à écarter car elle stimule aussi la production d'anticorps par les Lymphocytes B nécessaires à la phagocytose des antigènes par les CPA et à l'activation du complément.

Bien que l'immunité antitumorale soit importante dans la lutte contre le cancer, elle doit faire face à de nombreux mécanismes d'évasion de la part des tumeurs, comme par exemple la voie d'échappement PD-1/PD-L1.

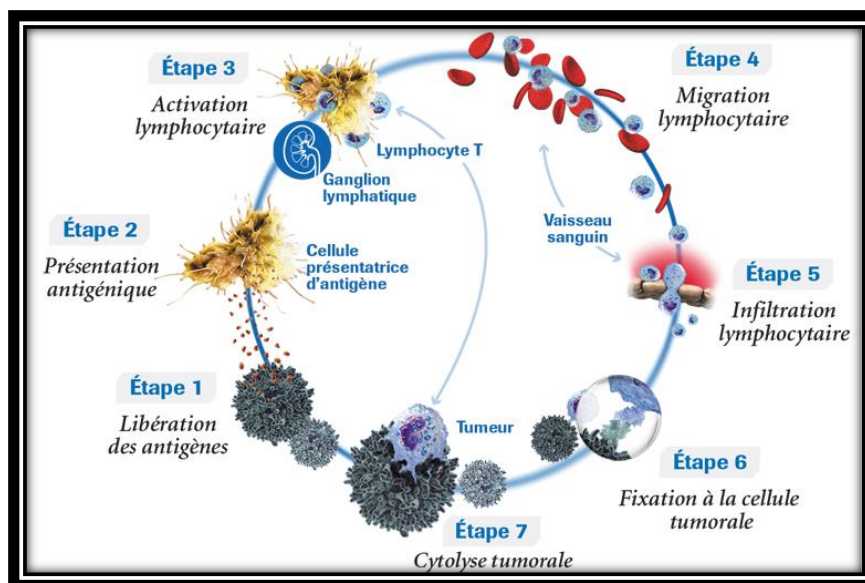


Figure 40: Immunité antitumorale (source : « <https://www. Roche.fr> »)

(e) Protection de l'ADN :

*Uncaria tomentosa* possède des propriétés antimutagènes. Elle stimule la réparation de l'ADN et le protège du stress oxydatif, en prévient donc les mutations délétères. Elle constitue pour cela un traitement phytothérapeutique efficace dans la prévention des cancers.

En somme, nous avons pu constater les effets cytotoxiques d'*Uncaria tomentosa* sur diverses souches cancéreuses. Contrairement aux traitements chimiothérapeutiques, elle sauvegarde l'intégrité des tissus sains. Son efficacité contre les cellules cancéreuses demeurant globalement bien inférieure aux anticancéreux traditionnels, il est possible d'envisager la prise de la plante en tant que phytothérapie complémentaire à la chimiothérapie.

## b) Traitement adjuvant des chimiothérapies :

Les études sur les lignées cancéreuses ont permis de constater une synergie d'action entre *Uncaria tomentosa* et les médicaments anticancéreux. En Amérique du sud, son utilisation en traitement complémentaire des chimiothérapies est recommandée d'autant plus qu'elle permet une atténuation de certains de leurs effets indésirables.

### (1) Renforcement de l'efficacité des chimiothérapies :

L'association d'extraits d'*Uncaria tomentosa* à divers types d'anticancéreux potentialise leurs effets, parfois de manière synergique comme pour le cisplatine ou l'oxaliplatine. Les recherches ont permis de mettre en avant la modulation du stress oxydant et de la voie des Caspases comme mécanismes pouvant l'expliquer.

D'autres synergies sont à découvrir. Par exemple, il a été constaté l'effet cytotoxique des QAPF sur certaines lignées cancéreuses. Ils ont aussi la capacité de réduire la toxicité vésicale liée à l'utilisation du cyclophosphamide et pourraient donc constituer une complémentarité utile à cet anti-cancéreux.

### (2) Diminution des effets indésirables :

#### (a) Neutropénie :

Les traitements anticancéreux induisent des neutropénies (polynucléaires neutrophiles inférieurs à 1500/mm<sup>3</sup>) avec un risque accru d'infections opportunistes.

Des chercheurs brésiliens ont étudié l'effet d'extraits hydroalcooliques d'écorce d'*Uncaria tomentosa* (2,57% de POA, exempts de TOA) sur 40 patientes atteintes de cancer du sein au stade 2 traitées par le protocole FEC-100. Alors qu'ils ont bien constaté une neutropénie s'aggravant avec le temps dans le groupe contrôle positif, une inhibition de cette neutropénie dans le groupe supplémenté en extraits est constatée avec des valeurs en neutrophiles parfois augmentées au-delà de celles du groupe contrôle négatif (figure 41) (Santos Araújo et al., 2012).

Les monocytes ont également été augmentés dans le groupe supplémenté. Ces résultats sont corroborés à d'autres études où l'on observe par exemple une augmentation du nombre de leucocytes, chez des souris en neutropénie induite par l'ifosfamide supplémentées en extraits, comparable à l'utilisation du Filgrastim.

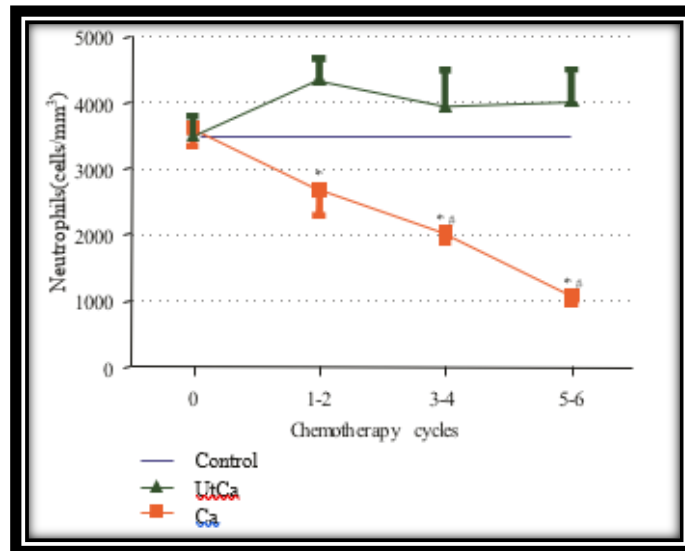


Figure 41: Neutrophiles chez les patientes saines (Control) et atteintes de cancer du sein avec traitement chimiothérapique en présence (UtCa) ou non (Ca) d'une supplémentation en extraits d'*Uncaria tomentosa* (Santos Araujo et al., 2012)

La supplémentation en extraits de la plante permet en gardant une immunité efficace et un taux normal de neutrophiles de maintenir voire d'augmenter les fréquences et les doses d'administration des chimiothérapies majorant ainsi leur efficacité.

(b) Cystite induite par le cyclophosphamide :

Le cyclophosphamide (ENDOXAN®) est un agent alkylant de la famille des moutardes azotées. Son activation nécessite une métabolisation par le foie qui conduit également à la formation de l'acroléine. L'acroléine est éliminée par voie rénale en provoquant une cytotoxicité par contact direct avec l'urothélium vésical.

La cystite hémorragique (HE) qui en découle est caractérisée par une destruction tissulaire avec développement d'une inflammation, d'ulcérations nécrotiques, fibroses et hémorragies. Le MESNA est l'antidote utilisé conjointement car il annihile l'acroléine en la fixant.

Sur des modèles murins sur lesquels une cystite hémorragique a été induite par injection de CYP, les acides quinoviques (QAPF) de la plante ont provoqué une diminution de la nociception (par la méthode de stimulation pelvienne avec le filament de von Frey ainsi qu'en établissant un « behavioral score »), une diminution de l'hémorragie, de l'œdème et du poids de la vessie ainsi qu'une sauvegarde de l'intégrité de l'urothélium associés à une réduction de l'infiltrat inflammatoire avec un effet similaire au MESNA. Les voies purinergiques et leur récepteur P2Y7R, qui sont étroitement impliquées dans la HE (Martins et al., 2012), ont été fortement inhibés (Dietrich et al., 2015).

Les QAPF pourraient agir de la même manière que le MESNA, en fixant l'acroléine ayant ainsi un effet protecteur sur l'urothélium (Figure 42).

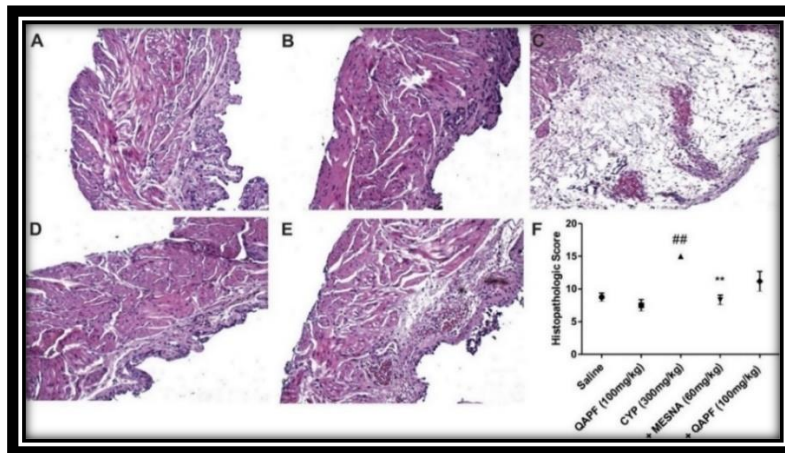


Figure 42: Histologie de l'urothélium vésical de souris chez le groupe sain (A), supplémenté en fractions d'acide quinovique (QAPF) seules (B), Cyclophosphamide (CYP) seul (C), CYP+MESNA (D), CYP+QAPF (E) ainsi que l'index de dommages histologiques (F) (Dietrich et al., 2015)

### c) Molécules impliquées :

Les POA ressortent comme des composants importants de l'activité anticancéreuse de la plante. La mitraphylline, la pteropodine et l'uncarine F provoquent par exemple une inhibition forte des leucémies lymphoblastiques à cellules T (Bacher et al., 2006). Des études remettent cependant en doute l'efficacité des POA seuls et souligne d'une part l'existence de spécificités de réponse des différents cancers et d'autre part l'importance du synergisme d'action entre les composants ainsi que l'implication d'autres composants que les POA dans les propriétés anticancéreuses de la plante. En effet, les acides quinoviques et les proanthocyanidines ont aussi été en mesure d'inhiber certaines souches cancéreuses.

Pour conclure, chaque famille de composants d'*Uncaria tomentosa* possèdent des propriétés anticancéreuses très intéressantes, en curatif comme en préventif. En tant que traitement complémentaire des chimiothérapies, la plante s'est montrée convaincante dans la majorité des études entreprises qui restent toutefois majoritairement pré-cliniques. Les extraits de la plante sont cytotoxiques contre plusieurs types de lignées cancéreuses, aussi bien mammaires qu'hépatiques en passant par la vessie ou le colon tout en sauvegardant l'intégrité des tissus sains. Il semble que le principal mécanisme responsable est la modulation sélective du stress oxydant mais certains mécanismes demeurent toujours méconnus. Ils peuvent de plus varier selon les spécificités de chaque cancer.

## **B. Les autres propriétés :**

Outre les effets sur l'inflammation, le stress oxydatif, l'immunité et les cancers qui sont les propriétés pivots de la plante, il existe d'autres indications subalternes qui sont détaillées dans les chapitres suivants.

### **1. Anti-infectieux :**

#### **a) Effet antibactérien :**

Des extraits de la plante ont été capables d'inhibition directe de diverses souches bactériennes en culture cellulaire.

##### **(a) Spectre antimicrobien :**

L'*enterococcus faecalis*, bactérie anaérobie Gram + responsable de 25 à 75% des infections endodontiques, a été complètement inhibée en culture par un extrait de griffe de chat dilué à 2% avec un effet persistant pendant plus de 7 jours (substantivité). Son effet a été similaire à la chlorhexidine, substance de référence de la thérapie endodontique (Herrera et al., 2016).

Des bactéries des voies respiratoires se sont également montrées sensibles à la plante. Des extraits de poudre d'écorce dilués à 3% ont inhibé quelques entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae* et *citrobacter freundii*), plus de la moitié des souches de *Streptococcus mutans* ainsi que la quasi-totalité des *Staphylococcus spp.* dont l'implication dans les maladies nosocomiales ainsi que la résistance aux antibiotiques sont reconnues (Ccahuana-Vasquez et al., 2007).

Une activité bactéricide par des extraits alcooliques de la plante sur *Pseudomonas aeruginosa* a aussi été observée avec des CMI et CMB de 25 et 100 mg/ml respectivement. Bien que l'effet reste légèrement inférieur à la Ciprofloxacine (diamètre d'inhibition en culture cellulaire de 19,32 mm contre 25,89 mm), la griffe de chat peut être une alternative phytothérapeutique intéressante aux résistances multiples importantes de ce germe aux antibiotiques (Ulloa-Urizar et al., 2015).

Les différents polyphénols ont des spécificités d'inhibition bactérienne. Une corrélation négative entre la concentration en proanthocyanidines de la plante et l'IC50 du *Staphylococcus aureus* est constatée tandis que l'inhibition d'autres souches (*Salmonelle*, *Clostridium*, *E. faecalis* et *P.aeruginosa*) a montré l'implication d'autres composants.

(b) Application dans la maladie de Lyme :

Avec plus de 500000 nouveaux cas par année en Europe, la maladie de Lyme est un problème de santé important. La recherche de nouvelles thérapies est essentielle pour pallier aux limites des traitements actuels. Une dilution au 1/300<sup>ème</sup> d'extrait d'écorce de la plante a inhibé la croissance de *Borrelia spp.*, bactérie responsable de la maladie de Lyme.

Cette bactérie possède une forme active (spirochète) ainsi que des formes latentes (forme kystique fixe et formation de biofilm) qui lui permettent de persister dans l'organisme et de se protéger du système immunitaire. Les traitements antibiotiques ont des effets secondaires importants et sont inefficaces s'ils sont administrés trop tardivement. Les formes latentes de la bactérie présentent en effet une importante résistance à la doxycycline et sont responsables d'une persistance de la maladie.

Une alternative phytothérapique, par exemple en traitement adjuvant, est une piste à explorer d'autant qu'*Uncaria tomentosa* réduit les 3 formes de la bactérie (spirochète, kystique et biofilm) en milieu de culture (Goc and Rath, 2016).

(c) Molécules impliquées :

Plusieurs travaux constatent l'implication des tanins dans l'élimination de plusieurs souches de bactéries gram +et - (Zhang et al., 2015). Les POA ont aussi montré des propriétés inhibitrices, l'isopteropodine s'étant d'ailleurs illustrée comme le POA de la plante le plus puissant pour inhiber diverses souches de bactéries Gram + (García et al., 2005). Quant aux triterpènes, il ne peut pas être exclu qu'ils aient un rôle antibactérien, cependant leur action anti-infectieuse est davantage orientée vers les infections virales ou parasitaires.

*Uncaria tomentosa* peut donc apporter des solutions aux résistances de plus en plus émergentes des bactéries aux antibiothérapies conventionnelles qui sont parfois lourdes en effet indésirables. Son utilisation est envisageable dans les infections dentaires, respiratoires ou encore dans la borréliose (maladie de Lyme) où certains spécialistes la recommandent. Elle serait encore plus intéressante chez l'immunodéprimé puisque tout en renforçant l'immunité, elle permettrait de lutter directement contre l'apparition des germes opportunistes.

## b) Effet antiviral :

Les indiens d'Amazonie utilisent *Uncaria tomentosa* pour traiter les infections virales. Des études ont montré des effets directs sur la réplication des souches virales et sur leur symptomatologie.

### (1) Quelques virus étudiés :

#### (a) Virus de la Dengue :

La dengue est un problème de santé majeur au Brésil avec une incidence et un taux de mortalité en augmentation. Il n'existe aucun traitement curatif mis à part la réhydratation et les analgésiques.

La symptomatologie de la dengue est proche de celle de la grippe avec présence de fièvre, arthralgies, nausées et vomissements. Elle se caractérise notamment par un risque d'hémorragies avec présence d'hématomes diffus qui peut se compliquer en des formes graves parfois léthales. Il a été montré que ces désordres hémodynamiques sont liés à une augmentation de la perméabilité vasculaire induite par une sécrétion pathologique de cytokines inflammatoires par les cellules phagocytaires cibles du virus.

Des extraits hydro éthanoliques d'écorce ainsi que leur fraction purifiée en alcaloïdes ont été responsables d'une diminution de concentration de l'antigène viral sur la paroi des monocytes infectés et de la sécrétion des cytokines proinflammatoires par les monocytes (diminution des complications hémorragiques) (Reis et al., 2008).

#### (b) Herpes simplex virus :

Les extraits hydroéthanoliques d'écorce de la plante ont aussi un effet inhibiteur direct sur la réplication du virus HSV ainsi qu'une capacité antimutagène sur les cellules soumises à des radiations UV responsables d'une réactivation de l'herpès.

Les résultats prometteurs de l'utilisation de ces extraits alcooliques d'écorce dans le traitement de l'herpès a conduit à la mise en circulation au Brésil d'une crème contre l'Herpès à base d'écorce d'*Uncaria tomentosa*.



(c) Virus de la maladie des points blancs :

Cette maladie touche les crustacés et est causée par un virus de la famille des Nimaviridae. Les crevettes infectées présentent de multiples points blancs sur leur abdomen et une diminution de l'appétit. La létalité et la contagiosité importante de cette maladie est préjudiciable aux élevages de crevettes au Brésil.

L'ingestion d'extraits par les crevettes a provoqué une disparition des symptômes, une conservation de l'appétit ainsi qu'une augmentation de la survie des crustacés infectés par le virus. L'introduction d'extraits d'*Uncaria tomentosa* dans la nourriture des crustacés d'élevage peut alors être une solution à l'expansion de la maladie des points blancs (Tomazelli et al., 2017).

(d) Autres virus :

Des virus à ARN à polarité négative (virus de la stomatite vésiculaire) et à polarité positive (Rhinovirus) ont également été utilisés avec succès par des chercheurs italiens pour évaluer le potentiel antiviral des triterpènes pentacycliques de l'écorce de la liane.

(2) Mécanismes et molécules impliqués :

(a) Inhibition de l'attachement :

Les polyphénols et les triterpénoïdes pentacycliques de la plante agissent de la même manière. Ils s'interposent entre la cellule hôte et le virus par une affinité pour les protéines virales de surface, empêchant leur liaison aux cellules hôtes (Xiao et al., 2018)(Aquino et al., 1989).

(b) Inhibition du cycle de réplication virale :

Les POA sont impliqués dans l'inhibition de la propagation virale. Ils ont une efficacité 10 fois supérieure à l'extrait éthanolique brut d'écorce d'après *Reis et al.* (2007) ( IC50 = 1 µg/ml vs 10 µg/ml pour les extraits bruts).

(c) Réduction de la symptomatologie :

Les propriétés immunomodulatrices et anti-inflammatoires de la plante permettent de réduire la symptomatologie des infections virales liée à une surexpression des cytokines inflammatoires pouvant entraîner des complications graves (encéphalite, hémorragies...).

Les polyphénols et les triterpénoïdes pentacycliques permettent donc une inhibition de l'attachement des virus aux cellules hôtes tandis que les alcaloïdes freinent davantage le cycle de réplication des virus. Des études complémentaires sont nécessaires, notamment pour confirmer ces propriétés antivirales *in vivo* sur l'animal et surtout chez l'Homme. Un essai clinique au Brésil a montré qu'une crème d'écorce d'*Uncaria tomentosa* possède un effet similaire à l'aciclovir sur le traitement des boutons de fièvre.

c) Effet antifongique :

*Uncaria tomentosa* a exhibé des effets antifongiques notamment contre différentes espèces de *Candida* d'après les travaux datant de 2015 d'une équipe de recherche de l'Université de Porto Alegre au Brésil qui a travaillé sur des souches NCA (*Candida non Albicans*).

