



**HAL**  
open science

# Etude pharmacologique d'une rutacée de la pharmacopée traditionnelle africaine, Xanthoxylum xanthoxyloïdes Waterm

Isabelle Bertrand

► **To cite this version:**

Isabelle Bertrand. Etude pharmacologique d'une rutacée de la pharmacopée traditionnelle africaine, Xanthoxylum xanthoxyloïdes Waterm. Biologie végétale. Université Paul Verlaine - Metz, 1988. Français. ⟨NNT : 1988METZ023S⟩. ⟨tel-01775551⟩

**HAL Id: tel-01775551**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01775551v1>**

Submitted on 24 Apr 2018

**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.



HAL Authorization



## 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-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-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>

UNIVERSITE  
DE METZ

CENTRE DES SCIENCES  
DE L'ENVIRONNEMENT

N° D'ENREGISTREMENT :

THESE

PRESENTEE POUR OBTENIR LE DIPLOME DE

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE  
DE METZ

MENTION PHARMACOGNOSIE

PAR

ISABELLE BERTRAND

*Etude pharmacologique  
d'une Rutacée de la pharmacopée  
traditionnelle africaine.  
Xanthoxylum xanthoxyloides Waterm.*

SOUTENUE LE 3 SEPTEMBRE 1988

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE DE METZ



022 420311 7

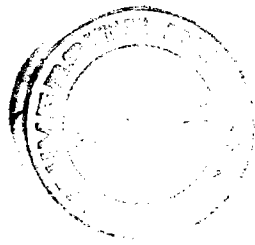
MORTIER,  
PUSSET,

Professeur (Rapporteur)  
Professeur

nt du jury)

eur)  
e (Directeur de thèse)

e



BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE - METZ	
N° inv.	1988 0465
Cote	S/M <sub>3</sub> 88/23
Loc	Magasin

## AVANT-PROPOS .

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Pharmacognosie du Centre des Sciences de l'Environnement de l'Université de Metz . Avant d'entreprendre l'exposé de ce travail, je voudrais exprimer mes remerciements et toute ma gratitude envers toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail .

Monsieur le Professeur Jean-Marie Pelt m'a fait l'honneur de présider le jury . Je voudrais lui exprimer ma profonde reconnaissance pour son aide, ses nombreux conseils, ses encouragements et son soutien.

Lorsque, au sortir de l'agrégation en 1982, je cherchais un laboratoire pour entreprendre une recherche dans le domaine de la botanique, il m'a offert un accueil chaleureux dans son équipe et j'ai été frappée par son enthousiasme de chaque instant concernant les plantes et leurs secrets, enthousiasme qu'il sait communiquer à ceux qui l'écoutent . Qu'il trouve ici l'assurance de ma grande admiration et de ma gratitude .

Je suis également très reconnaissante à Monsieur Jacques Fleurentin, Maître de Conférence à l'Université de Metz et assistant de Monsieur le Professeur Jean-Marie Pelt . Il a su m'encourager, quand mener de front enseignement et recherche devenait plus difficile . Pour son entière disponibilité, sa compétence et son dynamisme, je lui exprime toute ma gratitude .

Il m'est très agréable d'adresser mes remerciements à Monsieur René Misslin qui m'a réservé un accueil spontané et chaleureux dans son laboratoire de Psychophysiologie de Strasbourg . Je garde un excellent souvenir de l'initiation aux problèmes du comportement de la souris dont il a bien voulu me faire bénéficier . Je lui exprime ma grande admiration pour sa compétence et sa disponibilité .

Je remercie Monsieur le Professeur François Mortier qui a bien voulu m'apporter son aide, sa compétence et sa très grande expérience pour la réalisation des extraits et leur étude chimique .  
Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance .

Monsieur le Professeur Adjanohoun m'a fait l'honneur de participer au jury : je lui exprime toute ma gratitude .

J'adresse tous mes remerciements à Monsieur le Professeur Attkinson, qui a bien voulu s'intéresser à mon sujet de thèse . Je lui suis très reconnaissante d'avoir accepté de faire partie de ce jury et de nous faire ainsi bénéficier de sa très grande expérience pharmacologique .

Je remercie tout aussi chaleureusement Monsieur le Professeur Pousset, qui a accepté de me prêter des photographies de la plante . Je suis heureuse qu'il ait bien voulu faire partie de ce jury .

J'exprime mes remerciements à Chafique Younos, Professeur de botanique afghan, qui a bien voulu m'aider à réaliser l'étude botanique de la plante . Qu'il soit assuré de ma gratitude pour son entière disponibilité et sa compétence .

---

Je remercie Monsieur Verger, qui a mené avec compétence l'enquête de terrain auprès des tradipraticiens africains .

Que soit aussi remercié Monsieur Garnier, qui a aimablement récolté pour nous les feuilles et les racines de X.xanthoxyloïdes .

J'exprime toute ma gratitude à Monsieur Charles Gross, qui a réalisé pour nous le test de l'activimètre .