(1) Effet sur différentes souches du genre *Candida* spp. :

(a) Les souches NCA sensibles :

L'effet de plusieurs fractions d'extrait d'écorce d'*Uncaria tomentosa* de composition différente a été évalué sur divers souches de NCA qui sont les champignons les plus impliqués dans les mycoses chez l'Homme.

Des souches des espèces *krusei* (CK01, CK02, CK04, ATCC6258), *glabrata* (CG40039, CG10, RL02, RL03) et *parapsilopsis* (CP03, CP04, RL01, RL13) ont été inhibées par des extraits d'écorce de la plante en milieu de culture.

La fraction de l'extrait composée de la partie insoluble à l'eau (WIF) a eu la meilleure efficacité inhibant toutes les souches avec un effet supérieur au Fluconazole (FLZ) et à la Terbinafine (TRB) dans 66 % des cas. Les fractions pures en OA et en QA et l'extrait brut d'écorce ont un effet nettement plus faible que la fraction WIF. L'utilisation de la plante et surtout de sa fraction insoluble à l'eau paraît concluante dans le traitement des infections par *krusei*, *glabrata* et *parapsilopsis*.

### (b) Résistance aux antifongiques classiques :

Ces souches se sont pour certaines montrées résistantes aux FLZ, à la TRB et à l'anidulafungine (AND) selon les critères M27-A3 et M38-A2 du CLSI. D'après ces critères, 2 souches de *parapsilopsis*, 1 souche de *glabrata* et toutes les souches de *krusei* ont montré une résistance au FLZ. 2 souches de *parapsilopsis*, 3 souches de *glabrata* et 3 souches de *krusei* résistent au TRB. Enfin, 1 souche de *glabrata* et de *krusei* ont résisté à AND. 6 souches ont une résistance croisée entre FLZ et TRB (CK01, CK04, RL01, RL13, ATCC6258, et CG40039) et 2 souches sont multirésistantes aux 3 antifongiques (CK04 et CG40039). Elles sont toutes sensibles à la fraction WIF à de faibles concentrations.

L'association de ces extraits de fraction insoluble à l'eau de la plante aux différents antifongiques permet donc de booster leur efficacité d'autant que les chercheurs ont décelé des synergies d'action entre les extraits et les antifongiques (Cougo Moraes et al., 2015).

### (2) Synergie avec les traitements antifongiques :

L'interaction de la fraction insoluble à l'eau (WIF) avec FLZ et TRB a été testée sur 6 souches de *Candida* ainsi que sur divers souches résistantes (Moraes et al., 2017).

*Tableau VI : Etude de la synergie entre des extraits d'écorce d'Uncaria tomentosa et les traitements antifongiques de référence sur des souches de Candida non Albicans*

	<b>WIF-FLZ</b>	<b>WIF-TRB</b>
<b>Association synergique selon la méthode des CMI</b>	3 souches /6 (CG40039,RL03/02,CK6258)	4 souches /6 (CK02, CG40039, RL03/02, CK6258)
<b>Association synergique selon la viabilité cellulaire</b>	2 souches /6 (CK01, CK6258)	5 souches /6 (CK01, CK6258,RL03/02, CG10, CG40039)
<b>Souches résistantes sensibles à l'association synergique</b>	66%	50%

WIF : fraction insoluble à l'eau d'extraits aqueux d'écorce / FLZ : Fluconazole / TRB : Terbinafine

### (3) Mécanismes et molécules impliqués :

La fraction insoluble à l'eau (WIF) de l'écorce est essentiellement composée de tanins condensés et d'un peu d'OA et de QAG. Les extraits d'OA et de QA purifiés ont un effet inhibiteur bien plus faible que la fraction WIF.

Les propriétés observées sont donc attribuées aux polymères de proanthocyanidines de hauts poids moléculaires. Ils sont responsables de dommages directs sur la paroi fongique comme le montrent d'une part la microscopie électronique de balayage où l'on perçoit la présence de dépôts ainsi qu'une perte de l'intégrité de la paroi fongique (figure 43) et d'autre part les analyses spectrales. La perte d'intégrité de la membrane provoque, en plus de l'inhibition directe des souches, une perméabilité augmentée aux antifongiques (FLZ et TRB) qui explique les synergies observées. Ils modifient aussi la membrane des antifongiques, ce qui améliore leur efficacité notamment contre leurs souches résistantes.

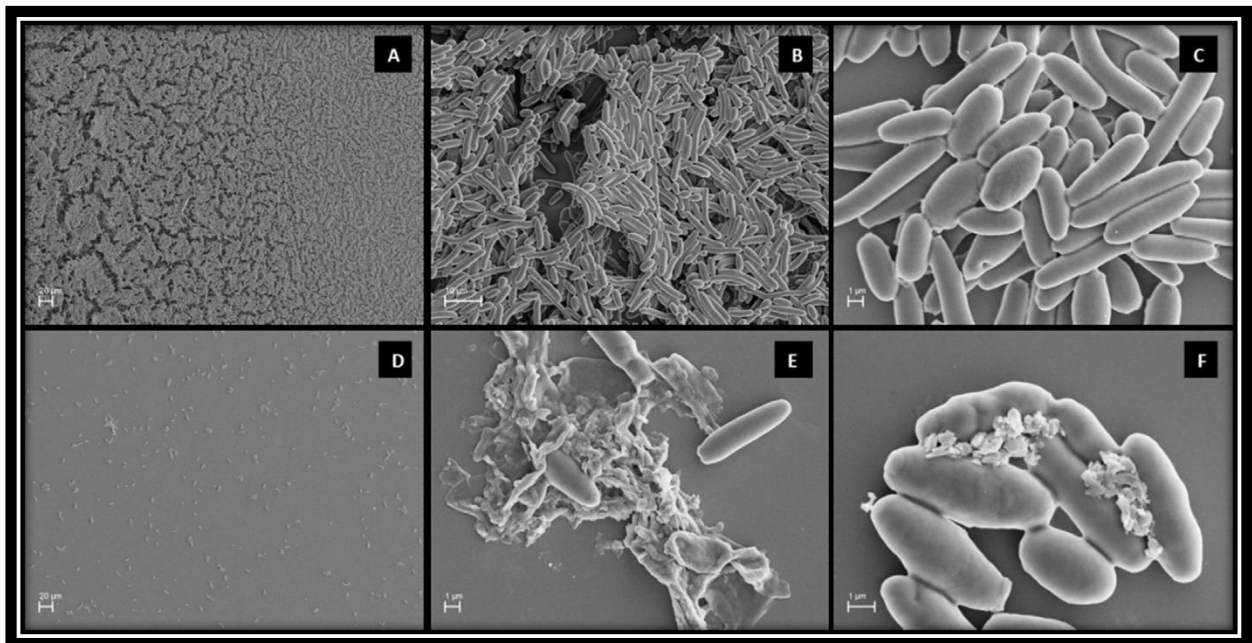


Figure 43: Observation au microscope électronique de balayage de *Candida krusei* sans (A : \*450 / B : \*2500 / C : \*10000) et avec (D : \*450 / E : \*10000 / F : \*18000) adjonction de la fraction insoluble à l'eau d'extrait aqueux d'écorce (WIF) à 7.81 mg/L (Morales et al., 2017)

L'effet antifongique des extraits d'*Uncaria tomentosa* est donc net sur les souches de *Candida non albicans krusei, parapsilopsis* et *glabrata*, propriété d'autant plus intéressante que certaines ont développé une résistance aux antifongiques de référence.

La fraction insoluble à l'eau de l'extrait aqueux d'écorce est de loin la plus active. Elle est constituée de tanins condensés et elle constitue la fraction à retenir pour les propriétés antifongiques d'*Uncaria tomentosa*, du moins contre le genre *Candida spp.* Elle pourrait constituer une thérapie phytothérapique complémentaire efficace contre la récurrence des candidoses chez les patients immunodéprimés sauf cas de pathologie auto-immune sous-jacente ou d'allogreffe et pour lesquels une stimulation de l'immunité est contre-indiquée.

## 2. Antimutagénicité :

### a) Réduction des dommages à l'ADN :

Les propriétés antioxydante et anti-inflammatoire de la plante, neutralisant les ROS, ont un effet sur la conservation de l'intégrité de l'ADN. Cette action protectrice est attribuée aux proanthocyanidines. Par le test des comètes (Santos Araújo et al., 2012)(Farias et al., 2012) ou la méthode des TBARS (Desmarchelier et al., 1997), des études ont montré la diminution de l'oxydation et l'augmentation de la protection de l'ADN par les extraits. L'implication d'autres composants que les polyphénols n'est pas à exclure. En 2009, Paniaga-Perez et al. (2009) ont observé que la pteropodine réduit les échanges entre chromatides sœurs chez la souris.

### b) Stimulation de la réparation de l'ADN et extraits C-MED-100<sup>®</sup>/AC-11<sup>®</sup> :

Les extraits aqueux standardisés d'*Uncaria tomentosa* C-MED-100<sup>®</sup> et AC-11<sup>®</sup> stimulent les mécanismes de la réparation parmi lesquels on compte le système NER (« *nucleotide excision repair* ») et le système M.R (« *mismatch repair* »).

Sheng et al. (2000) ont observé une réparation augmentée des cassures doubles brins (DSB) et complète des cassures simples brins (SSB) 3 heures après irradiation UV de cellules de rats supplémentés par le C-MED-100<sup>®</sup>. Chez l'Homme, ces mêmes extraits diminuent les SSB de manière dose-dépendante après induction des dommages oxydatifs par l'ion peroxyde (Sheng et al., 2001). Une diminution accrue des dimères de pyrimidines (TT-dimères), l'une des mutations type induite par les UVB, est aussi constatée par des chercheurs américains sur des cellules traitées par des dilutions d'extraits hydroéthanoliques d'écorce en post-irradiation (Mammone et al., 2006).

Les carboxy-alkyl-esters (CAE) et l'acide quinique qui correspondent aux agents actifs de ces extraits, apparaissent comme les composants responsables de ces effets.

D'après plusieurs chercheurs, ces composants ralentiraient le cycle cellulaire (blocage en phase S), laissant plus de temps d'action aux mécanismes de réparation de l'ADN.

### c) Intérêts thérapeutiques :

La préservation de l'intégrité des tissus sains prévient l'apparition de cancers. Les mutations, accrues lors de circonstances particulières (diminution de l'efficacité des mécanismes de réparation, exposition à des agents mutagènes...), peuvent former des tissus cancéreux. Par exemple, un lien étroit entre des mutations du gène p53 ou des gènes régulant le NFkb et le développement de tumeurs a été observé.

Ces propriétés sont utiles en dermatologie pour préserver la peau du rayonnement solaire. Elle a en effet permis de diminuer le développement de divers symptômes (érythèmes et cloques) et les anomalies chromosomiques pro-tumorales induites par les UV (Emanuel and Scheinfeld, 2007).

Les effets antimutagènes bénéficient aussi aux cellules de l'immunité. Il a par exemple été démontré que l'exposition aux UV est associée à une altération des lymphocytes T (Frentz et al., 1988) se traduisant par une réactivation de l'*herpès simplex virus* ou par une incapacité de l'immunité antitumorale à endiguer la progression de cellules carcinomateuses de la peau.

Enfin, la supplémentation s'avère intéressante chez des individus soumis à d'importants risques mutagènes comme les employés de secteurs à risque, les malades souffrant d'inflammation chronique ou encore la population des fumeurs. Une diminution de la mutagénicité dans les urines d'un fumeur suite à l'ingestion pendant 15 jours d'une décoction d'écorce d'*Uncaria tomentosa* a pu être démontrée (Rizzi et al., 1993). La population âgée constitue également une cible privilégiée puisque les défenses antioxydantes et les mécanismes de réparation de l'ADN de l'organisme tendent à s'affaiblir avec l'âge.

Les propriétés antimutagènes d'*Uncaria tomentosa* correspondent donc d'une part à la réduction directe des dommages sur l'ADN médiée par l'activité antiradicalaire des tanins et d'autre part à la capacité de stimuler les mécanismes de réparation de l'ADN. Cette dernière est étroitement liée aux agents actifs des extraits C-MED-100<sup>®</sup> et AC-11<sup>®</sup> (CAE et acide quinique). Ces extraits standardisés, conseillés pour leur effet antioxydant et réparateur de l'ADN (exemple : PROTECTAGEN<sup>®</sup>), sont à privilégier si l'on cherche à bénéficier des propriétés antimutagènes de la plante.

### **3. Effet sur la muqueuse utérine et les ovaires :**

Les indiens utilisent *Uncaria tomentosa* comme contraceptif. Des chercheurs, dirigés par le professeur Neto, de l'hôpital universitaire de Maranha au Brésil, ont confirmé dans une série de travaux datant de 2011 l'effet de la plante sur l'épithélium utérin et les ovaires de modèles murins. Ils ont étendu leurs recherches à l'endométriose.

#### **a) Effet contraceptif :**

L'effet contraceptif a été étudié en comparant 3 groupes de rattes. Le groupe test a reçu des extraits hydroalcooliques d'écorce, le groupe contrôle positif du leuprolide (analogue de la GnRH inhibant par rétrocontrôle la prolifération de l'endomètre et la maturation des follicules ovariens) et le groupe témoin un véhicule salin.

Alors que les témoins présentent une prolifération endométriale normale dans 80% des cas, celle-ci est réduite à 10% chez les rattes traitées par *Uncaria* et 0% chez celles traitées avec le Leuprolide. La même tendance est observée pour le développement du follicule ovarien ainsi que pour la maturation du corps jaune.

L'administration d'écorce d'*Uncaria tomentosa* pendant 14 jours a donc permis d'exercer un effet contraceptif sur des modèles murins, similaire à l'utilisation d'un analogue de la GnRH, en inhibant le développement des follicules ovariens, la maturation du corps jaune et la prolifération de l'endomètre (Nogueira Neto et al., 2011).

#### **b) Thérapie complémentaire dans l'endométriose :**

Cette maladie chronique touche 5 à 20% des femmes en âge de procréer. Elle consiste en le détachement, la migration et l'implantation de cellules endométriales ailleurs que dans la cavité utérine. Leur implantation est associée à la formation de lésions cicatricielles ainsi qu'au développement d'une réaction inflammatoire. Elle peut provoquer de violentes douleurs pelviennes.

Tout comme l'endomètre, les implants endométriaux sont sensibles à l'œstrogène. Une première stratégie hormonothérapique consiste à bloquer la sécrétion d'œstrogènes par les ovaires. Une deuxième fait intervenir la chirurgie pour exciser les implants. Pour pallier aux contraintes importantes de ces méthodes, les scientifiques recherchent de nouveaux traitements n'excluant pas le domaine de la phytothérapie.

*Neto et al.* (2011) ont alors testé des extraits de la liane sur des rattes chez qui une endométriose a été induite par implantation mésentérique de tissus endométrial. Une nette diminution du volume des implants est observée dans le groupe supplémenté en extrait d'écorce, à l'inverse du groupe contrôle après seulement 14 jours. Ces constatations permettraient d'envisager l'utilisation de la plante dans la thérapie de l'endométriose chez l'Homme.

### c) Les mécanismes impliqués :

Il n'y a pas d'action cytotoxique directe sur l'épithélium utérin. La diminution de prolifération du tissu endométriale serait due à une diminution de sécrétion d'œstrogènes elle-même liée au blocage de maturation des follicules ovariens par les extraits. Selon *Salazaar et al.* (1998), l'administration de la plante est responsable d'une déplétion des récepteurs à l'œstrogène qui pourrait aussi expliquer les effets observés.

Les extraits d'*Uncaria tomentosa* sont en mesure de modifier certaines composantes du cycle menstruel chez le rat avec une inhibition de la prolifération de l'endomètre, du développement folliculaire et du corps jaune.

Cet effet est aussi responsable d'une toxicité sur la reproduction qui, bien qu'il n'y ait pas d'évaluation clinique, contre-indique l'utilisation de la plante chez la femme enceinte ou qui désire concevoir.

La société européenne pour la reproduction Humaine et l'embryologie (ESHRE) a établi une recommandation de grade D (faible recommandation) pour l'utilisation de plantes dans le traitement de l'endométriose. Cela dit, elle admet que la phytothérapie ne doit pas être écartée car elle peut soulager les douleurs et la qualité de vie des patientes.

La plante pourrait ainsi constituer un traitement phytothérapeutique complémentaire contre l'endométriose, ne serait-ce que pour limiter l'usage des traitements conventionnels lourds en effets indésirables et en complications.

Il reste à savoir si ces effets, démontrés sur des modèles murins, peuvent être extrapolés à l'Homme. Il en est hautement probable d'après l'usage traditionnel qu'en font les tribus indiennes mais des études cliniques sont nécessaires pour le confirmer.



## 4. Autres utilisations :

### a) Protection cardio-vasculaire :

#### (1) Circulation sanguine et Flavonoïdes :

Certaines populations d'indiens d'Amérique du Sud ont une faible prévalence de maladies cardio-vasculaires. Il n'en est plus de même lorsque ces populations migrent dans les grandes villes ; les scientifiques excluent l'hypothèse d'une prédisposition génétique et l'expliquent plutôt par un régime alimentaire à base de denrées végétales riche en polyphénols, comme par exemple les graines de cacao.

Les bénéfices de ces composés sur les paramètres cardio-vasculaires ont été exposés lors du 6<sup>ème</sup> congrès international sur les polyphénols et la santé (ICPH) qui s'est tenu en Argentine en 2013.

Il a été dit que les flavonoïdes augmentent la sécrétion de NO et diminuent celle de l'endothéline-1 par les cellules endothéliales entraînant une vasodilatation des artères et une diminution de la pression artérielle. Ils optimisent la circulation, ils diminuent la rigidité et la perméabilité des artères et luttent contre l'ischémie en régulant la néovascularisation par un effet angiogénique à faible dose qui peut toutefois s'inverser à des doses plus importantes (important pour l'effet anticancéreux) (Lotito, n.d.).

#### (2) Phytostérols et cholestérol :

Les phytostérols ayant une composition similaire au cholestérol inhibent par un processus compétitif son absorption au niveau intestinal. Par ailleurs, une équipe Américaine a montré qu'ils sont en mesure d'inhiber la transcription du gène de l'HMG-CoA réductase nécessaire à la synthèse du cholestérol (Field et al., 1997).

## b) Maladie d'Alzheimer et extrait PTI-00703<sup>®</sup> :

L'accumulation de peptides bêta-amyloïdes et d'enchevêtrements de protéines Tau dans le parenchyme cérébral est en lien direct avec la perte de la mémoire et de la cognition chez la personne âgée. Lorsque ces mécanismes s'accumulent de manière pathologique apparaissent les déficiences cognitives et la démence.

En effet, l'accumulation de centaines de milliers de ces plaques amyloïdes et enchevêtrements neurofibrillaires de protéines Tau hyperphosphorylées (figure 44) ainsi que le développement d'inflammation dans le tissu cérébral conduisent à une perte neuronale et à un dysfonctionnement synaptique important pouvant mener à la maladie d'Alzheimer (Bloom, 2014). Le diagnostic de cette dernière passe d'ailleurs par la mise en évidence de ces adduits en imagerie cérébrale.

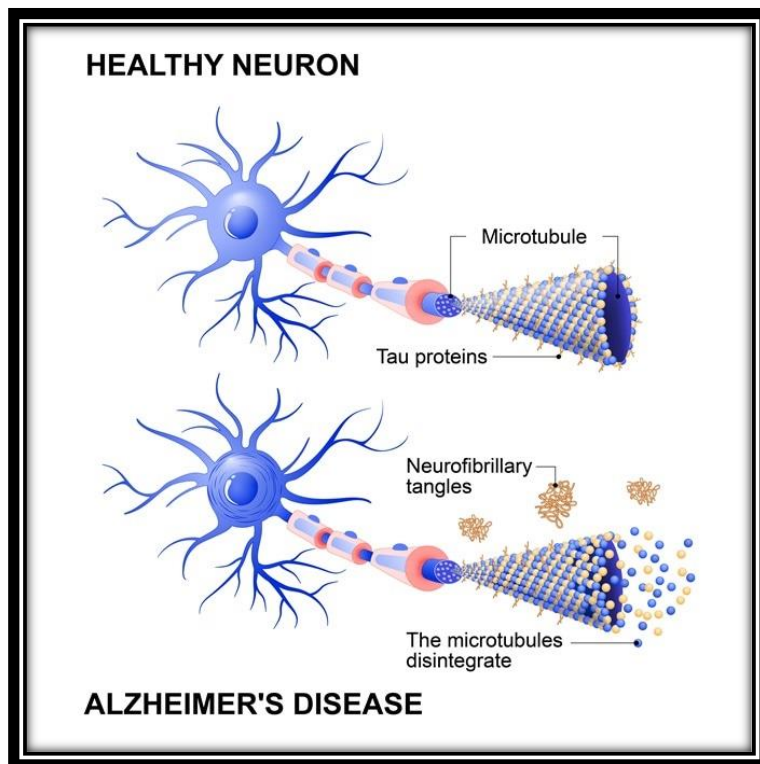


Figure 44: Les protéines Tau hyperphosphorylées s'aggrègent et ne maintiennent plus la structure des microtubules neuronaux : Les axones se désintègrent. (source : « <http://www.news-medical.net> »)

Bien que peu de traitements médicamenteux existent, une approche thérapeutique consiste en la réduction des plaques amyloïdes et des amas de protéines Tau par immunothérapie. Par exemple, l'« *aducanumab* » (Biogen<sup>®</sup>) est un anticorps monoclonal qui se lie aux peptides bêta-amyloïdes toxiques les neutralisant et favorisant ainsi leur élimination (Budd Haeberlein et al., 2017). D'après les études cliniques entreprises, la diminution du nombre des plaques amyloïdes et des enchevêtrements de protéines Tau est corrélée à une amélioration de l'état cognitif et de la mémoire à court terme.

C'est la raison pour laquelle la recherche scientifique sur la

maladie d'Alzheimer et plus généralement sur le vieillissement cérébral met un point d'honneur à découvrir de nouvelles substances, chimiques ou naturelles, qui seraient susceptibles de réduire les plaques amyloïdes et les enchevêtrements neurofibrillaires. A cet égard, *Uncaria tomentosa* s'est illustrée dans plusieurs études comme possédant des propriétés inhibitrices et dissolvantes de ces adduits plutôt encourageantes.

Entre autres, des scientifiques américains montrent, *in vitro* comme *in vivo* sur des souris transgéniques surexprimant l'APP (précurseur des peptides A $\beta$ ), qu'un extrait standardisé d'écorce d'*Uncaria tomentosa* (PTI-00703<sup>®</sup>) diminue la formation des plaques amyloïdes et des enchevêtrements de protéines Tau et les désagrège en un réseau non fibrillaire amorphe. Ils notent en parallèle une amélioration de l'état cognitif des souris évalué par le test du labyrinthe de Morris (Alan D. Snow et al., 2019).

Lorsqu'ils mettent en relation la composition de l'extrait avec ses propriétés inhibitrices, ils découvrent que les polyphénols en sont les principaux acteurs, notamment les proanthocyanidines dont il a plusieurs fois été démontré qu'elles traversent la barrière hémato-encéphalique pour se retrouver dans le parenchyme cérébral quelques minutes seulement après leur administration dans la circulation périphérique.

Parmi elles, les procyanidines B2 ont montré la meilleure efficacité, suivies par les B4 et C1 ainsi que divers trimères et tétramères de (épi)catéchine. Les alcaloïdes n'ont eu qu'un faible effet inhibiteur et ne sont donc pas à retenir pour cette indication. D'après les chercheurs, l'activité antioxydante n'est pas impliquée mais la propriété serait davantage liée à la structure. Les molécules efficaces ont en commun la présence de noyaux catéchol avec 2 fonctions hydroxyles adjacentes.

Ensemble avec les effets anti-inflammatoires de la plante, ces propriétés du PTI-00703<sup>®</sup> permettent une amélioration de la cognition et de la mémoire chez l'individu âgé. D'autres extraits ont également montré des effets inhibiteurs mais moindres par rapport au PTI-00703<sup>®</sup>. PERCEPTA<sup>®</sup>, l'un des seuls compléments alimentaires sur le marché ayant obtenu des résultats efficaces et répétitifs sur les déficiences cognitives en clinique, est d'ailleurs composé du PTI-00703<sup>®</sup> associé à du thé oolong, autre substance présentant des propriétés inhibitrices. Ces extraits standardisés d'écorce d'*Uncaria tomentosa* constitue donc une ressource phytothérapeutique aux effets prometteurs dans le traitement du vieillissement cérébral et des patients atteints de déficiences cognitives comme la maladie d'Alzheimer.

### c) En cosmétique :

L'industrie de la cosmétique s'est également emparée des propriétés de la plante notamment pour l'intégrer dans des produits contre le vieillissement de la peau. Elle s'intéresse en effet à son action protectrice contre les diverses agressions extérieures liée à son fort potentiel antioxydant.

Pour résumer, l'immunostimulation, liée aux POA de la plante, est due à un accroissement de l'activité lymphocytaire, de la phagocytose et des précurseurs de la lignée myéloïde. Cette activité s'avère utile dans les situations de dépressions immunitaires (comme par exemple l'infection par le VIH).

Des effets immunomodulateurs et anti-inflammatoires par inhibition du NF $\kappa$ B et du TNF $\alpha$ , médiés par les POA, sont aussi observés. Avec les triterpènes, les POA permettent une atténuation de la symptomatologie inflammatoire qui explique les effets bénéfiques de la plante sur les divers troubles inflammatoires articulaires.

Les tanins condensés présentent un effet antiradicalaire, ce qui, avec la modulation des enzymes antioxydantes, est le principal mécanisme antioxydant de la plante. La stimulation de l'immunité, la diminution de l'inflammation et les propriétés antioxydantes sont impliquées dans la prévention de la cancérogénèse.

En curatif, tous les composants sont cytotoxiques ou inhibiteurs de la croissance de plusieurs lignées de cellules tumorales. Le mécanisme anticancéreux principal est la modulation sélective du stress oxydant. Il permet de stimuler l'apoptose des cellules tumorales tout en protégeant les cellules saines. De plus, en thérapie complémentaire, la plante renforce l'efficacité des chimiothérapies et diminue leur effet secondaire principal qui est la neutropénie. Les propriétés anticancéreuses de la plante sont prometteuses et méritent d'être complétées par de futures études.

D'autres propriétés confirment l'usage traditionnel de la plante : Ses composants sont antibactériens, antifongiques et antiviraux. Ces effets anti-infectieux sont une bonne alternative phytothérapique aux effets indésirables et aux résistances accrues des germes aux thérapies standards. Les tanins condensés et les acides quiniques (et esters) confèrent à la plante des propriétés antimutagènes. Les extraits de la plante perturbent la sécrétion des hormones ovariennes : ils inhibent notamment la sécrétion d'œstrogènes ainsi que la prolifération endométriale. L'effet contraceptif qui en résulte contre-indique l'utilisation de la plante en cas de grossesse et s'est avéré bénéfique dans le traitement de l'endométriose en pré-clinique. Enfin les polyphénols de la plante améliorent le profil cardiovasculaire et les procyanidines des extraits PTI-00703<sup>®</sup> sont en mesure de désagréger les plaques amyloïdes du parenchyme cérébral, diminuant le processus de vieillissement cérébral.

Ces propriétés font d'*Uncaria tomentosa* un traitement phytothérapique fort intéressant aux indications diverses et variées qui explique l'engouement des consommateurs pour la plante depuis les années 80. Toutefois, diverses problématiques sont associées à son utilisation, ce qui fait l'objet du prochain chapitre.

## **IV. Utilisation de la plante en thérapeutique :**

Ce dernier chapitre aborde divers problèmes rencontrés au sujet de l'utilisation d'*Uncaria tomentosa* en thérapeutique :

Dans un premier temps, il sera traité des données pharmacologiques qui permettront d'entrevoir les différentes formes galéniques existantes, les diverses toxicités, les effets indésirables, les interactions et les contre-indications relatives à l'usage de la plante. Il pourra être constaté qu'à l'exception de certaines situations, l'usage de la plante est plutôt associé à un faible risque.

Dans un second temps seront évoqués les manquements que présentent les études scientifiques entreprises sur la plante jusqu'à aujourd'hui ayant pour conséquence l'établissement d'une base de données encore trop imprécises selon les instances européennes du médicament.

Enfin, il y sera exposé les difficultés d'exploitation et d'utilisation de la ressource, comme la répartition aléatoire des chimiotypes des spécimens dans leur milieu naturel, la sur-exploitation de la ressource ou encore les problèmes de législation.

## A. Récapitulatif des formes existantes :

L'agence européenne des médicaments dans un rapport sur *Uncaria tomentosa* récapitule les formes galéniques existantes dont les principales sont synthétisées dans le tableau suivant :

Tableau VII: Les différentes formes galéniques d'*Uncaria tomentosa* selon l'EMA (liste non exhaustive)

Partie utilisée	Forme	Forme galénique	Dosage par unité	Posologie	Indication	
Ecorce de tige	Pure	Tisane	Sachets ou en vrac	1 à 3 infusions /jour	(1) : Inflammation, Arthrite, Renforcement immunitaire, Infections diverses, ...etc...	
	Pure en poudre	Gélules	150 mg	2 à 6 fois/jour (3 fois/jour pour l'enfant)		
			300 mg	3 fois/jour		
			330 mg	3 à 6 fois/jour (1 fois pour enfant)		
			380 mg	4 fois/jour		
			500 mg	3 fois/jour		
	Extraits secs	Comprimés	100 mg	1 à 3 fois/jour	Morsure, brûlure, inflam.	
			Gel	20 mg/g de gel		2 à 3 appl./jour
			Crème	50 mg/g de crème		4 à 5 appl./jour
	Extraits fluides	Goutte	DER = (1 :3)	30 gtte , 1 à 3 fois /jour pur ou dilué dans l'eau	(1)	
Racine ou écorce de racine	Extraits secs	Gélules	20 mg	1 à 3 fois/jour	Polyarthrite rhumatoïde	
		Comprimés	100 mg	1 à 3 fois/jour	(1)	

Le tableau ne fait pas mention des extraits standardisés parmi lesquels se retrouvent :

- Samento<sup>®</sup>: Extrait hydroalcoolique de racines à 0.5% POA et sans TOA.
- Batch-2<sup>®</sup>: Extrait aqueux riche en polyphénols (indication dans les maladies neurodégénératives).
- PTI-00703<sup>®</sup> : Extrait aqueux d'écorce riche en polyphénols (indication dans la maladie d'alzheimer et le vieillissement cérébral).
- C-MED-100<sup>®</sup> et AC-11<sup>®</sup> : Extraits aqueux d'écorce standardisés respectivement à 8-10% et 16-20% m/m de CAE (antimutagène et protection de l'ADN).

Les teintures sont aussi disponibles. Les posologies sont déduites de l'usage traditionnel car peu d'études pharmacologiques sont disponibles à ce jour. Ces formes sont disponibles sur internet, ce qui peut poser un problème de fiabilité de la ressource. Il est en effet plus sûr de l'acquérir en pharmacie où, selon la législation en vigueur, seule l'écorce de tige (et ses dérivés) est disponible. Certains répartiteurs spécialisés (pour les herboristeries) ainsi que plusieurs laboratoires comme Phytofrance ou Arkopharma (en Amérique du Sud) proposent diverses formes galéniques aux pharmaciens.

## **B. Données pharmacologiques :**

### **1. Effets indésirables :**

#### **a) Données pré-cliniques :**

##### **(1) Toxicité aiguë :**

La dose létale médiane (DL50), selon *Keplinger et al.* (1999), dépasse 16 g/kg d'extrait (dosé à 3,5% m/m de POA) puisque seulement 2 rats sur les 10 sont morts à cette dose. L'autopsie des rongeurs a montré une hémorragie importante de l'estomac et de l'intestin associée à une pâleur de la rate et du foie. Cette dose de test est bien supérieure aux doses thérapeutiques recommandées (inférieures à 2 g/jour d'extraits répartis en 3 prises pour un sujet adulte pesant aux alentours de 60 kg, soit par extrapolation moins de 34 mg/kg/jour répartis en 3 prises).

Les signes observés par *Keplinger* après ingestion des 16 g/kg sont une piloérection et une léthargie. Les souris survivantes (8 sur les 10) ont récupéré en moins de 5 jours après l'arrêt de l'administration et n'ont pas présenté de séquelles.

A des doses plus faibles (150 mg/kg) ou thérapeutiques, pas ou peu de toxicité sont observées chez la souris, ni d'atteintes histologiques ou hématologiques.

##### **(2) Toxicité subaiguë et chronique :**

Aucune toxicité à des doses de l'extrait C-MED-100<sup>®</sup> de 40 à 80 mg/kg/jour pendant 8 semaines et de 160 mg/kg/jour pendant 4 semaines n'est observée. Toutefois, ces extraits standardisés ne renferment pas d'alcaloïdes (ou en de très faible teneurs) qui sont les composants les plus nocifs de la plante (*Sheng et al.*, 2000).

*Keplinger et al.* (1999) n'observent pas de toxicité non plus à une dose de 1g/kg/jour d'extraits de racines (composition comparable à l'écorce) pendant 4 semaines mise à part une légère diminution du poids moyen des reins des souris testées ainsi que de légères modifications sur la formule sanguine (augmentation des lymphocytes). L'autopsie des rongeurs n'a révélé aucune anomalie histologique. Aucun signe de maladies, de symptômes ou de changement de comportement n'a été noté pendant la période d'observation.

Certaines études montrent une augmentation légère du volume de la rate après administration d'un extrait hydroalcoolique d'écorce pendant 28 jours (*Domingues et al.*, 2011). Une



augmentation des enzymes hépatiques en administration chronique d'une dose de 10 mg/kg/jour d'extraits à des rats au terme de la période d'observation (3 mois) sans autre effet hématologique ou histologique a pu être observée (Paredes et al., 2018).

### (3) Génotoxicité :

La plante a plutôt un effet protecteur sur l'ADN et stimulateur de sa réparation bien que peu d'études sur la mutagénicité n'aient été effectuées.

### (4) Toxicité de la reproduction :

Des extraits de la plante ont altéré les hormones du cycle ovarien ainsi que l'embryogénèse sur des poulets.

L'administration pendant 8 semaines d'une faible dose d'extrait de la plante à des animaux a été responsable d'une inhibition de la synthèse des œstrogènes et de la progestérone d'environ 68% et 71% respectivement à la fin de la période d'observation.

Ces perturbations apparaissent assez importantes pour déclencher la stérilité chez l'animal : des rattes nourries avec des extraits de la plante et mises en contact avec des mâles dans des conditions favorables à leur reproduction ne sont pas parvenues à procréer, confirmant les propriétés contraceptives de la plante (EMA and Committee of Herbal Medicinal Products, 2015).

### (5) Cancérogénicité :

Aucuns travaux n'évaluent la cancérogénicité de la plante. En revanche, nombreux sont ceux qui pointent ses propriétés anticancéreuses (cf. chap. effets anticancéreux) à la fois *in vitro* sur diverses lignées cancéreuses qu'*in vivo* sur des modèles animaux et humains.

### (6) Hématotoxicité :

Les extraits n'ont pas montré de toxicité sur les érythrocytes. Le seul effet qui a pu être rapporté *in vitro* est une augmentation de la taille des érythrocytes lorsqu'ils sont mis en contact avec des extraits de la plante. Les polyphénols ont une affinité pour les parois des globules rouges formant une couche sur leurs membranes externes. Cette propriété pourrait

avoir un effet protecteur puisque d'une part protège le globule du stress oxydant et d'autre part prévient l'hémolyse agissant comme une barrière (Bors et al., 2011).

#### (7) Tolérance locale :

La plante est bien tolérée localement si bien qu'il existe au Brésil une crème à base d'*Uncaria tomentosa* pour traiter les boutons de fièvre.

#### b) Données cliniques :

Elles n'ont pas mis en évidence d'effets indésirables sérieux, hormis quelques troubles gastro-intestinaux bénins, une asthénie voire une fébricule.

Rarement mais plus inquiétant, sont apparus une hypotension artérielle et des saignements modérés. Les TOA de la plante peuvent ralentir le rythme, la contraction cardiaque et la coagulation.

Des cas isolés de pharmacovigilance ont été notés : 3 tasses par jour d'infusion d'écorce pendant 3 semaines sur des patients parkinsoniens ont accentué les symptômes moteurs (hypokinésie et tremblements) chez un patient avec réversibilité à l'arrêt de la supplémentation (Cosentino and Torres, 2008). Une augmentation de la Cmin des antirétroviraux a été observée chez des patients sidéens (López Galera et al., 2008). D'autres chercheurs ont observé une atteinte hépatique avec augmentation des transaminases ainsi qu'un épisode de néphrite allergique aigue chez une femme consommant 4 capsules d'*Uncaria tomentosa* par jour avec disparition de l'effet 1 mois après l'arrêt de la supplémentation (Hilepo et al., 1997).

Les extraits d'*Uncaria tomentosa* ne présentent donc, sauf cas exceptionnel, aucune toxicité majeure lorsqu'ils sont administrés aux doses préconisées. Toutefois il est nécessaire de prendre en compte d'une part la présence d'alcaloïdes, notamment les TOA (toxicité cardiaque), et d'autre part la toxicité de la plante sur la reproduction et le cycle ovarien pouvant induire une stérilité chez l'animal.

## 2. Interactions médicamenteuses :

### a) Modification du métabolisme des médicaments :

Les extraits de la plante ont montré *in vitro* une inhibition du CYP3A4 qui a pu atteindre 40% et dans une moindre mesure des autres isoformes comme les 2D6, 2C19 et 2C9 (Weiss, 2019). C'est pourquoi des interactions peuvent avoir lieu avec les médicaments ou les plantes métabolisés par ces isoformes, en particulier le 3A4 représentant 30 à 50% des cytochromes hépatiques.

Les extraits d'*Uncaria tomentosa* ont également inhibé *in vitro* l'expression du gène de la glycoprotéine P (ABCB1), protéine d'efflux impliquée notamment dans l'absorption intestinale des médicaments ainsi que de l'UDP-glucuronyl-transférase, enzyme hépatique de la phase 2 de métabolisation des médicaments (conjugaison).

### b) Effets additifs :

L'usage concomitant de médicaments ou plantes qui agissent sur la coagulation (aspirine, AVK, *gingko biloba*, ail...) peut augmenter le risque de saignement.

De même, la possible toxicité cardiaque de la plante peut majorer les effets de médicaments ou plantes agissant sur le cœur (baisse de tension, bradycardie...).

Elle peut aussi majorer les effets hypocholestérolémiantes de certaines drogues (statines ou fibrates) ainsi que perturber l'action de certains agents hormonaux agissant sur la sécrétion d'œstrogènes et de la progestérone (contraceptifs).

### c) Cas de pharmacovigilance :

Peu d'interactions ont été rapportées chez l'Homme. Parmi les cas existants, il a été observé une modification de l'absorption et de la distribution de certains radiobiocomplexes utilisés en imagerie (pertechnetate de sodium :  $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ ) (Moreno et al., 2007), une interaction avec le diazepam (modification de l'activité motrice et de l'efficacité de la relaxation musculaire) (Quílez et al., 2012), ainsi qu'une majoration de l'effet anticoagulant et antihypertenseurs en administration simultanée avec des drogues à visée cardiovasculaire (Vogel et al., 2019).