Toute ma gratitude va à Alain Rolland, pour sa disponibilité de chaque instant et pour toute l'aide et le soutien qu'il m'a toujours apportés .

---

Je remercie Marie-Claire Lanhers pour son aide précieuse dans les divers tests, et surtout pour le soutien moral qu'elle m'a apporté pendant toutes ces années, en témoignage de notre amitié .

Je remercie Monsieur Valck, Directeur du Jardin Botanique de Villers-les Nancu, qui m'a toujours permis d'accéder à la bibliothèque afin d'y trouver les flores qui m'ont été nécessaires pour la taxinomie de l'espèce .

Je dois beaucoup à Alain Winkel pour le dévouement avec lequel il a accepté d'assurer la dactylographie du manuscrit . Qu'il sache combien j'ai apprécié sa disponibilité et sa serviabilité .

Que soient aussi remerciées les quatre élèves du lycée de Fameck, pour leur assiduité dans la dactylographie de diverses parties du document, ainsi que leur proviseur, Monsieur Schmitt .

Je remercie Francine Klein qui m'a laissé un libre accès à sa machine, pour la dactylographie .

Les établissements Leclerc Pneus, pour leur aide à la reprographie du manuscrit .

Hassan Hadi, pour son aide dans la réalisation de tests comportementaux .

Jean-Claude Block, Paule Vasseur, Jean-François Férard, Paul Lehr et tous mes collègues du Centre des Sciences de l'Environnement pour leur collaboration, leurs conseils, leur amabilité et leur soutien.

Je dédie ce travail

A Michel,

pour son soutien moral et sa patience  
durant ces années de recherche ;

A mes parents,

pour toute l'aide et la compréhension qu'ils  
m'ont toujours apportées ;

A ma grand-mère,

en témoignage de mon affection;

A Jean-Philippe et Marie-Pierre ;

A Nicole,

qui m'a accompagnée dans mes débuts de  
professeur, avec une gentillesse, une compétence  
et un humour dont elle ne s'est pas séparée ;

A B.Imbs,

qui m'a donné goût à la biologie et à  
l'enseignement ;

A Monsieur Jean Noël,

pour son soutien et ses conseils précieux ;

A tous mes amis .

## SOMMAIRE

PAGES

INTRODUCTION

### I CHOIX D'UNE ESPECE

0

#### 1.1 LES ANIMAUX

##### 1.1.1 Les espèces utilisées

1.1.1.1 Les souris

1.1.1.2 Les rats

##### 1.1.2 Conditions d'élevage

1.1.2.1 Les souris

1.1.2.2 Les rats

#### 1.2 SCREENING DE QUELQUES ESPECES AFRICAINES

4

##### 1.2.1 Introduction

##### 1.2.2 Test

1.2.2.1 Préparation des extraits .....

1.2.2.2 Hypnotique choisi

1.2.2.3 Mise en place du protocole

1.2.2.4 Protocole expérimental

1.2.2.5 Analyses statistiques

##### 1.2.3 Résultats

### II ETUDE BOTANIQUE

21

2.1 POSITION SYSTEMATIQUE DES RUTACEAE PARMIS LES  
SAPINDALES

2.2 POSITION SYSTEMATIQUE DU GENRE XANTHOXYLUM GMELIN = 26  
FAGARA LAM.

2.3 FAGARA XANTHOXYLOIDES 36

2.3.1 Position systématique

2.3.2 Le genre Xanthoxylum

2.3.3 Xanthoxylum xanthoxyloïdes

2.3.3.1 Chorologie

2.3.3.2 Description botanique

2.3.3.3 Etude anatomique

### III COMPOSITION CHIMIQUE

47

3.1 ALCALOIDES

3.1.1 Dérivés benzyltétrahydroisoquinoléiques

3.1.2 Aporphines quaternaires

3.1.3 Dérivés de la protoberbérine

3.1.4 Dérivés de la protopine

3.1.5 Dérivés de la phénanthridine

3.1.6 Dérivés de la furoquinoléine

3.1.7 Dérivés de l'indol

3.1.8 Dérivés de l'hydroquinoléine

3.2 AMIDES

54

3.3 COUMARINES

55

3.4 ALCOOLS

56

3.5 LIGNANES

58

2.2 POSITION SYSTEMATIQUE DU GENRE XANTHOXYLUM GMELIN = 26  
FAGARA LAM.

2.3 FAGARA XANTHOXYLOIDES 36

2.3.1 Position systématique

2.3.2 Le genre Xanthoxylum

2.3.3 Xanthoxylum xanthoxyloïdes

2.3.3.1 Chorologie

2.3.3.2 Description botanique

2.3.3.3 Etude anatomique

### III COMPOSITION CHIMIQUE

47

3.1 ALCALOIDES

3.1.1 Dérivés benzyltétrahydroisoquinoléiques

3.1.2 Aporphines quaternaires

3.1.3 Dérivés de la protoberbérine

3.1.4 Dérivés de la protopine

3.1.5 Dérivés de la phénanthridine

3.1.6 Dérivés de la furoquinoléine

3.1.7 Dérivés de l'indol

3.1.8 Dérivés de l'hydroquinoléine

3.2 AMIDES

54

3.3 COUMARINES

55

3.4 ALCOOLS

56

3.5 LIGNANES

58

3.6 ACIDES ORGANIQUES	59
3.7 CETONES ALIPHATIQUES	60
3.8 AUTRES CONSTITUANTS	61

#### IV ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

4.1 INDICATIONS THERAPEUTIQUES TRADITIONNELLES	62
4.1.1 <u>Appareil digestif</u>	65
4.1.1.1 Troubles intestinaux et stomacaux	
4.1.1.2 Parasitoses intestinales	
4.1.1.3 Ictères	
4.1.1.4 Douleurs abdominales	
4.1.1.5 Hémorroïdes	
4.1.2 <u>Appareil locomoteur</u>	67
4.1.2.1 Courbatures	
4.1.2.2 Douleurs articulaires, lumbagos, rhumatismes	
4.1.3 <u>Appareil génital féminin</u>	68
4.1.3.1 Troubles ovariens	
4.1.3.2 Aménorrhées	
4.1.3.3 Dysménorrhées	
4.1.3.4 Leucorrhées	
4.1.3.5 Suites de couches pathologiques	
4.1.4 <u>Appareil uro-génital masculin</u>	70
4.1.4.1 Blénorragie	
4.1.4.2 Urétrite	
4.1.4.3 Propriétés aphrodisiaques	
4.1.5 <u>Nez-Bouche-Gorge-Oreilles</u>	71
4.1.5.1 Odontalgie et gingivites	
4.1.5.2 Caries dentaires	

4.1.5.3	Toux	
4.1.5.4	Angine, pharyngite	
4.1.6	<u>Peau</u>	<b>73</b>
4.1.6.1	Ulcères et plaies	
4.1.6.2	Abcès	
4.1.6.3	Pian-Plaies suppurantes	
4.1.6.4	Plaies chroniques	
4.1.6.5	Ulcères phagédéniques	
4.1.6.6	Gale	
4.1.6.7	Morsures de serpents	
4.1.7	<u>Maladies et indications particulières</u>	<b>75</b>
4.2	ETUDES PHARMACOLOGIQUES	
4.2.1	<u>Effets anti-falcémiant</u>	<b>78</b>
4.2.1.1	Les extraits utilisés	
4.2.1.2	Effets observés	
4.2.1.2.1	Fraction huileuse	
4.2.1.2.2	Extraction aqueuse et éthérée	
4.2.2	<u>Effets anti-tumoraux</u>	<b>84</b>
4.2.2.1	Tests et résultats	
4.2.2.2	Mode d'action de la fagaronine	
4.2.3	<u>Effets anti-microbiens</u>	<b>88</b>
4.2.3.1	Les extraits utilisés	
4.2.3.2	Activité des produits	
4.2.4	<u>Effets anesthésiques</u>	<b>90</b>
4.2.5	<u>Effets anti-coagulants</u>	<b>92</b>
4.2.6	<u>Effets sur le tonus musculaire</u>	

## V PREPARATION ET CHOIX DES EXTRAITS

5.1 REALISATION DES EXTRAITS	93
5.2 IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS ORGANIQUES	95
5.2.1 <u>Identification par voie chimique</u>	
5.2.1.1 Identification des tanins	
5.2.1.2 Identification des flavonoïdes	
5.2.1.3 Identification des coumarines	
5.2.2 <u>Identification par chromatographie en couche mince</u>	
5.2.2.1 Caractérisation des phénols	99
5.2.2.2 Caractérisation des sucres	
5.3 CHOIX DU SOLVANT ET DE LA FRACTION DE PLANTE UTILISES	103
5.3.1 <u>Protocole expérimental</u>	
5.3.2 <u>Analyses statistiques</u>	104
5.3.3 <u>Résultats</u>	105
5.4 TOXICITE	107
5.4.1 <u>Protocole expérimental</u>	
5.4.2 <u>Résultats</u>	108
5.4.2.1 Extrait aqueux de feuilles	
5.4.2.2 Extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines	