### 3. Précautions particulières :

#### a) Utilisations déconseillées ou à surveiller :

Son utilisation est donc déconseillée ou à utiliser avec prudence chez des patients présentant des troubles de la coagulation, des antécédents de saignements, qui sont traités par des anticoagulants ou bien qui doivent subir une opération chirurgicale.

De la même manière, son utilisation simultanée avec des traitements à visée antihypertensive ou hypocholestérolémiante (statine) est à surveiller en raison du risque d'apparition de surdosage.

Des mesures de précaution et des adaptations posologiques sont préconisées chez les patients traités par certaines drogues, notamment les substrats du cytochrome 3A4 à marge thérapeutique étroite.

Enfin, pour cause de données cliniques insuffisantes, l'allaitement est à éviter avec la prise de la plante.

#### b) Contre-indication :

En raison de son caractère immunostimulant, la plante ne doit pas être utilisée chez des patients présentant des maladies auto-immunes ou bien porteurs de greffe ou transplantation, de même qu'elle ne doit pas être utilisée concomitamment à un vaccin ou un traitement immunosuppresseur. Les spécialistes interdisent la prise chez l'enfant de moins de 3 ans (adaptation posologique chez l'enfant de plus de 3 ans et l'adolescent).

Enfin, étant donné la potentielle toxicité sur la reproduction évaluée en phase pré-clinique et bien qu'aucune étude clinique ne soit disponible, son utilisation au cours de la grossesse ou chez la femme qui désire concevoir est contre-indiquée.

Les données pharmacologiques permettent de conclure qu'aux doses thérapeutiques, l'utilisation d'*Uncaria tomentosa* ne présente pas de toxicité sérieuse. A l'exception de quelques cas isolés, en réalité peu d'effets néfastes ont été rapportés.

On note toutefois des perturbations sur le cycle ovarien et la reproduction observées en pré-clinique. L'« *American Herbal Product Association* » classe la plante en catégorie de sécurité 2B (à ne pas utiliser pendant la grossesse). Cette même association la classe en niveau d'interaction A (pas d'interaction significatives). Des interactions ont pourtant été décelées (cytochromes P450), mais elles restent minimales aux doses thérapeutiques.

Elle est donc à exclure dans certaines situations, notamment la grossesse. La classification au palier D de la plante par l'« *American Hospital Formulary Service Classification System* » traduit toutefois un niveau d'étude et de données pharmacologiques trop faible. Ces dernières doivent par ailleurs faire face à des variabilités de teneurs et de répartition importantes au sein des spécimens recueillis en milieu naturel.

## **C. Incomplétude des études :**

### **a) En nombre insuffisant :**

Bien que présentant des résultats probants, elles sont en nombre insuffisant pour la mise en place de conclusions irréfutables en vue de l'établissement d'une monographie européenne. Il n'y a pas assez d'études sur les contre-indications, les interactions potentielles, les précautions d'emploi ou encore sur la pharmacocinétique (absorption, élimination...).

A ce manque de données s'ajoute un faible nombre d'études cliniques sur l'être humain. Pas ou peu d'études sur la femme enceinte, sur le mésusage et le surdosage, sur l'insuffisance hépatique ou rénale ou encore sur l'enfant et l'adolescent sont disponibles. En termes de chiffres, seulement 12 essais cliniques ont été effectués ayant inclus en tout 370 patients, traitant de 7 pathologies différentes et utilisant des extraits de nature différente et parfois mal caractérisés. C'est à l'heure actuelle trop faible pour conclure de manière rationnelle que les données obtenues en pré-cliniques sont transposables à l'Homme.

### **b) Résultats et mécanismes à approfondir :**

Parmi les points à éclaircir se trouve l'effet de la plante sur le profil cytokinique dont les résultats des études diffèrent. Les principales propriétés de la plante font de plus intervenir des mécanismes complexes non clairement élucidés. De même, d'autres composants de la plante restent toujours à découvrir.

Les rôles principaux des composants de la plante sont connus. Les propriétés secondaires le sont moins. On sait par exemple que les POA sont immunostimulants ou que les polyphénols sont en grande partie responsables de l'effet antioxydant. Mais l'implication d'autres composants et leur synergie doivent être approfondies (Le C-MED-100<sup>®</sup> dépourvu de POA a par exemple montré une capacité immunostimulatrice en prolongeant la survie des lymphocytes).

### c) Imprécisions :

Certaines études ne mentionnent pas la composition précise de l'extrait étudié. D'autres ne font pas mention de la partie utilisée ou de manière imprécise. Par exemple, l'écorce est la partie qui est la plus étudiée mais il faut distinguer l'écorce de racine et l'écorce de tige.

Bien que leur composition ne diffère pas beaucoup, cette imprécision pose problème dans le cadre de l'établissement d'un dossier en vue de l'enregistrement du médicament à l'ANSM.

## **D. Utilisation de la ressource :**

### a) Parties utilisées :

L'écorce de tige, inscrite à la pharmacopée, est la plus utilisée car son rapport POA/TOA est globalement élevé. La feuille est plus concentrée en principes actifs avec de plus un contenu plus homogène. Elle contient notamment plus de proanthocyanidines qui lui confèrent un avantage dans la lutte contre le stress oxydant. Cependant, elle est aussi l'organe avec le rapport POA/TOA le plus faible, ce qui est un frein important à son utilisation.

La racine est également retrouvée dans les produits commerciaux. Certains spécialistes affirment qu'elle renferme une teneur moyenne en alcaloïde supérieure à l'écorce (parfois d'un facteur 10) (Schauss, 1995). Cependant pour d'autres, il apparaît que la composition est similaire. D'un autre côté, les racines sont bien plus fines que l'écorce nécessitant une quantité de récolte plus importante. Dans un souci de conservation de l'espèce, la collecte des racines ne permet pas la repousse du plant (De Jong et al., 1999).

## b) Chimiotype et contamination des produits finis :

Il n'existe sur le terrain aucun moyen de distinction et de sélection des chimiotypes. Leur récolte est aléatoire. De plus, certaines entreprises ne contrôlent pas la matière première qui rentre dans la fabrication des produits finis. La composition de ces derniers demeure aléatoire. Plus gravement, des cas de contamination des produits finis par d'autres plantes ont pu être rapportés. C'est pourquoi il est nécessaire, pour les produits à base d'*Uncaria tomentosa*, de s'assurer de la fiabilité de la source de fabrication.

La présence des alcaloïdes, de surcroît les TOA, dans la liane est sujette à des variations multifactorielles (parfois d'un facteur supérieur à 30). Pour l'heure, tant qu'existe encore une absence de protocole de sélection des composants à la récolte comme à l'extraction, il est important de renforcer les contrôles sur les matières premières et les produits finis. La pharmacopée US fournit un critère de qualité pour l'écorce en établissant qu'elle est conforme à une utilisation efficace et sécurisée si ses teneurs en POA et en TOA sont respectivement supérieures à 0,3% m/m et inférieures à 0,05% m/m (voir annexe).

Enfin, une solution peut venir de l'ethnopharmacologie. Curieusement, des prêtres ashaninka parviennent à ne recueillir que des spécimens d'*Uncaria tomentosa* riches en POA. Nul ne sait de quelle manière ils procèdent étant donné qu'aucune différence morphologique ne semble séparer les spécimens. Qu'il s'agisse de conditions environnementales spéciales ou encore d'indices organoleptiques discrets, le secret reste bien gardé. Il s'avère que l'usage traditionnel peut fournir des informations utiles sur la façon de cultiver la plante.

## c) Sur-exploitation de la ressource :

Certains experts considèrent la liane comme une espèce végétale en voie d'extinction. Les mauvaises techniques de culture (récolte des racines plutôt que de l'écorce de tige), endommagent et ne permettent parfois pas la repousse des plants. S'ajoutent à cela une demande commerciale importante, le commerce illégal des trafiquants ainsi que l'activité humaine qui en transformant la forêt primaire en forêt secondaire cloisonne l'espace vitale de la liane entravant la dissémination des graines et créant ainsi des populations de plus en plus endogames moins disposées à survivre (Honório et al., 2017). Enfin, c'est la forêt amazonienne tout entière qui voit sa superficie diminuer d'années en années. Le poumon de la planète s'est vu défricher plus de 7900 km<sup>2</sup> de forêt entre Aout 2017 et Juillet 2018 contre 6950 l'année précédente (soit une augmentation de 13%) (@NatGeoFrance, 2018). Cette diminution de volume de son milieu naturel est à prendre en compte dans l'évaluation de l'exploitation de la ressource.

D'autres considèrent toutefois que la liane est pour plusieurs raisons loin d'être une espèce en voie d'extinction. D'abord, arguent-ils, la culture en milieu artificiel, à l'image des plantations privées, est en recrudescence et constituera le mode d'approvisionnement majoritaire dans

l'avenir. Ensuite, une prise de conscience et des moyens de lutte non négligeables pour la préservation ont été mis en place. Dans certaines localités, les manufactures et les collecteurs se sont mis d'accord sur des règles de préservation à suivre en milieu naturel (2 graines plantées pour 1 plant récolté, nettoyage des zones semées, respect du cycle de la liane avant récolte, découpe du tronc à 1 m de hauteur pour permettre la repousse...). A l'échelle gouvernementale et industrielle, des campagnes d'informations et de reforestations sont organisées dans lesquelles sont fournies aux locaux et fermiers des graines et des boutures pour replantation et des efforts importants sont réalisés pour l'amélioration des techniques de propagation. En 1996, plus de 200 hectares de terrains furent reforestés et plus de 100000 graines distribuées aux fermiers. 1997 fut nommée l'année de la reforestation tant les initiatives de replantation, parmi lesquelles 10000 Ha de la liane à replanter, furent nombreuses. Le gouvernement encourage et facilite aussi les initiatives des ONG avec lesquelles il établit des plans de conservation ainsi que des lois de protection.

Compte tenu de la décroissance de la forêt Amazonienne au fil des années, l'industrie ne doit pas perdre de vue l'éventuel épuisement des ressources ainsi que la sauvegarde de l'environnement. Elle doit, en collaboration avec les habitants et les collecteurs, améliorer les mesures de préservation non seulement de la griffe de chat mais des nombreuses espèces qui constituent la faune et la flore de l'Amazonie.

#### d) Législation européenne et médicaments à base de plante :

A une exception près (Krallendorn® : médicament à l'étude en Autriche issu du mélange d'*Uncaria tomentosa* et de la zidovudine pour le traitement du VIH), *Uncaria tomentosa* n'existent qu'en produits OTC. Or, parmi les scientifiques qui ont scruté les propriétés de la plante, d'aucuns n'excluent la possibilité de faire d'elle et de ses divers composants une ressource pour la fabrication de médicaments.

Les médicaments à base de plante doivent se voir accorder une autorisation par l'ANSM qui correspond au mieux à la délivrance d'une AMM ou au minimum à un enregistrement. L'AMM peut être acceptée suite à la présentation d'un dossier pharmacologique complet (avec entre autres réalisation d'études par le demandeur et présentation de résultats pré-cliniques et cliniques favorables) ou bien sur la base d'un usage médical bien établi qui nécessite un dossier plus allégé, dit bibliographique (avec entre autres présence d'études pré-cliniques et cliniques favorables dans la littérature).

Un enregistrement à l'ANSM, étant une procédure simplifiée, nécessite un dossier moins conséquent. A la place des études pré-cliniques et cliniques, le demandeur doit fournir des preuves établissant l'usage du médicament depuis au moins 30 ans dont 15 en Europe ainsi qu'une étude bibliographique établissant l'innocuité du produit ou les données nécessaires à l'évaluation de la sécurité(ANSM, n.d.).



Un rapport de l'EMA (*European Medicament Agency*) datant de 2014 spécifie qu'*Uncaria tomentosa* n'est pas compatible avec une AMM, même sur la base d'un usage médical bien établi, car il manque de précisions et d'évidences cliniques. De plus, même si l'usage en Europe depuis au moins 15 ans peut être justifié (poudre d'écorce utilisée en Espagne depuis 1998 entre autres), les preuves d'une utilisation médicale depuis au moins 30 ans hors Europe ainsi que des informations précises et accréditées sur les indications, les posologies ou encore les formulations pharmaceutiques ne sont pas ou trop peu disponibles. Par conséquent, un enregistrement à l'ANSM ou l'établissement d'une monographie européenne ne sont pour l'heure pas réalisables non plus (EMA and Committee of Herbal Medicinal Products, 2015).

Bien que l'écorce de tige soit listée dans la pharmacopée française, son changement de statut est également freiné par une relative méconnaissance de la plante dans le milieu scientifique européen. Il est pourtant nécessaire, comme l'indiquent les conclusions du rapport de l'agence européenne du médicament, d'effectuer davantage d'études cliniques pour consolider les connaissances acquises.

Ainsi pourra-t-on disposer d'une base solide pour d'une part satisfaire aux exigences de la directive 2004/24/EC du parlement européen en vue de l'établissement d'une monographie Européenne et d'autre part fournir à l'ANSM les données manquantes en vue au minimum de l'enregistrement ou au mieux de la délivrance d'une AMM.

Pour clore ce 4<sup>ème</sup> chapitre, les données pharmacologiques mettent en évidence une toxicité sur la reproduction et le cycle ovarien qui contre-indique l'utilisation de la plante en cas de grossesse ou de désir de conception. Exceptés quelques cas isolés, aucune autre toxicité sérieuse n'a été signalée. La plante inhibe les cytochromes P450 et peut donc interagir avec certaines drogues.

Les évaluations cliniques sont insuffisantes et les données disponibles ne sont à ce jour pas assez complètes pour permettre un enregistrement à l'ANSM ou l'établissement d'une monographie européenne.

Au vu des variations de contenu et de la présence d'alcaloïdes potentiellement cardiotoxiques, les contrôles sur la matière première et les produits finis sont importants. L'utilisation de l'écorce de tige se justifie par une forte concentration en POA tandis que la récolte des racines ne permet pas la repousse du plant et que les feuilles présentent une teneur en TOA trop importante.

Les pays importateurs tendent fortement à l'import de la matière première brute pour fabriquer eux-mêmes les produits finis. L'industrie Sud-américaine doit donc se renforcer pour rester compétitrice, ce qui à terme portera préjudice aux petits entrepreneurs.

Il apparaît que la liane est encore abondante dans son milieu naturel mais une sur-exploitation de la ressource doit sérieusement être prise en compte afin d'éviter son épuisement dans un contexte de déforestation de la forêt amazonienne. Sujet d'autant plus en vogue que l'élection du nouveau président Brésilien Jair Botsonaro en 2018, dont les ambitions économiques outrepassent l'écologie, constitue un danger de plus pour la préservation de l'Amazonie.

Il est donc primordial de faciliter et d'encourager la mise en place de mesures de précautions comme par exemple la promotion de plantations artificielles privées ou de la culture *in vitro* afin de préserver la plante dans son milieu naturel.

## CONCLUSION :

*Uncaria tomentosa* est une liane qui pousse majoritairement en forêt Amazonienne dont elle affectionne le climat équatorial, l'humidité et le sol. Son essor en médecine moderne a eu lieu à partir des années 80 et elle constitue donc une ressource récente. Son écorce est utilisée depuis des millénaires par les indiens d'Amazonie. Les chamanes Ashaninka l'utilisent principalement en décoction pour diverses indications, surtout les troubles articulaires inflammatoires mais aussi en tant que contraceptif, stimulant immunitaire ou anti-infectieux.

Ses propriétés sont dues à la présence de plusieurs composants dans les différentes parties de la plante. Cependant, la monographie de la pharmacopée US ne conserve que les alcaloïdes oxindoles (OA) de l'écorce en composants d'intérêt. Ceux-ci sont effectivement les composants principaux. Ils se subdivisent en 6 pentacycliques (POA : pteropodine, mitraphylline, speciophylline et leurs isomères) qui confèrent à la plante bon nombre de ses effets thérapeutiques et en 4 tétracycliques (TOA : rynchophylline, corynoxéine et leurs isomères) qui d'une part ont un effet antagoniste des POA et d'autre part sont cardiotoxiques. Les critères de qualité de la Pharmacopée US prévoient donc une teneur en POA > 0,3 g% m/m et en TOA < 0,05 g% m/m pour une utilisation efficace et sûre de l'écorce. Les OA ont tendance à se répartir selon 3 chimiotypes, 2 à POA et 1 à TOA. L'écorce et les racines renferment principalement des POA tandis que les feuilles ont une teneur en TOA plus importante.

Les études de composition ont aussi mis en évidence la présence de polyphénols parmi lesquels se distinguent des acides phénoliques et leurs esters (acide hydroxybenzoïque, hydroxycinnamique, quinique, chlorogénique) et surtout des proanthocyanidines consistant en l'assemblage de (épi)catechine et/ou d'(épi)afzelechine à un degré de polymérisation allant de 2 à 11 unités. Ces tanins condensés sont corrélés à l'activité antiradicalaire de la plante et les feuilles en sont les plus concentrées. Enfin, des triterpénoïdes pentacycliques, dont l'acide quinovique et ses glycosides sont les plus abondants, ainsi que des phytostérols ont été isolés dans l'écorce.

Cette composition est sujette à une variabilité importante en fonction de plusieurs critères parmi lesquels la localisation géographique, l'altitude, la saison ou encore la partie de la plante. L'écorce de tige exhibe un rapport POA/TOA élevé, renferme des triterpènes et sa récolte n'entrave pas la repousse du plant contrairement aux racines. Les feuilles ont le plus fort taux de proanthocyanidine mais ont un taux de TOA trop élevé pour un usage de qualité. Pour ces raisons, l'écorce de tige est l'unique partie inscrite dans les Pharmacopées française et US.

Les propriétés thérapeutiques de la plante ont été mises en relation avec sa composition et confirment l'importance des POA. Ils sont responsables d'une immunostimulation d'une part par un renforcement de la phagocytose et de l'activité et la prolifération lymphocytaire et d'autre part par une stimulation des précurseurs de la lignée myéloïde (augmentation des

neutrophiles et des monocytes). Ils sont aussi les principaux composants anti-inflammatoires en inhibant fortement la fixation du NF $\kappa$ B à l'ADN avec un effet immunomodulateur sur les cytokines pro-inflammatoires (forte inhibition du TNF $\alpha$  entre autres). Les triterpènes ont aussi inhibé la voie purinergique de l'inflammation. En conséquence, une diminution importante de la symptomatologie inflammatoire articulaire a été observée en clinique. Les tanins condensés sont responsables d'une forte activité *scavenger* qui permet une protection de l'ADN et une prévention de la cancérogénèse. Le stress oxydant est d'un côté augmenté dans les cellules cancéreuses, ce qui provoque avec d'autres mécanismes (stimulation des Caspases et de l'immunité antitumorale, inhibition du NF $\kappa$ B et de l'inflammation) la cytolysse et l'inhibition de développement des cellules cancéreuses, et d'un autre côté diminué dans les cellules saines dont la préservation est augmentée. Cette sélectivité de tissu avec la diminution des effets secondaires des chimiothérapies (diminution de la neutropénie par stimulation des précurseurs myéloïdes) fait de l'écorce de la plante et ses différents composants un traitement adjuvant fort intéressant dans les cancers.