## VI RECHERCHE D'EFFETS PSYCHOTROPES

6.1 ETUDE DE L'INTERACTION AVEC LES BARBITURIQUES	110
6.1.1 <u>Introduction</u>	

6.1.1.1	Absorption	
6.1.1.2	Effets pharmacologiques	
6.1.1.3	Mode d'action	
6.1.1.4	Catabolisme	
6.1.1.5	Interactions possibles entre barbituriques et autres substances	
6.1.2	<u>Effet inducteur du sommeil après traitement à une dose infra-hypnotique de pentobarbital</u>	116
6.1.2.1	Protocole expérimental	
6.1.2.2	Analyses statistiques	
6.1.2.3	Résultats	
6.1.3	<u>Effet potentialisateur du sommeil induit par le pentobarbital</u>	120
6.1.3.1	Protocole expérimental	
6.1.3.2	Analyses statistiques	
6.1.3.3	Résultats	
6.1.4	<u>Effet sur l'hypnose induite par le barbital</u>	125
6.1.4.1	Protocole expérimental	
6.1.4.2	Analyses statistiques	
6.1.4.3	Résultats	
6.1.5	<u>Discussion</u>	129
6.2	RECHERCHE D'UNE ACTIVITE COMPORTEMENTALE	
6.2.1	<u>Propriétés sédatives</u>	133
6.2.1.1	Test de l'activimètre en situation familiale	
6.2.1.1.1	Protocole expérimental	
6.2.1.1.2	Analyses statistiques	
6.2.1.1.3	Résultats	
6.2.1.2	Test de l'activimètre en situation contraignante	
6.2.1.2.1	Protocole expérimental	
6.2.1.2.2	Analyses statistiques	
6.2.1.2.3	Résultats	

6.2.1.3	Test de l'exploration du milieu nouveau	
6.2.1.3.1	Protocole expérimental	
6.2.1.3.2	Analyses statistiques	
6.2.1.3.3	Résultats	
6.2.1.4	Test de l'escalier	
6.2.1.4.1	Protocole expérimental	
6.2.1.4.2	Analyses statistiques	
6.2.1.4.3	Résultats	
6.2.1.5	Discussion	
6.2.2	<u>Propriétés anxiolytiques</u>	159
6.2.2.1	Introduction	
6.2.2.2	Test de l'activimètre en situation contraignante	
6.2.2.2.1	Protocole expérimental	
6.2.2.2.2	Analyses statistiques	
6.2.2.2.3	Résultats	
6.2.2.3	Test de l'escalier	
6.2.2.3.1	Protocole expérimental	
6.2.2.3.2	Analyses statistiques	
6.2.2.3.3	Résultats	
6.2.2.4	Test de l'enceinte claire obscure	
6.2.2.4.1	Protocole expérimental	
6.2.2.4.2	Analyses statistiques	
6.2.2.4.3	Résultats	
6.2.2.5	Discussion	
6.2.3	<u>Etude de l'interaction entre X.xanthoxyloïdes et un antagoniste des benzodiazépines</u>	182
6.2.3.1	Protocole expérimental	
6.2.3.2	Analyses statistiques	
6.2.3.3	Résultats	
6.2.4	<u>Etude de la cinétique d'action des extraits à l'aide du test de l'escalier</u>	193
6.2.4.1	Protocole expérimental	
6.2.4.2	Analyses statistiques	
6.2.4.3	Résultats	

6.2.5	<u>Etude de l'activité de la plante par voies orale et sous-cutanée</u>	197
6.2.5.1	Protocole expérimental	
6.2.5.2	Analyses statistiques	
6.2.5.3	Résultats	
6.3	RECHERCHE D'UN EFFET NEUROLEPTIQUE	
6.3.1	<u>Introduction</u>	207
6.3.2	<u>Recherche d'un effet cataleptique et hypothermique</u>	214
6.3.2.1	Protocoles expérimentaux	
6.3.2.2	Analyses statistiques	
6.3.2.3	Résultats	
6.3.3	<u>Recherche d'une interaction avec l'amphétamine</u>	221
6.3.3.1	Introduction	
6.3.3.2	Protocoles expérimentaux	
6.3.3.3	Analyses statistiques	
6.3.3.4	Résultats	
6.3.4	<u>Discussion</u>	
6.4	RECHERCHE D'UN EFFET ANTI-DEPRESSEUR	
6.4.1	<u>Introduction</u>	235
6.4.2	<u>Recherche d'un effet sur l'hypothermie, le ptosis et l'akinésie induits par la réserpine</u>	244
6.4.2.1	Introduction	
6.4.2.2	Protocole expérimental	
6.4.2.3	Problèmes méthodologiques	
6.4.2.4	Analyses statistiques	
6.4.2.5	Résultats	
6.4.3	<u>Recherche d'un effet sur l'hypothermie, la salivation, les larmoiements et les tremblements induits par l'oxotrémorine</u>	257
6.4.3.1	Introduction	
6.4.3.2	Protocole expérimental	

6.4.3.3	Analyses statistiques	
6.4.3.4	Résultats	
6.4.4	<u>Discussion</u>	264
6.5	RECHERCHE D'UN EFFET ANTI-CONVULSIVANT	
6.5.1	<u>Introduction</u>	265
6.5.2	<u>Protocole expérimental</u>	268
6.5.3	<u>Résultats</u>	269