Des effets bactéricides et antifongiques (proanthocyanidines) sur des souches résistantes aux thérapies standards mais aussi antivirales par inhibition du cycle de réplication virale (POA) et de l'attachement à la cellule hôte (triterpènes et polyphénols) ont été observés. Les acides quiniques et leurs esters des extraits C-MED-100<sup>®</sup> et AC-11<sup>®</sup> stimulent la réparation de l'ADN, ce qui, avec l'activité *scavenger* des tanins condensés protégeant l'ADN du stress oxydant, est à l'origine de propriétés antimutagènes. Les extraits de la plante ont provoqué une inhibition de la maturation des follicules ovariens et de la prolifération endométriale chez le rat responsables d'un effet contraceptif (mais aussi d'une toxicité sur la reproduction). Enfin, les flavonoïdes de la plante permettent une diminution du processus de vieillissement cérébral (utile dans le traitement des démences).

Pour ma part, pour toutes les raisons évoquées, l'écorce d'*Uncaria tomentosa* constitue un traitement phytothérapeutique complémentaire à ne pas négliger, qui peut judicieusement être conseillé dans diverses situations : en premier lieu les troubles inflammatoires articulaires comme les rhumatismes, mais aussi les cancers ou les situations infectieuses comme le SIDA d'autant qu'il présente une faible toxicité, excepté sur la reproduction. A ce titre, il faut rappeler que des situations contre-indiquent l'utilisation de la plante (maladie auto-immune, grossesse ou désir de concevoir, âge < 3 ans) et d'autres nécessitent des précautions (interaction avec le CYP3A4, allaitement, traitement antihypertenseurs ou statines).

L'utilisation de la plante en médecine moderne est récente et les études n'en sont qu'à leurs débuts. Leurs conclusions et les mécanismes qu'elles abordent nécessitent d'être complétés. Il est certain que d'autres propriétés peuvent encore être découvertes. Comme le souligne l'agence Européenne du médicament, les études sur la plante sont majoritairement pré-cliniques et il y a par conséquent un manque important de données cliniques. Il serait intéressant que le milieu de la recherche européenne s'en préoccupe afin d'accroître les connaissances disponibles et d'apporter les confirmations cliniques nécessaires à une utilisation plus pertinente. En parallèle, il est important de renforcer les mesures de précautions et de sauvegarde de l'espèce dans son habitat naturel afin de lutter contre une possible sur-exploitation et un épuisement de la ressource.

## **BIBLIOGRAPHIE :**

- Aguilar, J.L., Rojas, P., Marcelo, A., Plaza, A., Bauer, R., Reininger, E., Klaas, C.A., Merfort, I., 2002. Anti-inflammatory activity of two different extracts of *Uncaria tomentosa* (Rubiaceae). *J. Ethnopharmacol.* 81, 271–276.
- Akesson, C., Pero, R.W., Ivars, F., 2003. C-Med 100, a hot water extract of *Uncaria tomentosa*, prolongs lymphocyte survival in vivo. *Phytomedicine Int. J. Phytother. Phytopharm.* 10, 23–33.
- Alan D. Snow, Gerardo M. Castillo, Beth P. Nguyen, Paula Y. Choi, Joel A. Cummings, Judy Cam, Qubai Hu, Thomas Lake, Weihong Pan, Abba J. Kestin, Daniel A. Kirschner, Steven G. Wood, Edward Rockenstein, Eliezer Masliah, Stephen Lorimer, Rudolph E. Tanzi, Lesley Larsen, 2019. The Amazon rain forest plant *Uncaria tomentosa* (cat's claw) and its specific proanthocyanidin constituents are potent inhibitors and reducers of both brain plaques and tangles. *Sci. Rep.* 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38645-0>
- Alexandre, J., Hu, Y., Lu, W., Pelicano, H., Huang, P., 2007. Novel action of paclitaxel against cancer cells: bystander effect mediated by reactive oxygen species. *Cancer Res.* 67, 3512–3517. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-3914>
- Allen-Hall, L., Arnason, J.T., Cano, P., Lafrenie, R.M., 2010. *Uncaria tomentosa* acts as a potent TNF-alpha inhibitor through NF-kappaB. *J. Ethnopharmacol.* 127, 685–693. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.12.004>
- ANSM, 2017. Pharmacopée française - Substances d'origine végétale - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [WWW Document]. URL <https://www.ansm.sante.fr/Mediatheque/Publications/Pharmacopee-francaise-Substances-d-origine-vegetale> (accessed 3.5.19).
- ANSM, n.d. Comment un médicament à base de plantes est-il autorisé? - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [WWW Document]. URL [https://www.ansm.sante.fr/Activites/Medicaments-a-base-de-plantes/Comment-un-medicament-a-base-de-plantes-est-il-autorise/\(offset\)/1](https://www.ansm.sante.fr/Activites/Medicaments-a-base-de-plantes/Comment-un-medicament-a-base-de-plantes-est-il-autorise/(offset)/1) (accessed 9.18.19).
- Aquino, R., De Simone, F., Pizza, C., Conti, C., Stein, M.L., 1989. Plant metabolites. Structure and in vitro antiviral activity of quinovic acid glycosides from *Uncaria tomentosa* and *Guettarda platypoda*. *J. Nat. Prod.* 52, 679–685.
- Aquino, R., De Simone, F., Vincieri, F.F., Pizza, C., Gaćs-Baitz, E., 1990. New Polyhydroxylated Triterpenes from *Uncaria tomentosa*. *J. Nat. Prod.* 53, 559–564. <https://doi.org/10.1021/np50069a004>
- Aquino, R., De Tommasi, N., De Simone, F., Pizza, C., 1997. Triterpenes and quinovic acid glycosides from *Uncaria tomentosa*. *Phytochemistry, The International Journal of Plant Biochemistry and Molecular Biology* 45, 1035–1040. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(96\)00716-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00716-9)
- Arrêté du 24 juin 2014 établissant la liste des plantes, autres que les champignons, autorisées dans les compléments alimentaires et les conditions de leur emploi, n.d.
- Azevedo, Morel, Carmona, Cunha, Contini..., 2018. Aqueous extracts from *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Schult.) DC. reduce bronchial hyperresponsiveness and inflammation in a murine model of asthma. - PubMed - NCBI [WWW Document]. URL [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Aqueous+extracts+from+Uncaria+tomentosa+\(Willd.+ex+Schult.\)+DC.+reduce+bronchial+hyperresponsiveness+and+inflammation+in+a+murine+model+of+asthma](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Aqueous+extracts+from+Uncaria+tomentosa+(Willd.+ex+Schult.)+DC.+reduce+bronchial+hyperresponsiveness+and+inflammation+in+a+murine+model+of+asthma) (accessed 6.8.19).
- Bacher, N., Tiefenthaler, M., Sturm, S., Stuppner, H., Ausserlechner, M.J., Kofler, R., Konwalinka, G., 2006. Oxindole alkaloids from *Uncaria tomentosa* induce apoptosis in proliferating, G0/G1-

- arrested and bcl-2-expressing acute lymphoblastic leukaemia cells. *Br. J. Haematol.* 132, 615–622. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05907.x>
- Benedetti, S., Catalani, S., Galati, R., Nuvoli, B., 2015. Link between ROS/RNS Generation and Cancer. High Concentration of ROS... ResearchGate. [https://www.researchgate.net/figure/Link-between-ROS-RNS-generation-and-cancer-High-concentration-of-ROS-and-RNS-leading-to\\_fig1\\_278732107](https://www.researchgate.net/figure/Link-between-ROS-RNS-generation-and-cancer-High-concentration-of-ROS-and-RNS-leading-to_fig1_278732107)
- Bloom, G.S., 2014. Amyloid- $\beta$  and tau: the trigger and bullet in Alzheimer disease pathogenesis. *JAMA Neurol.* 71, 505–508. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.5847>
- Bors, M., Bukowska, B., Pilarski, R., Gulewicz, K., Oszmiański, J., Michałowicz, J., Koter-Michalak, M., 2011. Protective activity of the *Uncaria tomentosa* extracts on human erythrocytes in oxidative stress induced by 2,4-dichlorophenol (2,4-DCP) and catechol. *Food Chem. Toxicol.* 49, 2202–2211. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.06.013>
- Bourdy, G., DeWalt, S.J., Chávez de Michel, L.R., Roca, A., Deharo, E., Muñoz, V., Balderrama, L., Quenevo, C., Gimenez, A., 2000. Medicinal plants uses of the Tacana, an Amazonian Bolivian ethnic group. *J. Ethnopharmacol.* 70, 87–109.
- Budd Haeberlein, S., O’Gorman, J., Chiao, P., Bussi ere, T., von Rosenstiel, P., Tian, Y., Zhu, Y., von Hehn, C., Gheuens, S., Skordos, L., Chen, T., Sandrock, A., 2017. Clinical Development of Aducanumab, an Anti-A $\beta$  Human Monoclonal Antibody Being Investigated for the Treatment of Early Alzheimer’s Disease. *J. Prev. Alzheimers Dis.* 4, 255–263. <https://doi.org/10.14283/jpad.2017.39>
- Candolle, A.P. de, 1987. *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis: sive enumeratio contracta ordinum generum specierumque plantarum huc usque cognitarum, juxta methodi naturalis normas digesta.* Singh, Dehra Dun.
- Ccahuana-Vasquez, R.A., Santos, S.S.F. dos, Koga-Ito, C.Y., Jorge, A.O.C., 2007. Antimicrobial activity of *Uncaria tomentosa* against oral human pathogens. *Braz. Oral Res.* 21, 46–50. <https://doi.org/10.1590/S1806-83242007000100008>
- CIRI, LBMC, Musée de sciences biologiques, n.d. Les cellules dendritiques: une population hétérogène de leucocytes aux propriétés originales — Site des ressources d’ACCES pour enseigner la Science de la Vie et de la Terre [WWW Document]. *Immunité Vaccin.* URL [http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/immunité-et-vaccination/thematiques/reponse-immunitaire/comprendre/immunité-innée/cd-types-et-fonctions](http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/immunité-et-vaccination/thematiques/reponse-immunitaire/comprendre/immunité/immunité-innée/cd-types-et-fonctions) (accessed 5.19.19).
- Cosentino, C., Torres, L., 2008. Reversible worsening of Parkinson disease motor symptoms after oral intake of *Uncaria tomentosa* (cat’s claw). *Clin. Neuropharmacol.* 31, 293–294. <https://doi.org/10.1097/WNF.0b013e31815a5eef>
- Cougo Moraes, R., Jacobi Dalla Lana, A., Kaiser, S., Carvalho, A., Oliveira, L., Fuentesfria, A., Gonzalez Ortega, G., 2015. Antifungal activity of *Uncaria tomentosa* (Willd.) D.C. against resistant non-albicans *Candida* isolates. *Ind. Crops Prod.* 69, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.033>
- De Jong, W., Melnyk, M., Lozano, L.A., Rosales, M., Garcia, M., 1999. Una de gato: fate and future of a Peruvian forest resource. <https://doi.org/10.17528/cifor/000554>
- Desmarchelier, C., Mongelli, E., Coussio, J.D., Ciccia, G.N., 1997. Evaluation of the in vitro antioxidant activity in extracts of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. *Phytother. Res.* 11, 254–256. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199705\)11:3<254::AID-PTR76>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199705)11:3<254::AID-PTR76>3.0.CO;2-5)
- Dietrich, F., Kaiser, S., Rockenbach, L., Figueir o, F., Bergamin, L.S., da Cunha, F.M., Morrone, F.B., Ortega, G.G., Battastini, A.M.O., 2014. Quinovic acid glycosides purified fraction from *Uncaria tomentosa* induces cell death by apoptosis in the T24 human bladder cancer cell line. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 67, 222–229. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.02.037>
- Dietrich F, Kaiser S, Rockenbach L, Martins J, 2015. The Quinovic Acid Glycosides Purified Fraction from *Uncaria tomentosa* Protects against Hemorrhagic Cystitis Induced by Cyclophosphamide in Mice. - PubMed - NCBI [WWW Document]. URL <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=The+Quinovic+Acid+Glycosides+Purified+Frac>

- tion+from+Uncaria+tomentosa+Protects+against+Hemorrhagic+Cystitis+Induced+by+Cyclophosphamide+in+Mice (accessed 6.8.19).
- Domingues, A., Sartori, A., Golim, M.A., Valente, L.M.M., Camargo da Rosa, L., Ishikawa, L.L.W., Siani, A.C., Viero, R.M., 2011. Prevention of Experimental Diabetes by *Uncaria Tomentosa* Extract: Th2 Polarization, Regulatory Cell Preservation or both? J. Ethnopharmacol. 137, 635-642. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.06.021>.
- Domingues, A., Sartori, A., Valente, L.M.M., Golim, M.A., Siani, A.C., Viero, R.M., 2011. *Uncaria tomentosa* aqueous-ethanol extract triggers an immunomodulation toward a Th2 cytokine profile. Phytother. Res. PTR 25, 1229–1235. <https://doi.org/10.1002/ptr.3549>
- Dreifuss, A.A., Bastos-Pereira, A.L., Fabossi, I.A., Lívero, F.A.D.R., Stolf, A.M., Alves de Souza, C.E., Gomes, L. de O., Constantin, R.P., Furman, A.E.F., Strapasson, R.L.B., Teixeira, S., Zampronio, A.R., Muscará, M.N., Stefanello, M.E.A., Acco, A., 2013. *Uncaria tomentosa* exerts extensive anti-neoplastic effects against the Walker-256 tumour by modulating oxidative stress and not by alkaloid activity. PloS One 8, e54618. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054618>
- Elkins, R., 1995. Cat's Claw (*Uncaria Tomentosa*) The Miracle Herb from the Rain Forest of Peru. Woodland Publishing, Inc.
- EMA, E.M.A., Committee of Herbal Medicinal Products, H., 2015. Assessment report on *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Schult.) DC., cortex 67.
- Emanuel, P., Scheinfeld, N., 2007. A review of DNA repair and possible DNA-repair adjuvants and selected natural anti-oxidants. Dermatol. Online J. 13.
- Farias, I., do Carmo Araújo, M., Zimmermann, E.S., Dalmora, S.L., Benedetti, A.L., Alvarez-Silva, M., Asbahr, A.C.C., Bertol, G., Farias, J., Schetinger, M.R.C., 2011. *Uncaria tomentosa* stimulates the proliferation of myeloid progenitor cells. J. Ethnopharmacol. 137, 856–863. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.07.011>
- Farias, I.L.G., Araújo, M.C.S., Farias, J.G., Rossato, L.V., Elsenbach, L.I., Dalmora, S.L., Flores, N.M.P., Durigon, M., Cruz, I.B.M., Morsch, V.M., Schetinger, M.R.C., 2012. *Uncaria tomentosa* for Reducing Side Effects Caused by Chemotherapy in CRC Patients: Clinical Trial. Evid.-Based Complement. Altern. Med. ECAM 2012, 892182. <https://doi.org/10.1155/2012/892182>
- Field, F.J., Born, E., Mathur, S.N., 1997. Effect of micellar beta-sitosterol on cholesterol metabolism in CaCo-2 cells. J. Lipid Res. 38, 348–360.
- Fleurentin, J., Weniger, B., 2018. Un tour du monde des plantes qui soignent. Ouest France Ed. Rennes, France. p239.
- Frentz, G., Bang, F.D.C., Munch-Petersen, B., Wantzin, G.L., 1988. Increased number of circulating suppressor T-Lymphocytes in Sun-induced multiple skin cancers. Cancer 61, 294–297. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19880115\)61:2<294::AID-CNCR2820610218>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19880115)61:2<294::AID-CNCR2820610218>3.0.CO;2-8)
- Ganzera, M., Muhammad, I., Khan, R.A., Khan, I.A., 2001. Improved method for the determination of oxindole alkaloids in *Uncaria tomentosa* by high performance liquid chromatography. Planta Med. 67, 447–450. <https://doi.org/10.1055/s-2001-15824>
- García, R., Cayunao, C., Bocic, R., Backhouse, N., Delporte, C., Zaldivar, M., Erazo, S., 2005. Antimicrobial activity of isopteropodine. Z. Naturforschung C J. Biosci. 60, 385–388. <https://doi.org/10.1515/znc-2005-5-603>
- Gicquel, T., 2014. Implication des récepteurs purinergiques dans l'activation de l'inflammasome NLRP3 dans les macrophages 195.
- Goc, A., Rath, M., 2016. The anti-borreliae efficacy of phytochemicals and micronutrients: an update. Ther. Adv. Infect. Dis. 3, 75–82. <https://doi.org/10.1177/2049936116655502>
- Herrera, D.R., Durand-Ramirez, J.E., Falcão, A., Silva, E.J.L.N. da, Santos, E.B. dos, Gomes, B.P.F. de A., Herrera, D.R., Durand-Ramirez, J.E., Falcão, A., Silva, E.J.L.N. da, Santos, E.B. dos, Gomes, B.P.F. de A., 2016. Antimicrobial activity and substantivity of *Uncaria tomentosa* in infected root canal dentin. Braz. Oral Res. 30. <https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0061>

- Hilepo, J.N., Bellucci, A.G., Mossey, R.T., 1997. Acute renal failure caused by “cat’s claw” herbal remedy in a patient with systemic lupus erythematosus. *Nephron* 77, 361. <https://doi.org/10.1159/000190304>
- Honório, I.C.G., Bertoni, B.W., Pereira, A.M.S., Honório, I.C.G., Bertoni, B.W., Pereira, A.M.S., 2016. *Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis* an agronomic history to be written. *Ciênc. Rural* 46, 1401–1410. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150138>
- Honório, I.C.G., Bertoni, B.W., Telles, M.P. de C., Braga, R. dos S., França, S. de C., Coppede, J. da S., Correa, V.S.C., Diniz Filho, J.A.F., Pereira, A.M.S., 2017. Genetic and chemical diversity of *Uncaria tomentosa* (Willd. ex. Schult.) DC. in the Brazilian Amazon. *PLOS ONE* 12, e0177103. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177103>
- Jean, B., 2009. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4e ed.). Lavoisier.
- Kaiser, S., Verza, S.G., Cougo Moraes, R., Pittol, V., Penazola E.M.C., Pavei, C., Gonzalez Ortega, G., 2013. Extraction optimization of polyphenols, oxindole alkaloids and quinovic acid glycosides from cat's claw bark by BOX-Behnken design. *Ind Crops and Products* 48, 153-161. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.04.026>.
- Kemper, K.J., 1999. Cat’s Claw (*Uncaria tomentosa*). Longwood Herb. Task Force 13.
- Keplinger, K., Laus, G., Wurm, M., Dierich, M.P., Teppner, H., 1999. *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC.-- ethnomedicinal use and new pharmacological, toxicological and botanical results. *J. Ethnopharmacol.* 64, 23–34.
- Kitajima, M., Hashimoto, K.-I., Sandoval, M., Aimi, N., Takayama, H., 2004. New oleanan-type triterpene and cincholic acid glycosides from Peruvian “Uña de Gato” (*Uncaria tomentosa*). *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 52, 1258–1261. <https://doi.org/10.1248/cpb.52.1258>
- Kośmider, A., Czepielewska, E., Kuraś, M., Gulewicz, K., Pietrzak, W., Nowak, R., Nowicka, G., 2017. *Uncaria tomentosa* Leaves Decoction Modulates Differently ROS Production in Cancer and Normal Cells, and Effects Cisplatin Cytotoxicity. *Mol. Basel Switz.* 22. <https://doi.org/10.3390/molecules22040620>
- López Galera, R.M., Ribera Pascuet, E., Esteban Mur, J.I., Montoro Ronsano, J.B., Juárez Giménez, J.C., 2008. Interaction between cat’s claw and protease inhibitors atazanavir, ritonavir and saquinavir. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 64, 1235–1236. <https://doi.org/10.1007/s00228-008-0551-1>
- Lotito, S., n.d. Flavonoïdes et protection cardiovasculaire | Unilever Pro Nutrition Santé. URL <http://www.unilever-pro-nutrition-sante.fr/nutrition-maladies-cardiovasculaires/flavonoides/flavonoides-et-protection-cardiovasculaire/> (accessed 8.25.19).
- Lozada-Requena, Y., Nunez, C., Alvarez, Y., Kahn, L., Aguilar, J., 2015. Poblaciones linfocitarias, células dendríticas y perfil de citoquinas en ratones con melanoma tratados con *Uncaria tomentosa*. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* 32, 633-642.
- Mammone, T., Akesson, C., Gan, D., Giampapa, V., Pero, R.W., 2006. A water soluble extract from *Uncaria tomentosa* (Cat’s Claw) is a potent enhancer of DNA repair in primary organ cultures of human skin. *Phytother. Res. PTR* 20, 178–183. <https://doi.org/10.1002/ptr.1827>
- Manske, R.H.F., 1973. *The Alkaloids: Chemistry and Physiology*, Academic press, inc. ed. Academic Press, London.
- Martins, J.P., Silva, R.B.M., Coutinho-Silva, R., Takiya, C.M., Battastini, A.M.O., Morrone, F.B., Campos, M.M., 2012. The role of P2X7 purinergic receptors in inflammatory and nociceptive changes accompanying cyclophosphamide-induced haemorrhagic cystitis in mice. *Br. J. Pharmacol.* 165, 183–196. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01535.x>
- Moraes, R.C., Carvalho, A.R., Lana, A.J.D., Kaiser, S., Pippi, B., Fuentefria, A.M., Ortega, G.G., 2017. In vitro synergism of a water insoluble fraction of *Uncaria tomentosa* combined with fluconazole and terbinafine against resistant non-*Candida albicans* isolates. *Pharm. Biol.* 55, 406–415. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1242631>
- Moreno, S.R.F., Silva, A.L.C., Diré, G., Honeycut, H., Carvalho, J.J., Nascimento, A.L., Pereira, M., Rocha, E.K., Oliveira-Timóteo, M., Arnobio, A., Olej, B., Bernardo-Filho, M., Caldas, L.Q.A.,



2007. Effect of oral ingestion of an extract of the herb *Uncaria tomentosa* on the biodistribution of sodium pertechnetate in rats. *Braz. J. Med. Biol. Res. Rev. Bras. Pesqui. Medicas E Biol.* 40, 77–80. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2007000100010>
- Mur E, Hartig F, Eibl G, Schirmer M, 2002. Randomized double blind trial of an extract from the pentacyclic alkaloid-chemotype of *uncaria tomentosa* for the treatment of rheumatoid arthritis. - PubMed - NCBI [WWW Document]. URL <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11950006> (accessed 6.8.19).
- @NatGeoFrance, 2018. La déforestation de la forêt amazonienne a atteint un pic en 2018 [WWW Document]. *Natl. Geogr.* URL <https://www.nationalgeographic.fr/environnement/la-deforestation-de-la-foret-amazonienne-atteint-un-pic-en-2018> (accessed 9.17.19).
- Navarro Hoyos, M., Sánchez-Patán, F., Murillo Masis, R., Martín-Álvarez, P.J., Zamora Ramirez, W., Monagas, M.J., Bartolomé, B., 2015. Phenolic Assesment of *Uncaria tomentosa* L. (Cat's Claw): Leaves, Stem, Bark and Wood Extracts. *Mol. Basel Switz.* 20, 22703–22717. <https://doi.org/10.3390/molecules201219875>
- Navarro, M., Zamora, W., Quesada, S., Azofeifa, G., Alvarado, D., Monagas, M., 2017a. Fractioning of Proanthocyanidins of *Uncaria tomentosa*. Composition and Structure-Bioactivity Relationship. *Antioxid. Basel Switz.* 6. <https://doi.org/10.3390/antiox6030060>
- Navarro-Hoyos, M., Alvarado-Corella, D., Moreira-Gonzalez, I., Arnaez-Serrano, E., Monagas-Juan, M., 2018. Polyphenolic Composition and Antioxidant Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts from *Uncaria tomentosa* Bark and Leaves. *Antioxid. Basel Switz.* 7. <https://doi.org/10.3390/antiox7050065>
- Navarro-Hoyos, M., Lebrón-Aguilar, R., Quintanilla-López, J.E., Cueva, C., Hevia, D., Quesada, S., Azofeifa, G., Moreno-Arribas, M.V., Monagas, M., Bartolomé, B., 2017b. Proanthocyanidin Characterization and Bioactivity of Extracts from Different Parts of *Uncaria tomentosa* L. (Cat's Claw). *Antioxidants* 6. <https://doi.org/10.3390/antiox6010012>
- Neto, J.N., Coehlo, T.M., Aguiar, G.C., Carvahlo, L.R., Araujo, G.P.D., Girao, M.J., Schor, E., 2011. Experimental endometriosis reduction in rats treated with *Uncaria tomentosa* (cat's claw) extract. *European J. of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 154, 205-208. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2010.10.002>.
- Nogueira Neto, J., Cavalcante, F.L.L.P., Carvalho, R.A.F., Rodrigues, T.G.P. de M., Xavier, M.S., Furtado, P.G.R., Schor, E., 2011. Contraceptive effect of *Uncaria tomentosa* (cat's claw) in rats with experimental endometriosis. *Acta Cir. Bras.* 26, 15–19. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502011000800004>
- Nunez, C., Lozada-Requena, I., Ysmodes, T., Zegarra, D., Saldana, F., Aguilar, J., 2015. Nmunomodulacion de *Uncaria tomentosa* sobre células dendriticas, il-12 y perfil TH1/TH2/TH17 en cancer de mama. *Rev. Per. de Medicina Exp. y Salud Publica* 32, 643-651.
- Oliveira, L.Z.D., Farias, I.L.G., Rigo, M.L., Glanzner, W.G., Gonçalves, P., Cadoná, F.C., Cruz, I.B. da, Farias, J.G., Duarte, M.M.M.F., Franco, L., Bertol, G., Colpo, E., Brites, P.C., Rocha, J.B.T., Leal, D.B.R., 2014. Effect of *Uncaria tomentosa* Extract on Apoptosis Triggered by Oxaliplatin Exposure on HT29 Cells, in: *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : ECAM.* <https://doi.org/10.1155/2014/274786>
- Paniagua-Pérez, R., Madrigal-Bujaidar, E., Molina-Jasso, D., Reyes-Cadena, S., Álvarez-González, I., Sánchez-Chapul, L., Pérez-Gallaga, J., 2009. Antigenotoxic, antioxidant and lymphocyte induction effects produced by pteropodine. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 222–227. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2008.00366.x>
- Paredes, D., Sandoval, M., Huaynate, R., 2018. Effect of *Uncaria tomentosa* aqueous extract on biochemical and hematological profiles and live performance parameters in broiler chickens [WWW Document]. URL <http://www.lrrd.org/lrrd30/5/fz.de30078.html> (accessed 9.19.19).
- Pasteur, J., 1997. *Ashaninkas*. Pocket, Paris.
- Pavei, C., Kaiser, S., Verza, S.G., Borre, G.L., Ortega, G.G., 2012. HPLC-PDA method for quinovic acid glycosides assay in Cat's claw (*Uncaria tomentosa*) associated with UPLC/Q-TOF–MS analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 62, 250–257. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2011.12.031>

- Peñaloza, E.M.C., Kaiser, S., Resende, P.E. de, Pittol, V., Carvalho, Â.R., Ortega, G.G., Peñaloza, E.M.C., Kaiser, S., Resende, P.E. de, Pittol, V., Carvalho, Â.R., Ortega, G.G., 2015. CHEMICAL COMPOSITION VARIABILITY IN THE *Uncaria tomentosa* (cat's claw) WILD POPULATION. *Quím. Nova* 38, 378–386. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150007>
- Pérez, R.P., B, E.M., Glz, R.I.Á., 2012. Inmunogenotoxicología de sustancias derivadas de *Uncaria tomentosa*: Genotoxicidad, citotoxicidad, antimutagénesis, antioxidación, e inmunoestimulación de Beta-sitosterol y Pteropodina. Editorial Académica Española.
- Petit, E., 1957. Les Naucleaeae (Rubiaceae) du Congo belge et du Ruanda-Urundi.: I. *Uncaria*. *Bull. Jard. Bot. L'État Brux.* 27, 441–448. <https://doi.org/10.2307/3667076>
- Pilarski, R., Filip, B., Wietrzyk, J., Kuras, M., Gulewicz, K., 2010. Anticancer activity of the *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. preparations with different oxindole alkaloid composition. *Phytomedicine* 17, 1133-1139.
- Pollito, P., Bendezu, Y., 2003. Caracterización morfológica de plántulas de “uña de gato” *Uncaria Tomentosa* (Willd. ex Roemer & Schultes) D.C. y *U. guianensis* (Aublet) Gmelin del Bosque Nacional Alexander von Humboldt [WWW Document]. ResearchGate. URL [https://www.researchgate.net/publication/26446733\\_Caracterizacion\\_morfologica\\_de\\_plantulas\\_de\\_una\\_de\\_gato\\_Uncaria\\_Tomentosa\\_Willd. ex\\_Roemer\\_Schultes\\_DC\\_y\\_U\\_guianensis\\_Aublet\\_Gmelin\\_del\\_Bosque\\_Nacional\\_Alexander\\_von\\_Humboldt](https://www.researchgate.net/publication/26446733_Caracterizacion_morfologica_de_plantulas_de_una_de_gato_Uncaria_Tomentosa_Willd. ex_Roemer_Schultes_DC_y_U_guianensis_Aublet_Gmelin_del_Bosque_Nacional_Alexander_von_Humboldt) (accessed 3.25.19).
- Quílez, A.M., Saenz, M.T., García, M.D., 2012. *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Roem. & Schult.) DC. and *Eucalyptus globulus* Labill. interactions when administered with diazepam. *Phytother. Res. PTR* 26, 458–461. <https://doi.org/10.1002/ptr.3593>
- Reinhard, K.H., 1999. *Uncaria tomentosa* (Willd.) D.C.: cat's claw, uña de gato, or savéntaro. *J. Altern. Complement. Med. N. Y. N* 5, 143–151.
- Reis, S.R.I.N., Valente, L.M.M., Sampaio, A.L., Siani, A.C., Gandini, M., Azeredo, E.L., D'Avila, L.A., Mazzei, J.L., Henriques, M. das G.M., Kubelka, C.F., 2008. Immunomodulating and antiviral activities of *Uncaria tomentosa* on human monocytes infected with Dengue Virus-2. *Int. Immunopharmacol.* 8, 468–476. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2007.11.010>
- Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M., Aggarwal, B.B., 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radic. Biol. Med.* 49, 1603–1616. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>
- Rizzi, R., Re, F., Bianchi, A., De Feo, V., de Simone, F., Bianchi, L., Stivala, L.A., 1993. Mutagenic and antimutagenic activities of *Uncaria tomentosa* and its extracts. *J. Ethnopharmacol.* 38, 63–77.
- Rojas, R., Gonzales, G., Bourdy, G., Ortega, V.H., Ruiz, C., 2012. Anti-inflammatory activity of Mitraphylline isolated from *Uncaria tomentosa* bark - ScienceDirect [WWW Document]. URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874112004849?via%3Dihub> (accessed 2.18.19).
- Salazar, E.L., Jayme, V., 1998. Depletion of Specific Binding Sites for Estrogen Receptor by *Uncaria Tomentosa*. *Proceedings of the Western Pharmacology Society* 41, 123-124.
- Sandoval-Chacon, M., Thompson, J.H., Zhang, X.J., Liu, X., Mannick, E.E., Sadowska, H., Charbonnet, R.M., Clark, D.A., Miller, M.J., 1998. Antiinflammatory Actions of Cat's Claw: The role of NF-KappaB. *Alimentary Pharmacology & therapeutics* 12, 1279-1289.
- Santos Araújo, M. do C., Farias, I.L., Gutierrez, J., Dalmora, S.L., Flores, N., Farias, J., de Cruz, I., Chiesa, J., Morsch, V.M., Chitolina Schetinger, M.R., 2012. *Uncaria tomentosa*-Adjuvant Treatment for Breast Cancer: Clinical Trial. *Evid.-Based Complement. Altern. Med. ECAM* 2012, 676984. <https://doi.org/10.1155/2012/676984>
- Schauss, A., 1995. *The Health Benefits of Cat's Claw*, 1 edition. ed. McGraw-Hill.
- Schwartz, cesar, 1995. uña-de-gato [WWW Document]. *Descr. Uncaria Tomentosa Son Hist. Sa Compos. Ses Propr. Thérapeutiques.* URL [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/reuma/v01\\_n2/u%C3%B1a-de-gato.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/reuma/v01_n2/u%C3%B1a-de-gato.htm) (accessed 3.12.19).

- Sheng, Y., Akesson, C., Holmgren, K., Bryngelsson, C., Giamapa, V., Pero, R.W., 2005. An active ingredient of Cat's Claw water extracts identification and efficacy of quinic acid. *J. Ethnopharmacol.* 96, 577–584. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.10.002>
- Sheng, Y., Bryngelsson, C., Pero, R.W., 2000. Enhanced DNA repair, immune function and reduced toxicity of C-MED-100, a novel aqueous extract from *Uncaria tomentosa*. *J. Ethnopharmacol.* 69, 115–126.
- Sheng, Y., Li, L., Holmgren, K., Pero, R.W., 2001. DNA repair enhancement of aqueous extracts of *Uncaria tomentosa* in a human volunteer study. *Phytomedicine Int. J. Phytother. Phytopharm.* 8, 275–282. <https://doi.org/10.1078/0944-7113-00045>
- Steinberg, P.N., 1995. [Cat's Claw: an herb from the Peruvian Amazon]. *SIDAhora Un Proy. Dep. Publicaciones PWA Coalit. NY* 35–36.
- Steward, J.H., 2017. Handbook of South American Indians, Vol. 3 | Cucurbita | Sweet Potato [WWW Document]. Scribd. URL <https://fr.scribd.com/doc/144830175/Handbook-of-South-American-Indians-Vol-3> (accessed 2.18.19).
- Stuppner, H., Sturm, S., 1992. Capillary Electrophoretic Analysis of Oxindole Alkaloids from *Uncaria Tomentosa*-Sciencedirect. <https://sciencedirect.com/science/article/pii/002196739280183U>.
- Tomazelli, O., Kuhn, F., José Mendonça Padilha, P., R. Mota Vicente, L., da Costa, S., Silva, B., Dias Schleder, D., Nesi, C., Dal Magro, J., de Lamo-Castellví, S., 2017. Survival of White Spot Syndrome Virus–Infected *Litopenaeus vannamei* Fed with Ethanol Extract of *Uncaria Tomentosa*. *J. World Aquac. Soc.* <https://doi.org/10.1111/jwas.12483>
- Tyler's Herbs of Choice: The Therapeutic Use of Phytomedicinals, Third Edition, 2009. 292.
- Ulloa-Urizar, G., Aguilar-Luis, M.A., De Lama-Odría, M. del C., Camarena-Lizarzaburu, J., del Valle Mendoza, J., 2015. Antibacterial activity of five Peruvian medicinal plants against *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 5, 928–931. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.07.016>
- Vogel, J.H.K., Bolling, S.F., Costello, R.B., Guarneri, E.M., Krucoff, M.W., Longhurst, J.C., Olshansky, B., Pelletier, K.R., Tracy, C.M., Vogel, R.A., Vogel, R.A., Abrams, J., L, J., erson, Bates, E.R., Brodie, B.R., Grines, C.L., Danias, P.G., Gregoratos, G., Hlatky, M.A., Hochman, J.S., Kaul, S., Lichtenberg, R.C., Lindner, J.R., O'Rourke, R.A., Pohost, G.M., Schofield, R.S., Shubrooks, S.J., Tracy, C.M., Jr, W.L.W., 2019. Integrating complementary Medicine into Cardiovascular Medicine. *J. Am. Coll. Cardiol.*
- Wagner, H., Kreutzkamp, B., Jurcic, K., 1985. [The alkaloids of *Uncaria tomentosa* and their phagocytosis-stimulating action]. *Planta Med.* 419–423.
- Weiss, J., 2019. Herb–Drug Interaction Potential of Anti-Borreliac Effective Extracts from *Uncaria tomentosa* (Samento) and *Otoba parvifolia* (Banderol) Assessed In Vitro. *Molecules* 24, 137. <https://doi.org/10.3390/molecules24010137>
- Williams, J.E., 2001. Review of antiviral and immunomodulating properties of plants of the Peruvian rainforest with a particular emphasis on Una de Gato and Sangre de Grado. *Altern. Med. Rev. J. Clin. Ther.* 6, 567–579.
- Xiao, S., Tian, Z., Wang, Y., Si, L., Zhang, L., Zhou, D., 2018. Recent progress in the antiviral activity and mechanism study of pentacyclic triterpenoids and their derivatives. *Med. Res. Rev.* 38, 951–976. <https://doi.org/10.1002/med.21484>.
- Zavala Carrillo, C.A., Zevallos Pollito, P.A., 1996. Taxonomía, distribución geográfica y status del género *Uncaria* en el Perú “Uña de Gato.”
- Zhang, Q., Zhao, J., Xu, J., Feng, F., Qu, W., 2015. Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of the genus *Uncaria*. *J. Ethnopharmacol.* 173. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.06.011>

## ANNEXE :

### MONOGRAPHIE DE LA PHARMACOPEE US D'UNCARIA TOMENTOSA (CAT'S CLAW)

(Source : « *United States pharmacopeial Convention, The United States Pharmacopeia, Vol. 2, Rockville, Md. : United States Pharmacopeial Convention, 2011, pp. 1225-1232* »)

Calcium / Dietary Supplements

USP 34

500 mg/L of magnesium, 100 mg/L of manganese, and 100 mg/L of zinc.

**Standard solutions:** Prepare a mixture of *Standard stock solution* in *Diluent* to prepare a six-point calibration curve to check the concentration range of each mineral of interest.

**Sample solution:** Weigh and finely powder NLT 20 Tablets. Transfer a portion equal to the average Tablet weight to a 10-mL volumetric flask. Slowly add 25 mL of *Stock aqua solution* in 5-mL increments, followed by mixing.

**NOTE—**If the sample contains a carbonate, bubbling will occur. Wait until bubbling ends to proceed. Bring the solution to a boil on a hot plate. Continue to heat gently until fumes cease (about 1 h). Remove from heat, cool, and dilute with water to volume. Filter about 30 mL into a centrifuge tube using a 5-µm pore size nylon syringe filter. If necessary, make any further dilutions using the *Diluent*.

**Instrumentation:** Inductively coupled plasma spectrometry, using a spectrometer set to measure the emission of each mineral of interest at about the corresponding wavelength.

**NOTE—**The operating conditions may be developed and optimized based on the manufacturer's recommendation. The wavelengths selected should be demonstrated experimentally to provide sufficient specificity, sensitivity, linearity, accuracy, and precision.]

**System suitability**

**NOTE—**Analyze the *System suitability solution* and obtain the response as directed for Analysis.]

**Stability requirements**

**Relative standard deviation:** NMT 2.0%

**Analysis**

**Procedures:** *Standard solutions* and *Sample solution* determine the emission of each mineral of interest in the *Standard solutions* and *Sample solution* with an inductively coupled plasma system using the *Diluent* as the blank. Plot the emission of the *Standard solutions* versus concentration, in mg/L, of the minerals of interest, and draw the straight line best fitting the plotted points. From the graph, determine the concentration, C, in mg/L, for each mineral of interest in the *Sample solution*. Calculate the percentage of the labeled amount for each mineral:

$$\text{Result} = C \times (V/W) \times F \times (W_s/L) \times 100$$

where:

- C = measured concentration of the relevant element in the *Sample solution* (mg/L)
- V = volume of the *Sample solution* (L)
- W = sample weight (mg)
- F = dilution factor of the *Sample solution*
- W<sub>s</sub> = average Tablet weight (mg)
- L = labeled amount of the relevant element (mg/Tablet)

**Potency criteria:** NLT 90.0%–125.0% of the labeled amount of calcium (Ca), copper (Cu), magnesium (Mg), manganese (Mn), and zinc (Zn).