## VII RECHERCHE D'AUTRES ACTIVITES PHARMACOLOGIQUES

7.1	RECHERCHE D'EFFETS ANALGESIQUES	
7.1.1	<u>Introduction</u>	274
7.1.2	<u>Protocoles expérimentaux</u>	283
	7.1.2.1 Le test du writing	
	7.1.2.2 Le test de la plaque chauffante	
7.1.3	<u>Analyses statistiques</u>	286
7.1.4	<u>Résultats</u>	287
7.1.5	<u>Discussion</u>	295
7.2	RECHERCHE D'EFFETS ANTI-INFLAMMATOIRES	
7.2.1	<u>Introduction</u>	297
7.2.2	<u>Protocole expérimental</u>	298
7.2.3	<u>Analyses statistiques</u>	
7.2.4	<u>Résultats</u>	300

7.3 RECHERCHE D'EFFETS ANTI-PYRETIQUES

7.3.1 Introduction 304

7.3.2 Protocole expérimental 305

7.3.4 Analyses statistiques

7.3.5 Résultats 306

CONCLUSION : EBAUCHE D'UN PROFIL PHARMACOLOGIQUE .

## INTRODUCTION .

Il existe actuellement un regain d'intérêt pour la phytothérapie, les médecines douces, ainsi que pour les pratiques des pharmacopées traditionnelles . Cette tendance est en accord avec un besoin de retour au naturel ressenti par les sociétés modernes .

Malgré ce regain d'intérêt, les données de la médecine traditionnelle restent souvent empiriques . Dans notre laboratoire, notre objectif est d'effectuer l'inventaire des plantes médicinales et produits naturels utilisés dans les pharmacopées traditionnelles sans négliger pour autant les pratiques relatives à la santé et à la maladie . La nécessité se faisait sentir de coordonner tous les travaux dans le domaine de l'ethnopharmacologie (ainsi est née la Société Française d'Ethnopharmacologie ) et d'évaluer le bien-fondé des pratiques traditionnelles . Ceci permettra de sauvegarder un patrimoine culturel et de proposer une intégration des médecines traditionnelles dans les systèmes de santé en favorisant les recherches pharmacologiques .

Nous nous sommes intéressés aux remèdes composés utilisés pour l'induction des transes dans les pratiques Vaudou ; les travaux d'enquête ethnologique de terrain ont été réalisés par P . Verger qui a bien voulu nous communiquer ses résultats . Nous avons choisi d'étudier les espèces qui étaient le plus souvent représentées dans ces remèdes composés ; quatre espèces de la pharmacopée traditionnelle africaine ont ainsi été sélectionnées en raison de leur fréquence :

Amaranthus caudatus

Chlorophora excelsa

Kalanchoe crenata

Xanthoxylum xanthoxyloïdes

Un premier screening pharmacologique portant sur le test d'interaction avec le pentobarbital a montré que Xanthoxylum xanthoxyloïdes présentait les effets les plus importants ; l'étude pharmacologique portera donc principalement sur cette espèce .

Notre but sera d'objectiver les utilisations faites des extraits végétaux, et éventuellement d'élargir leur spectre d'action à d'autres propriétés nouvelles .

Xanthoxylum xanthoxyloïdes entre dans la composition de recettes utilisées pour l'induction des trances dans les pratiques Vaudou : nous tenterons donc de rechercher d'éventuelles propriétés psychotropes de l'extrait végétal, qui pourront avoir deux tendances : soit une tendance sédatrice, qui se justifierait, pour l'utilisation dans les trances, par la nécessité de moduler l'effet (parfois trop violent) obtenu, soit une tendance psychostimulante .

Avant d'effectuer cette démarche expérimentale, nous réaliserons une étude botanique de la plante, nous préciserons les données chimiques connues à son sujet . Une étude bibliographique suivra, où seront rappelées les utilisations traditionnelles nombreuses de Xanthoxylum xanthoxyloïdes dans les pays africains . Cette étude bibliographique comprendra aussi un rappel des études pharmacologiques effectuées antérieurement sur diverses activités de l'extrait végétal (effets anti-falcémiques, anti-tumoraux, anti-microbiens, anesthésiques, anti-coagulants, ...) .

Puis, après réalisation des extraits aqueux et hydro-alcoolique conformément aux prescriptions traditionnelles, et contrôle de leur toxicité, nous réaliserons une définition de ces extraits par l'établissement d'un profil chimique .

Ensuite, nous rechercherons les effets psychotropes possibles de Xanthoxylum xanthoxyloïdes :

-interaction avec les barbituriques (induction et potentialisation du sommeil) .

-tests comportementaux :

- \* effets sédatifs (activimètre en situation familière ou contraignante, test de l'exploration du milieu nouveau, test de l'escalier) .
- \* effets anxiolytiques (activimètre en situation contraignante, test de l'escalier, test de l'enceinte claire obscure) .

-recherche d'effet neuroleptique (effet cataleptique, effet hypothermique, interaction avec l'amphétamine, pour la toxicité de groupe et les stéréotypies induites par l'amphétamine) .

-recherche d'effet anti-dépresseur (effets sur l'hypothermie, le ptosis et l'akinésie induits par la réserpine, effets sur l'hypothermie, la salivation, les larmolements et les tremblements induits par l'oxotrémorine) .

-recherche d'effet anti-convulsivant (test du pentétrazol) .

Puis nous compléterons cette étude pharmacologique par la recherche d'autres activités, souvent liées aux précédentes :

-recherche d'effets analgésiques (test du writhing, test de la plaque chauffante) .

-recherche d'effets anti-inflammatoires (test de l'oedème induit par la carragénine) .

-recherche d'effets anti-pyrétiques (test de l'hyperthermie induite par la levure) .

A l'issue de ces travaux, nous esquisserons un profil pharmacologique aussi précis que possible de ces extraits végétaux, ce qui permettra de confirmer ou d'infirmier les données de la tradition . L'originalité de cette étude est de privilégier la démarche pharmacologique .

# **I. CHOIX D'UNE ESPECE.**

## **I CHOIX D'UNE ESPECE**

### **1.1 Les animaux : conditions générales d'élevage et d'expérimentation**

#### **1.1.1 Les espèces utilisées**

##### **1.1.1.1 Les souris**

Les animaux utilisés sont des souris mâles hétérozygotes de la lignée Swiss provenant soit du laboratoire Césal (Montmédy, France), soit du laboratoire Janvier (Le Genest, France), soit de l'élevage du laboratoire de psychophysiologie (Strasbourg, France) d'un âge moyen de 7 à 9 semaines au moment des tests pharmacologiques.

##### **1.1.1.2 Les rats**

Ce sont des rats mâles de la lignée OFA Sprague - Dawley (Iffa Credo, l'Arbresle, France), d'un poids moyen compris entre 300 et 350g au moment des tests.

## 1.1.2 Conditions d'élevage

### 1.1.2.1 Les souris

Elles sont reçues à l'âge de 5 semaines et sont alors réparties, au hasard, par groupes de 5 dans des cages standard en macrolon. Elles reçoivent de l'eau dans des biberons et de la nourriture à volonté (Croquettes M25, Extra-Labo, Provins, France) et sont placées dans l'animalerie, à une température constante de  $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

L'animalerie cyclée (12h/12), éclairée en lumière artificielle de 23h à 11h, est obscure le reste du temps.

Les tests sont effectués entre 13h et 17h : de ce fait, nous observons et enregistrons le comportement des animaux pendant la période nocturne, car cette période correspond au début de la phase active de leur cycle nyctéméral.

Les expériences se font en lumière rouge.

### 1.1.2.2 Les rats

15 jours avant le test, les rats sont repartis dès leur arrivée, au hasard par groupes de 10, dans de grandes cages en macrolon. Ils sont abreuvés par de l'eau au moyen de biberons et sont nourris par des croquettes M25 (Extra-Labo, Provins, France), ad libitum.

Ils sont maintenus dans une animalerie cyclée (12h/12) : la lumière s'allume à 11h pour s'éteindre à 23h.

- COMPOSITION CHIMIQUE DES CROQUETTES M25 POUR  
RATS ET SOURIS DES LABORATOIRES EXTRA-LABO (PROV)

<b>SUBSTANCES DIVERSES (Composition %)</b>	
Eau.....	12
Matières minérales.....	7,4
Matières grasses.....	4,5
Matières azotées (N X tot X 6,25)....	24
Cellulose brute.....	3,8
Extractif non azoté.....	48,3
Matière sèche.....	88
Energie cal. Métabolisable/kg.....	3040
<b>MINERAUX (Grammes/kg)</b>	
Calcium.....	15
Phosphore.....	9,5
Potassium.....	7
Chlore.....	4,5
Sodium.....	5
Magnésium.....	2
<b>OLIGO ELEMENTS MINERAUX (Milligrammes/kg)</b>	
Manganèse.....	140
Zinc.....	48
Cuivre.....	16
Cobalt.....	1,4
Iode.....	4
Fer.....	430
<b>ACIDES AMINES (Grammes/kg)</b>	
Arginine.....	13,1
Lysine.....	15
Méthionine.....	4,5
Cystine.....	4
Tryptophane.....	2,7
Glycolle.....	16,9
Isoleucine.....	11
Leucine.....	16,4
Phénylalanine.....	10,4
Thréonine.....	9,4
Valine.....	10,4
Histidine.....	5
Tyrosine.....	8
<b>VITAMINES (U.I. p/kg)</b>	
A.....	5500
O.....	
<b>VITAMINES (Milligrammes/kg)</b>	
B 1.....	6,7
B 2.....	4,4
B 6.....	2,9
B 12.....	0,02
Acide Pantothénique.....	10
Niacine.....	50
Biotine.....	0,5
Acide folique.....	2,1
Vitamine E.....	30
Vitamine K.....	0,6
Acide ascorbique.....	
Choline.....	1000

## 1.2 SCREENING DE QUELQUES ESPECES AFRICAINES

### 1.2.1 Introduction

Notre travail a eu pour point de départ les observations de l'ethnologue P. VERGER (Communication personnelle) concernant les pratiques Vaudou au Bénin.