**PHARMACEUTICAL TESTS**

**DISSOLUTION AND DISSOLUTION OF DIETARY SUPPLEMENTS (2015):** Meet the requirements for *Dissolution* with respect to calcium.

**Medium:** 0.1 N hydrochloric acid; 900 mL.

**Rotation:** 2: 75 rpm

**Time:** 30 min

**Analysis:** Determine the amount of calcium (Ca) dissolved, using the procedure in the assay for *Calcium*, making any necessary volumetric adjustments.

**Acceptances:** NLT 75% of the labeled amount of Ca is dissolved.

**HEAVY METALS (2015):** Meet the requirements for *Heavy Metals*.

**Microbial Enumeration Tests—Nutritional and Dietary Supplements (2021):** The total aerobic microbial count does not exceed 3000 cfu/g, and the total combined molds and yeasts count does not exceed 300 cfu/g. Tablets also meet the requirements of the tests for absence of *Salmonella* species, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*.

**ABSENCE OF SPECIFIED MICROORGANISMS—NUTRITIONAL AND DIETARY SUPPLEMENTS (2022):** Meet the requirements of the tests for absence of *Salmonella* species, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*.

**ADDITIONAL REQUIREMENTS**

**PACKAGING AND STORAGE:** Preserve in tight, light-resistant containers.

**LABELING:** The label states that the product is *Calcium and Vitamin D with Minerals Tablets*. The label also states the quantities of each mineral and vitamin D/dosage unit, the salt form of the mineral used as the source of each element present, and the chemical form of vitamin D present in the dosage unit.

**USP REFERENCE STANDARDS (11):**  
USP Cholecalciferol RS  
USP Ergocalciferol RS

---

### Cat's Claw

» Cat's Claw consists of the inner bark of the stems of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. (Fam. Rubiaceae). It contains not less than 0.3 percent of pentacyclic oxindole alkaloids, calculated on the dried basis, as the sum of speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine, and isopteropodine.

**Packaging and storage—**Preserve in tight, light-resistant containers, and store at room temperature.

**Labeling—**The label states the Latin binomial and, following the official name, the parts of the plant contained in the article.

**USP Reference standards (11)—**  
USP Isopteropodine RS  
USP Powdered Cat's Claw Extract RS

**Botanic characteristics—**[NOTE—The pharmacopeial article is constituted only by the stem inner bark of *U. tomentosa* (Willd.) DC. Descriptions of other parts of the plant are given to aid in the collection of the right species. Compliance should be determined using the entire monograph and not only the botanical description.]

**Macroscopic—**Cat's Claw is a woody vine with a main stem up to 20 cm in diameter and 30 m long. The branches are obtusely quadrangular and generally puberulous. Stipules in the buds are densely tomentose in the upper side (different from *U. guianensis* in which the stipules are glabrous) with the hairs, often with curved tips, meshed together and with the longer hairs of the leaf helping to connect the pair of stipules along the margins, but split when older (different from *U. guianensis* in which the stipules separate early in the bud development). Thorns are straight to sickle-shaped, not spirally twisted (different from *U. guianensis*), very pungent and woody, from 8 to 20 mm long and 3 to 6 mm wide. When recently cut, the color of the inner bark can be whitish gray, yellowish brown, or dark red, with longitudinal fissures and persistent rhytidome. The internal part has a slightly dusty fibrous and laminar texture with a characteristic ferruginous dust and an extremely astringent taste. The terminal branches have a quadrangular section and yellowish green internal medulla.

USP 34

**Microscopic**—The periderm with cork (phellem) is constituted by 6 to 8 rows of cells having walls evenly thickened, a compressed phellogen [NOTE—The periderm and phellogen should be absent in the pharmacopoeial article], and a phellogen with 1 to 7 rows of sclereids. The secondary cortex with concentric rings of fibers are separated by rings of parenchyma; rings of fibers are frequently interrupted by radial rows of parenchyma cells (predominately 1 cell broad) or narrow medullary rays (few cells broad), forming rectangular bundles of fibers in a regular network; in longitudinal view the fibers appear with numerous conspicuous pits; calcium oxalate microcrystals (sand-like) are abundant in the parenchyma, but usually absent as large polyhedral crystals or in the form of styloids with bifurcated ends; the latter forms typically present in the parenchyma of *U. guyanensis*; a brown substance is dispersed in parenchyma cells; starch is abundant, granules are solitary (circular in outline, up to 30 µm in diameter) or compound (2 to 3 components up to 15 µm in diameter).

**Identification**—

**Thin Layer Chromatographic Identification Test (201)**—

**Test solution**—Transfer about 5 g of the powdered Cat's Claw to a screw-capped centrifuge tube. Add 10 mL of methanol, and sonicate for 5 minutes, shaking occasionally. Heat the mixture in a water bath at 60° for 15 minutes, cool, and filter. Apply 20 µL to the plate in bands that are 1 cm in length.

**Standard solution**—Transfer about 100 mg of USP Powdered Cat's Claw Extract RS to a screw-capped centrifuge tube. Add 2 mL of methanol, and sonicate for 5 minutes, shaking occasionally, cap, heat in a water bath at 60° for 15 minutes, cool, and centrifuge. Apply 20 µL to the plate in bands that are 1 cm in length.

**Developing solvent system**—Prepare a solution of ethyl acetate and hexane (95 : 5).

**Spray reagent A**—Dissolve 0.85 g of basic bismuth nitrate in 10 mL of glacial acetic acid and 40 mL of water by heating. Filter if necessary (Solution A). Dissolve 8 g of potassium iodide in 30 mL of water (Solution B). Mix Solution A and Solution B (1 : 1) to obtain a stock solution. Dilute 1 mL of the stock solution with 2 mL of glacial acetic acid and 10 mL of water.

**Spray reagent B**—Use a 10% solution of sodium nitrite in water.

**Procedure**—Develop the chromatogram to a length of not less than 12 cm, and dry the plate in a current of air. Examine the plates under short UV light: the chromatogram obtained from the *Test solution* shows multiple zones that correspond in *R<sub>f</sub>* values to those observed in the chromatogram obtained from the *Standard solution*. Other zones of varying intensities may be observed in the chromatogram obtained from the *Test solution*.

Spray the plate with *Spray reagent A* followed by *Spray reagent B*, and examine the plate under daylight: the chromatogram obtained from the *Test solution* shows multiple orange-brown zones that correspond in color and *R<sub>f</sub>* values to those observed in the chromatogram obtained from the *Standard solution*. Other colored zones of varying intensities may be observed in the chromatogram obtained from the *Test solution*.

**B**: The chromatogram of the *Test solution* exhibits peaks for speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine, and isopteropodine at retention times that correspond to those in the chromatogram of *Standard solution 1*, as obtained in the test for *Content of pentacyclic oxindole alkaloids and limit of tetracyclic oxindoles*.

**Microbial enumeration (2021)**—It meets the requirements of the tests for absence of *Salmonella* species and *Escherichia coli*. The total aerobic microbial count does not exceed 10<sup>5</sup> per g, the total combined molds and yeasts count does not exceed 10<sup>4</sup> per g, and the bile-tolerant Gram-negative bacteria do not exceed 10<sup>3</sup> per g.

**Loss on drying (731)**—Dry at 105° for 2 hours: it loses not more than 7.0% of its weight.

**Foreign organic matter (561)**: not more than 2.0%.

**Total ash (561)**: not more than 8.0%.

**Acid-insoluble ash (561)**: not more than 2.0%.

**Pesticide residues (561)**: meets the requirements.

**Heavy metals, Method III (231)**: not more than 20 µg per g.

**Content of pentacyclic oxindole alkaloids and limit of tetracyclic oxindoles**—

**Solution A**—Prepare a filtered and degassed 10 mM pH 7.0 phosphate buffer by mixing 6 mL of 1 N sodium hydroxide, 10 mL of 1 M monobasic potassium phosphate, and sufficient water to make 1000 mL, and adjusting to a pH of 7.0 ± 0.1 by adding more of either solution.

**Solution B**—Use filtered and degassed acetonitrile.

**Solution C**—Prepare a filtered and degassed solution of methanol and glacial acetic acid (99 : 1).

**Mobile phase**—Use variable mixtures of *Solution A*, *Solution B*, and *Solution C* as directed for *Chromatographic system*. Make adjustments if necessary (see *System Suitability under Chromatography (621)*).

**Standard solution 1**—Dissolve an accurately weighed quantity of USP Powdered Cat's Claw Extract RS in methanol, shaking for 1 minute. Dilute with methanol to obtain a solution having a known concentration of about 0.5 mg of the labeled amount of total oxindole alkaloids per mL. Pass through a filter having a 0.45-µm or finer porosity.

**Standard solution 2**—Dissolve an accurately weighed quantity of USP Isopteropodine RS in methanol. Dilute quantitatively, and stepwise if necessary, with methanol to obtain a solution having a known concentration of about 0.1 mg per mL. Pass through a nylon filter having a 0.45-µm or finer porosity.

**Test solution**—Accurately weigh approximately 750 mg of ground Cat's Claw, and place in a 10-mL centrifuge tube. Sonicate with 2.5 mL of methanol for 10 minutes. Centrifuge, and transfer this solution to a 10-mL volumetric flask. Repeat the above extraction three additional times combining the extracts in the 10-mL volumetric flask, and dilute with methanol to volume. Transfer about 3 mL of the solution to a test tube containing 300 mg of polyamide powder, and shake for 1 minute. Pass through a nylon filter having a 0.45-µm or finer porosity, discarding the first part of the filtrate.

**Chromatographic system (see Chromatography (621))**—The liquid chromatograph is equipped with a 245-nm detector and a 4.6-mm × 10-cm column that contains endcapped 3-µm packing L1. The flow rate is about 0.75 mL per minute. The chromatograph is programmed as follows.

Time (minutes)	Solution A (%)	Solution B (%)	Solution C (%)	Elution
0-17	65	35	0	isocratic
17-25	65→50	35→50	0	linear gradient
25-30	50	50	0	isocratic
30-31	50→0	50→0	0→100	linear gradient
31-36	0	0	100	isocratic
36-39	0→65	0→35	100→0	linear gradient
39-49	65	35	0	equilibration

Inject into the chromatograph *Standard solution 1* and *Standard solution 2*, and record the peak responses as directed for *Procedure*: the chromatogram obtained using *Standard solution 1* is similar to the Reference Chromatogram provided with the USP Powdered Cat's Claw Extract RS; the tailing factor for the isopteropodine peak in *Standard solution 2* is not more than 2.0; and the relative standard deviation for replicate injections is not more than 2.0%.

**Procedure**—Separately inject equal volumes (about 10 µL) of *Standard solution 1*, *Standard solution 2*, and the *Test solution* into the chromatograph, record the chromatograms, and measure the areas of the analyte peaks. Identify the retention times of the peaks corresponding to speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine, and isopteropodine by comparison of the chromatogram of *Standard solution 1* with the Reference Chromatogram provided with the lot of the

USP Powdered Cat's Claw Extract RS used. Separately calculate the percentages of speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, rhynchophylline, isorhynchophylline, pteropodine, and isopteropodine, as isopteropodine, in the portion of Cat's Claw taken by the formula:

$$(C/W)(r_0 / r_s)$$

in which C is the concentration, in mg per mL, of USP Isopteropodine RS in Standard solution 2; W is the weight, in g, of Cat's Claw taken to prepare the Test solution;  $r_0$  is the peak response for each relevant alkaloid obtained from the Test solution; and  $r_s$  is the peak response for isopteropodine obtained from Standard solution 2. Calculate the content of pentacyclic oxindole alkaloids by adding the percentages of speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine, and isopteropodine. Calculate the content of tetracyclic oxindole alkaloids, as isopteropodine, by adding the individual percentages of rhynchophylline and isorhynchophylline; not more than 0.05 percent of tetracyclic oxindole alkaloids is found.

### Powdered Cat's Claw

» Powdered Cat's Claw is Cat's Claw reduced to a powder or very fine powder. It contains not less than 0.3 percent of pentacyclic oxindole alkaloids, calculated on the dried basis, as the sum of speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine, and isopteropodine.

**Packaging and storage**—Preserve in tight, light-resistant containers, and store at room temperature.

**Labeling**—The label states the Latin binomial and, following the official name, the part of the plant from which the article was derived.

#### USP Reference standards (11)—

USP Isopteropodine RS

USP Powdered Cat's Claw Extract RS

**Botanic characteristics**—Presence of fragments of cork and suberized cells, with cell walls evenly thickened. Presence of phelloderm sclereids. Fragments of fibers crossed by vascular rays are darkened due to the presence of sand-like calcium oxalate microcrystals. Solitary or two- to three-compound starch grains up to 15  $\mu$ m in diameter. Absence of styloids, typically present in *U. guianensis*.

**Other requirements**—It meets the requirements of the tests for Identification, Microbial enumeration, Loss on drying, Total ash, Acid-insoluble ash, Pesticide residues, Heavy metals, and Content of pentacyclic oxindole alkaloids and limit of tetracyclic oxindole alkaloids under Cat's Claw.

### Powdered Cat's Claw Extract

» Powdered Cat's Claw Extract is prepared from Cat's Claw by extraction with hydroalcoholic mixtures or other suitable solvents. The ratio of plant material to extract is between 4 : 1 and 6 : 1. It contains not less than 90.0 percent and not more than 110.0 percent of the labeled amount of pentacyclic oxindole alkaloids, calculated on the dried basis, as the sum of speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline,

line, pteropodine, and isopteropodine. It may contain suitable added substances.

**Packaging and storage**—Preserve in tight, light-resistant containers, and store at room temperature.

**Labeling**—The label states the Latin binomial and, following the official name, the part of the plant from which the article was prepared. The label also indicates the content of pentacyclic oxindole alkaloids, the extracting solvent or solvent mixture used for preparation, and the ratio of the starting crude plant material to Powdered Extract. It meets the requirements for Labeling under Botanical Extracts (565).

#### USP Reference standards (11)—

USP Isopteropodine RS

USP Powdered Cat's Claw Extract RS

#### Identification—

**A: Thin Layer Chromatographic Identification Test (201)**—

Standard solution, Developing solvent system, Spray reagent A, Spray reagent B, and Procedure—Proceed as directed for Thin Layer Chromatographic Identification Test (201) under Cat's Claw.

**Test solution**—Shake a quantity of Powdered Extract, equivalent to 25 mg of the labeled amount of pentacyclic oxindole alkaloids, in 20 mL of methanol. Allow to stand for 15 minutes before use.

**B:** The chromatogram of the Test solution exhibits peaks for speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine, and isopteropodine at retention times that correspond to those in the chromatogram of Standard solution 1, as obtained in the test for Content of pentacyclic oxindole alkaloids and limit of tetracyclic oxindole alkaloids. The sum of the peak areas for the tetracyclic oxindole alkaloids rhynchophylline and isorhynchophylline is less than 25% of the total peak areas detected for pentacyclic oxindole alkaloids.

**Microbial enumeration (2021)**: meets the requirements of the tests for absence of *Salmonella* species and *Escherichia coli*. The total aerobic microbial count does not exceed  $10^4$  per g, and the total combined molds and yeasts count does not exceed  $10^3$  per g.

**Loss on drying (731)**—Dry 1g at 105° for 2 hours: it loses not more than 10.0% of its weight.

**Heavy metals, Method II (231)**: not more than 10  $\mu$ g per g.

#### Content of pentacyclic oxindole alkaloids and limit of tetracyclic oxindoles—

**Solution A, Solution B, Solution C, Mobile phase, Standard solution 1, Standard solution 2, and Chromatographic system**—Proceed as directed in the test for Content of pentacyclic oxindole alkaloids and limit of tetracyclic oxindoles under Cat's Claw.

**Test solution**—Transfer an accurately weighed quantity of Powdered Extract, equivalent to about 5 mg of the labeled content of pentacyclic oxindole alkaloids, to a 10-mL centrifuge tube. Add 2.5 mL of methanol, and sonicate for 10 minutes. Centrifuge, and transfer the supernatant to a 10-mL volumetric flask. Repeat the above extraction three additional times combining the extracts in the 10-mL volumetric flask, and dilute with methanol to volume. Transfer about 3 mL of the solution to a test tube containing 300 mg of polyamide powder, and shake for 1 minute. Pass through a nylon filter having a 0.45- $\mu$ m or finer porosity, discarding the first part of the filtrate.

**Procedure**—Proceed as directed in the test for Content of pentacyclic oxindole alkaloids and limit of tetracyclic oxindole alkaloids under Cat's Claw. Separately calculate the percentage of each relevant alkaloid in the portion of Powdered Extract taken by the formula:

$$(C/W)(r_0 / r_s)$$

in which W is the weight, in g, of Powdered Extract taken to prepare the Test solution; and the other terms are as defined therein. Calculate the percentage of pentacyclic oxindole alkaloids in the Powdered Extract taken by adding the individual percentages of speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline,

traphylline, pteropodine, and isopteropodine. Calculate the percentage of tetracyclic oxindole alkaloids in the Powdered Extract taken by adding the individual percentages of rhynchophylline and isorhynchophylline: not more than 25% of the labeled amount of pentacyclic oxindole alkaloids is found.

**Other requirements**—It meets the requirements for *Residual Solvents* and *Pesticide Residues* under *Botanical Extracts* (565).

### Cat's Claw Capsules

#### DEFINITION

Cat's Claw Capsules contain Powdered Cat's Claw Extract. Capsules contain NLT 90.0% and NMT 110.0% of the labeled amount of Powdered Extract, calculated as pentacyclic oxindole alkaloids.

#### IDENTIFICATION

The *Sample solution* chromatogram exhibits peaks for speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine, and isopteropodine at retention times that correspond to those in *Standard solution A*, as obtained in the test for *Content of Pentacyclic Oxindole Alkaloids and Limit of Tetracyclic Oxindole Alkaloids*. The content of tetracyclic oxindole alkaloids, calculated as the sum of rhynchophylline and isorhynchophylline, is NMT 25% of the labeled amount of pentacyclic oxindole alkaloids.

#### STRENGTH

##### CONTENT OF PENTACYCLIC OXINDOLE ALKALOIDS AND LIMIT OF TETRACYCLIC OXINDOLE ALKALOIDS

**Solution A:** Prepare a 10 mM pH 7.0 phosphate buffer by mixing 1 N sodium hydroxide, 1 M monobasic potassium phosphate, and water (3:5:492), and adjust to a pH of 7.0 ± 0.1 by adding more of either solution.

**Solution B:** Acetonitrile

**Solution C:** Methanol and glacial acetic acid (99:1)

**Mobile phase:** See the gradient table below.

Time (min)	Solution A (%)	Solution B (%)	Solution C (%)
0	65	35	0
17	65	35	0
25	50	50	0
30	50	50	0
31	0	0	100
36	0	0	100
39	65	35	0
49	65	35	0

**Standard solution A:** Dissolve an accurately weighed quantity of USP Powdered Cat's Claw Extract RS in methanol, shake for 1 min, and dilute with methanol to obtain a solution having a known concentration of about 0.5 mg/mL of the labeled amount of total oxindole alkaloids. Pass through a filter of 0.45-µm or finer pore size.

**Standard solution B:** 0.1 mg/mL of USP Isopteropodine RS in methanol. Pass through a nylon filter of 0.45-µm or finer pore size.

**Sample solution:** Accurately weigh the contents of not fewer than 20 Capsules and pulverize. Transfer an accurately weighed quantity of the powder, equivalent to 20 mg of the labeled amount of pentacyclic oxindole alkaloids, to a 50-mL centrifuge tube. Sonicate with 10 mL of methanol for 10 min. Centrifuge and transfer this solution to a 50-mL volumetric flask. Repeat the above extraction three more times, combining the extracts in the 50-mL volumetric flask, and dilute with methanol to volume. Transfer 3 mL of the solution to a test tube containing 300 mg of polyamide powder, and shake for 1 min. Pass through a nylon filter of 0.45-µm or finer pore size, and discard the first part of the filtrate.

#### Chromatographic system

(See *Chromatography* (621), *System Suitability*.)

**Mode:** LC

**Detector:** UV 245 nm

**Column:** 4.6-mm × 10-cm; endcapped 3-µm packing L1

**Flow rate:** 0.75 mL/min

**Injection size:** 10 µL

#### System suitability

**Samples:** *Standard solution A* and *Standard solution B*

#### Suitability requirements

**Chromatogram similarity:** The chromatogram obtained using *Standard solution A* is similar to the Reference Chromatogram provided with the USP Powdered Cat's Claw Extract RS being used.

**Tailing factor:** NMT 2.0 for the isopteropodine peak, *Standard solution B*

**Relative standard deviation:** NMT 2.0% from the isopteropodine peak in repeated injections, *Standard solution B*

#### Analysis

**Samples:** *Standard solution A*, *Standard solution B*, and *Sample solution*

Measure the areas of the analyte peaks. Identify the retention times of the peaks corresponding to speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine, isopteropodine, rhynchophylline, and isorhynchophylline by comparison of the chromatogram of *Standard solution A* with the Reference Chromatogram provided with the lot of the USP Powdered Cat's Claw Extract RS being used. Calculate the content, in mg, of speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine, and isopteropodine, as isopteropodine, in the portion of Capsules taken:

$$\text{Result} = (r_u/r_s) \times C_s \times V$$

$r_{ij}$  = peak response for each relevant alkaloid from the *Sample solution*

$r_s$  = peak response for isopteropodine from *Standard solution B*

$C_s$  = concentration of USP Isopteropodine RS in *Standard solution B* (mg/mL)

$V$  = final dilution volume of the *Sample solution* (mL)

Calculate the content, in mg, of total pentacyclic oxindole alkaloids ( $C_c$ ) in the portion of Capsules taken by adding the individual contents of speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine, and isopteropodine.

Calculate the percentage of Powdered Cat's Claw Extract with respect to the label claim:

$$\text{Result} = C_c \times (A_{wc}/W) \times (100/L_c) \times (100/L)$$

$C_c$  = content of total pentacyclic oxindole alkaloids in the portion of Capsules taken (mg)

$A_{wc}$  = average weight of Capsules contents (mg/Capsule)

$W$  = weight of the portion of Capsules taken (mg)

$L_c$  = content of total pentacyclic oxindole alkaloids, mg, in 100 mg of the Extract used to prepare the Capsules

$L$  = amount of Extract per Capsule according to label claim (mg/Capsule)

Calculate the percentage of tetracyclic oxindole alkaloids with respect to the content of pentacyclic oxindole alkaloids in the portion of Capsules taken:

$$\text{Result} = (r_t/r_s) \times 100$$

$r_t$  = sum of peak responses for rhynchophylline and isorhynchophylline in the chromatogram of the *Sample solution*

$r_i$  = sum of peak responses for speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine and isoperopodine in the chromatogram of the *Sample solution*

**Acceptance criteria:** 90.0%–110.0% of the labeled amount of Powdered Extract calculated as pentacyclic oxindole alkaloids; and NMT 25% of tetracyclic oxindole alkaloids with respect to the labeled amount of pentacyclic oxindole alkaloids is found.

**PERFORMANCE TESTS**

**Change to read:**

- **DISINTEGRATION AND DISSOLUTION OF DIETARY SUPPLEMENTS (2040):** Meets the requirements for *Disintegration* (USP34)
- **WEIGHT VARIATION OF DIETARY SUPPLEMENTS (2091):** Meets the requirements

**CONTAMINANTS**

- **MICROBIAL ENUMERATION TESTS (2021):** The total aerobic microbial count does not exceed  $10^4$  cfu/g, and the total combined molds and yeasts count does not exceed  $10^3$  cfu/g.
- **ABSENCE OF SPECIFIED MICROORGANISMS (2022):** Meets the requirements of the tests for absence of *Salmonella* species and *Escherichia coli*.

**ADDITIONAL REQUIREMENTS**

- **PACKAGING AND STORAGE:** Preserve in tight, light-resistant containers, and store at room temperature.
- **LABELING:** The label states the Latin binomial and, following the official name, the article from which the Capsules were prepared. If prepared with Extract, the label also indicates the quantity, in mg, of Extract per Capsule and the content, in mg, of pentacyclic oxindole alkaloids per 100 mg of Powdered Extract.
- **USP REFERENCE STANDARDS (11)**  
 USP Isopteropodine RS  
 USP Powdered Cat's Claw Extract RS

**Cat's Claw Tablets**

**DEFINITION**

Cat's Claw Tablets contain Powdered Cat's Claw Extract. Tablets contain NLT 90.0% and NMT 110.0% of the labeled amount of Powdered Extract, calculated as pentacyclic oxindole alkaloids.

**IDENTIFICATION**

- The *Sample solution* chromatogram exhibits peaks for speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine, and isoperopodine at retention times that correspond to those in *Standard solution A*, as obtained in the test for *Content of Pentacyclic Oxindole Alkaloids and Limit of Tetracyclic Oxindole Alkaloids*. The content of tetracyclic oxindole alkaloids, calculated as the sum of rhynchophylline and isorhynchophylline, is NMT 25% of the labeled amount of pentacyclic oxindole alkaloids.

**STRENGTH**

- **CONTENT OF PENTACYCLIC OXINDOLE ALKALOIDS AND LIMIT OF TETRACYCLIC OXINDOLE ALKALOIDS**

**Solution A:** Prepare a 10 mM pH 7.0 phosphate buffer by mixing 1 N sodium hydroxide, 1 M monobasic potassium phosphate, and water (3:5:492), and adjust to a pH of  $7.0 \pm 0.1$  by adding more of either solution.

**Solution B:** Acetonitrile

**Solution C:** Methanol and glacial acetic acid (99:1)

**Mobile phase:** See the gradient table below.

Time (min)	Solution A (%)	Solution B (%)	Solution C (%)
0	65	35	0
17	65	35	0
25	50	50	0
30	50	50	0
31	0	0	100
36	0	0	100
39	65	35	0
49	65	35	0

**Standard solution A:** Dissolve an accurately weighed quantity of USP Powdered Cat's Claw Extract RS in methanol, shake for 1 min, and dilute with methanol to obtain a solution having a known concentration of about 0.5 mg/mL of the labeled amount of total oxindole alkaloids. Pass through a filter of 0.45- $\mu$ m or finer pore size.

**Standard solution B:** 0.1 mg/mL of USP Isopteropodine RS in methanol. Pass through a nylon filter of 0.45- $\mu$ m or finer pore size.

**Sample solution:** Accurately weigh not fewer than 20 Tablets and pulverize. Transfer an accurately weighed quantity of the powder, equivalent to 20 mg of the labeled amount of pentacyclic oxindole alkaloids, to a 50-mL centrifuge tube. Sonicate with 10 mL of methanol for 10 min. Centrifuge and transfer this solution to a 50-mL volumetric flask. Repeat the above extraction three more times, combining the extracts in the 50-mL volumetric flask, and dilute with methanol to volume. Transfer 3 mL of the solution to a test tube containing 300 mg of polyamide powder, and shake for 1 min. Pass through a nylon filter of 0.45- $\mu$ m or finer pore size, and discard the first part of the filtrate.

**Chromatographic system**

(See *Chromatography (621), System Suitability*.)

**Mode:** LC

**Detector:** UV 245 nm

**Column:** 4.6-mm  $\times$  10-cm; endcapped 3- $\mu$ m packing L1

**Flow rate:** 0.75 mL/min

**Injection size:** 10  $\mu$ L

**System suitability**

**Samples:** *Standard solution A* and *Standard solution B*

**Suitability requirements**

**Chromatogram similarity:** The chromatogram obtained using *Standard solution A* is similar to the Reference Chromatogram provided with the USP Powdered Cat's Claw Extract RS being used.

**Tailing factor:** NMT 2.0 for the isopteropodine peak, *Standard solution B*

**Relative standard deviation:** NMT 2.0% from the isopteropodine peak in repeated injections, *Standard solution B*

**Analysis**

**Samples:** *Standard solution A*, *Standard solution B*, and *Sample solution*

Measure the areas of the analyte peaks. Identify the retention times of the peaks corresponding to speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine, isopteropodine, rhynchophylline, and isorhynchophylline by comparison of the chromatogram of *Standard solution A* with the Reference Chromatogram provided with the lot of the USP Powdered Cat's Claw Extract RS being used. Calculate the content, in mg, of speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine, and isopteropodine, as isopteropodine, in the portion of Tablets taken:

$$\text{Result} = (r_u/r_s) \times C_s \times V$$

- $r_u$  = peak response for each relevant alkaloid from the *Sample solution*
- $r_s$  = peak response for isopteropodine from *Standard solution B*
- $C_s$  = concentration of USP Isopteropodine RS in *Standard solution B* (mg/mL)
- $V$  = final dilution volume of the *Sample solution* (mL)



Calculate the content, in mg, of total pentacyclic oxindole alkaloids ( $C_T$ ) in the portion of Tablets taken by adding the individual contents of speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine, and isopteropodine.

Calculate the percentage of Powdered Cat's Claw Extract with respect to the label claim:

$$\text{Result} = C_T \times (A_{WT}/W) \times (100/L_T) \times (100/L)$$

- $C_T$  = content of total pentacyclic oxindole alkaloids in the portion of Tablets taken (mg)  
 $A_{WT}$  = average weight of Tablets (mg/Tablet)  
 $W$  = weight of the portion of Tablets taken (mg)  
 $L_T$  = content of total pentacyclic oxindole alkaloids, mg, in 100 mg of the Extract used to prepare the Tablets  
 $L$  = amount of Extract per Tablet according to label claim (mg/Tablet)

Calculate the percentage of tetracyclic oxindole alkaloids with respect to the content of pentacyclic oxindole alkaloids in the portion of Tablets taken:

$$\text{Result} = (r_t/r_p) \times 100$$

- $r_t$  = sum of peak responses for rhynchophylline and isorhynchophylline in the chromatogram of the Sample solution  
 $r_p$  = sum of peak responses for speciophylline, uncarine F, mitraphylline, isomitraphylline, pteropodine and isopteropodine in the chromatogram of the Sample solution

**Acceptance criteria:** 90.0%–110.0% of the labeled amount of Powdered Extract calculated as pentacyclic oxindole alkaloids; and NMT 25% of tetracyclic oxindole alkaloids with respect to the labeled amount of pentacyclic oxindole alkaloids is found.

#### PERFORMANCE TESTS

##### Change to read:

- **DISINTEGRATION AND DISSOLUTION OF DIETARY SUPPLEMENTS (2040):** Meets the requirements for *Disintegration* USP34
- **WEIGHT VARIATION OF DIETARY SUPPLEMENTS (2091):** Meets the requirements

#### CONTAMINANTS

- **MICROBIAL ENUMERATION TESTS (2021):** The total aerobic microbial count does not exceed  $10^4$  cfu/g. The total combined molds and yeasts count does not exceed  $10^3$  cfu/g.
- **ABSENCE OF SPECIFIED MICROORGANISMS (2022):** Meets the requirements of the tests for absence of *Salmonella* species and *Escherichia coli*.

#### ADDITIONAL REQUIREMENTS

- **PACKAGING AND STORAGE:** Preserve in tight, light-resistant containers, and store at room temperature.
- **LABELING:** The label states the Latin binomial and, following the official name, the article from which Tablets were prepared. The label also indicates the quantity of Powdered Extract per Tablet, in mg. Label Tablets to indicate the content, in mg, of pentacyclic oxindole alkaloids per 100 mg of Powdered Extract.
- **USP REFERENCE STANDARDS (11)**  
 USP Isopteropodine RS  
 USP Powdered Cat's Claw Extract RS

## Chamomile

Chamomile consists of the dried flower heads of *Matricaria recutita* Linné (*Matricaria chamomilla*

Linné, *Matricaria chamomilla* Linné var. *courrantiana*, *Chamomilla recutita* Linné Rauschert (Fam. Asteraceae alt. Compositae). It contains not less than 0.4 percent of blue volatile oil, not less than 0.3 percent of apigenin-7-glucoside, and not less than 0.15 percent of bisabolane derivatives, calculated as levomenol.

**Packaging and storage—**Preserve in well-closed containers, protected from light.

**Labeling—**The label states the Latin binomial and, following the official name, the part of the plant contained in the article.

#### USP Reference standards (11)—

USP Apigenin-7-glucoside RS  
 USP Levomenol RS

#### Botanic characteristics—

**Macroscopic—**Flower head is hemispherical, about 6 mm in diameter, composed of a few ray florets and numerous disk florets (distinction from *Matricaria discoidea*, which has disk florets only), carried on a receptacle surrounded by an involucre. Involucre is green, formed of two to three rows of lanceolate, glabrous, and imbricated bracts with blunt apices and scarious whitish edges. Ray florets, which usually have fallen off, have 10 to 20 pistils; corolla is ligulate, white, but darkens at a length of 6 mm and a width of 2 mm, 3-toothed, and traversed by four main veins. Disk florets are yellow, perfect, about 2 mm in length; corolla is tubular with five teeth; five stamens are epipetalous and syngenesious. Receptacle is hollow (distinction from *Chrysanthemum* and *Artemisia* species), hemispherical in the young and conical in the old flower head, 3 to 10 mm in width, and lacking paleae. Achene is ovoid and has three to five longitudinal ribs.

**Microscopic—**Separate the capitulum into its parts and examine under a microscope. The outer, abaxial epidermis of the involucre shows a scarious margin with a single layer of radially elongated cells and a central part made up of chlorophyll tissue covered by elongated epidermal cells with sinuous lateral walls, stomata, and secretory trichomes. The vascular bundles are surrounded by numerous elongated, pitted sclereids with fairly large lumens. In surface view, ligulate and tubular corollas show isodiametric or elongated cells with more or less wavy walls and a few glandular trichomes. The outer part of the epidermis of the ligulate florets consists of papillary cells with cuticular striations radiating from their tips. In the mesophyll, very small clusters of calcium oxalate are sometimes seen. Four main veins run lengthwise through the entire mesophyll, sometimes accompanied by one or two other veins, which are shorter and run parallel to the main veins. Each of the two main median veins splits into two near the tip and, with the lateral veins, anastomose two by two to form three arcs at the three terminal teeth of the ligule. The ovaries, oval to spherical, of both kinds of florets have at their base a sclerous ring consisting of a single row of cells. The epidermis of the ovary is made up of elongated cells with sinuous walls between which secretory trichomes are situated. The ovaries contain numerous very small clusters of calcium oxalate. In the tubular florets, the low part of each stamen filament is surrounded by thick-walled cells. The ends of the two stigmata have papillose epidermal cells. The pollen grains have a diameter of about 30  $\mu$ m and are rounded and triangular, with three germinal pores and a spiny exine.

#### Identification—

**A: Thin-Layer Chromatographic Identification Test (201)—**

**Adsorbent:** 0.25-mm layer of chromatographic silica gel.

**Test solution—**Reduce about 1.0 g of Chamomile to a coarse powder, using a porcelain pestle and mortar. Transfer to a 1.5-cm  $\times$  15-cm chromatographic column, and tamp lightly with a short length of rubber hose. Rinse the pestle and mortar twice, each time with 10 mL of methylene chloride. Pour the rinsings into the column. Collect the percolate in a flask and evaporate

N° d'identification :

**TITRE**

UNCARIA TOMENTOSA, LIANE DE LA FORET AMAZONIENNE

Thèse soutenue le 06/03/2020

Par Renaud CECCONI

**RESUME :**

La forêt amazonienne renferme l'une des pharmacopées les plus denses du monde. Le savoir traditionnel qu'en ont acquis les indiens d'Amazonie constitue une richesse scientifique qu'il convient d'analyser avec autant d'application que de déférence pour ses peuples trop longtemps meurtris par les affres de la colonisation. Les ethnopharmacologues rapportent qu'ils utilisent l'écorce (et dans une moindre mesure les racines) d'une liane, *Uncaria tomentosa* ou la griffe de chat, pour diverses indications dont les troubles inflammatoires articulaires en tête de file. L'essor de cette plante en médecine moderne est récent. Son écorce (de tige) a été inscrite aux Pharmacopées américaine et française respectivement en 2004 et 2014. Les principaux composants d'intérêt retenus par la monographie US sont les alcaloïdes oxindoles (OA). Les pentacycliques (POA) confèrent à la plante un bon nombre de ses propriétés : on retrouve notamment de fortes activités anti-inflammatoire, immunostimulante et anticancéreuse : en plus d'une inhibition directe sur une multitude de lignées cancéreuses, on note une sélectivité de tissu (préservation des tissus sains) et une réduction de la neutropénie induite par les chimiothérapies. En revanche, les alcaloïdes tétracycliques (TOA) ont des effets antagoniste et cardiotoxique. L'intérêt consiste donc à travailler sur des échantillons à forte teneur en POA et à faible teneur en TOA, ce que satisfait l'écorce (rapport POA/TOA = 6:1 dans l'écorce et = 1:1 dans les feuilles). D'autres propriétés ont été expérimentées avec succès (antioxydant, anti-infectieux, antimutagène, contraceptif ou encore lutte contre le vieillissement cérébral). L'usage de la plante est en plus associé à une faible toxicité bien que certaines situations nécessitent des précautions d'emploi. Pour cause d'une toxicité sur la reproduction évaluée en phase pré-clinique, elle ne doit pas être utilisée en cas de grossesse. En conclusion, il est nécessaire de compléter les études phytochimiques par des essais cliniques pour le développement en Europe de cette plante prometteuse en phytothérapie. Par ailleurs, la préservation de la plante dans son milieu naturel constitue un objectif à ne pas négliger.

**MOTS CLES :**Alcaloïdes, Oxindole, Anti-inflammatoire, Uncaria, Immunostimulation

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Mme Dominique LAURAIN-MATTAR	Laboratoire de Pharmacognosie, Université de Lorraine	Expérimentale <input type="checkbox"/>
		Bibliographique <input checked="" type="checkbox"/>
		Thème <input type="checkbox"/>

**Thèmes**

1 – Sciences fondamentales  
3 – Médicament  
5 - Biologie

2 – Hygiène/Environnement  
4 – Alimentation – Nutrition  
6 – Pratique professionnelle

## DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 06/03/2020

<p><b>DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE</b></p> <p>présenté par : Mr CECCONI Renaud</p> <p><u>Sujet</u> : « <i>Uncaria tomentosa</i>, liane de la forêt amazonienne »</p> <p><u>Jury</u> :</p> <p>Président : Mme LAURAIN-MATTAR Dominique, professeur de pharmacognosie Directeur : Mme LAURAIN-MATTAR Dominique Juges : Mme SPINA Rosella, maître de conférence Mr SONNTAG Jean-Claude, Pharmacien Mme MULLER Sylvaine, chercheur INSERM</p>	<p>Vu, Nancy, le 31/01/2020</p> <p>Le Président du Jury      Directeur de Thèse</p> <p>M. LAURAIN-MATTAR </p>
<p>Vu et approuvé, Nancy, le 11.02.2020</p> <p>Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Lorraine,</p> <p> Pr. Raphaël DUVAL</p>	<p>Vu, Nancy, le 19.02.2020</p> <p>Le Président de l'Université de Lorraine,</p> <p> Pierre MUTZENHARDT</p> <p>N° d'enregistrement : 11073</p>