Il nous a fourni un inventaire de plantes utilisées en mélange dans des remèdes destinés à favoriser l'état de transe.

Notre but a été dans un premier temps de vérifier si effectivement certaines espèces sélectionnées et appartenant à ces remèdes possédaient des propriétés psychotropes réelles chez l'animal, qui justifiaient leur utilisation pour ces pratiques, puis dans un deuxième temps d'étudier de manière approfondie le profil pharmacologique de l'espèce qui présenterait les résultats pharmacologiques les plus intéressants.

On appelle psychotropes les médicaments -et les drogues- exerçant leurs effets sur l'état mental ou sur les troubles psychiques, sans préjugés de la nature de ces effets (FABRE, 1975).

En utilisant la classification de J. DELAY, on distingue trois grands groupes de psychotropes :

- les psychoanaleptiques à action stimulante
- les psycholeptiques à action surtout sédative
- les psychodysleptiques perturbateurs de l'activité mentale (hallucinogènes, stupéfiants, alcools et dérivés)

Parmi les psychoanaleptiques on trouve :

- les stimulants de la vigilance (caféine, amphétamines,...)
- les antidépresseurs stimulants de l'humeur (imipramine et dérivés tricycliques, hydrazines, IMAO)
- les autres stimulants (phosphoriques, acide ascorbique, cortisone,...)

Parmi les psycholeptiques on trouve :

- les hypnotiques (barbituriques et non barbituriques)
- les tranquillisants (benzodiazépines,...)
- les sédatifs (bromures, hydantoïnes,...)
- les neuroleptiques (réserpine, butyrophènes, benzamides, phénothiazines,...)
- les régulateurs de l'humeur (sels de lithium)

Serait-il possible de détecter pour cette plante, des effets caractéristiques de tel ou tel groupe de psychotropes ? En effet, entrent très certainement dans la composition de ces breuvages induisant les transes non seulement des plantes favorisant l'entrée en transe, et donc plutôt stimulantes, mais aussi des plantes modérant les effets des plantes stimulantes, ces dernières étant donc plutôt à orientation psycholeptique.

A partir d'une sélection de 4 plantes africaines, nous avons effectué un tri pharmacologique. Ces plantes étaient les suivantes :

- Amaranthus caudatus (Amarantacées)
- Chlorophora excelsa (Moracées)
- Kalanchoe crenata (Crassulacées)
- Xanthoxylum xanthoxyloïdes (Rutacées)

Le test pharmacologique que nous avons choisi pour effectuer ce premier tri est la recherche d'une interaction avec hypnotique (SIMON, 1982 ; SIMON, 1985). C'est un test couramment utilisé lors d'un screening pharmacologique.

Nous avons donc effectué ce test pour les extraits obtenus à partir des 4 plantes.

## 1.2.2 Test d'induction du sommeil après administration d'un hypnotique

### 1.2.2.1 Préparation des extraits

Des feuilles des 4 plantes (Amaranthus caudatus, Chlorophora excelsa, Kalanchoe crenata et Xanthoxylum xanthoxyloïdes) ont été récoltées en Côte d'Ivoire en août 1983 par Monsieur Garnier .

On réalise des extraits aqueux de feuilles des 4 plantes, selon les techniques utilisées dans la tradition.

Les feuilles séchées sont broyées puis on effectue une infusion de 30g de plante dans 200 ml d'eau distillée, suivie d'une macération pendant 24h à 44° C.

Après filtration sur Büchner le filtrat obtenu est lyophilisé.

**Rendements moyens :**

- **Amaranthus caudatus** : 16 % soit 4,7g de lyophilisat pour 30g de plante sèche
  
- **Chlorophora excelsa** : 14 % soit 4,1g de lyophilisat pour 30g de plante sèche
  
- **Kalanchoe crenata** : 25 % soit 7,5g de lyophilisat pour 30g de plante sèche
  
- **Xanthoxylum xanthoxyloides** : 8 % soit 2,4g de lyophilisat pour 30g de plante sèche

Les lyophilisats sont dissous dans NaCl 0,9 % à raison de 1 ml/100g de masse corporelle pour les injections intra péritonéales (IP).

#### 1.2.2.2 L'hypnotique choisi

Les hypnotiques exercent un effet dépresseur général (sédation, sommeil). L'induction du sommeil apparaît plus comme une étape de la dépression du système nerveux central, plutôt que comme un effet spécifique (SIMON et coll., 1983).

Le début du XX<sup>e</sup> siècle vit l'avènement des barbituriques à action de longue durée puis, après 1935, ceux de courte durée. Dans la seconde moitié du siècle, de nouvelles substances furent utilisées : **Phénothiazines, Quinazolines, Carbamates** et enfin, **Benzodiazépines.**

Certaines substances ont une action spécifique sur l'induction du sommeil : **Tryptophane, 5 Hydrotryptophane, des Peptides.**

- Barbituriques : ce sont des uréides bisubstitués à chaîne fermée dont le noyau de base est la malonylurée ou acide barbiturique (découvert en 1864 par A VON BAEYER), qui n'a pas elle même de propriétés hypnotiques. Ils diminuent la durée du sommeil paradoxal et les stades de sommeil lent profond (III et IV).

	R 1	R 2
Barbital	Ethyl	Ethyl
Pentobarbital	Ethyl	Méthyl 1 Butyl

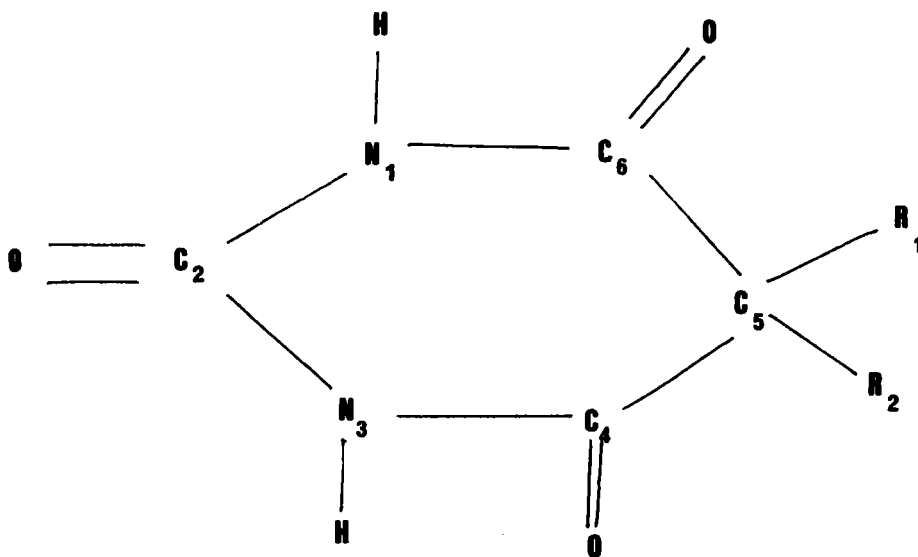
- l'allongement de la chaîne de R 1 ou R 2 diminue la durée du sommeil sans diminuer son intensité : il y a alors augmentation de la solubilité du barbiturique dans les lipides.
- l'insaturation de R 1 ou R 2 réduit la phase d'endormissement et la durée du sommeil.
- un radical aromatique en R 1 ou R 2, modifie peu l'action hypnotique mais accroît l'activité anticonvulsivante (ex : phénobarbital).

Il semble que la membrane neuronale puisse différencier les structures, il y aurait interaction entre des sites spécifiques (ROTH et coll., 1983).

C'est le pentobarbital qui est le plus couramment utilisé dans la littérature pour ce type de test pharmacologique (SIMON, 1982, 1985).

Le pentobarbital a un temps de latence de 30 mn, et son action persiste 2 à 8 heures.

Il existe sous 2 formes énantiomorphes. L'énantiomère  $S(-)$  est beaucoup plus actif que le  $R(+)$  (ED 50 anesthésique doublé, temps de sommeil réduit au quart). Mais  $S(-)$  est beaucoup plus vite réduit, et légèrement moins bien absorbé par le cerveau.



Donc les différences structurales ont une influence sur les activités des barbituriques. (ANDREWS et coll., 1982)

**Mode d'action :**

- le pentobarbital augmente la quantité d'acétylcholine dans tout le cerveau et surtout dans l'hypocampe et le cortex cérébral. (NORBERG et coll., 1976)
- le pentobarbital diminue le turn-over de la noradrénaline et de la sérotonine et augmente celui de la dopamine (OKAMOTO, 1978).
- l'affinité des barbituriques pour les liaisons hydrogènes permet de suggérer qu'ils seraient actifs en se liant et en inactivant des molécules contenant de l'adénine ( AMP et ATP) (DAVES et coll., 1975) ou encore la phosphatidylcholine, lipide membranaire (NOVAK et coll., 1972). Ceci nécessite une substitution lipophile en C5 du cycle pyrimidique.
- la liposolubilité des barbituriques est aussi déterminante pour leur efficacité à pénétrer dans les membranes. Ils peuvent faciliter la fluidification des membranes synaptiques (LEE, 1976 ; HARRIS et coll., 1980).
- les barbituriques diminuent le transport et la fixation du calcium aux lipides membranaires (HO et coll., 1981).

### 1.2.2.3 Mise en place du protocole expérimental

Divers facteurs externes peuvent modifier les résultats du test d'interaction vis-à-vis du sommeil barbiturique.

Les rythmes circadiens ont une importance réelle :

- on a montré que la durée de l'anesthésie par pentobarbital est allongée chez des rats exposés à 12 heures de jour et 12 heures d'obscurité (SCHEVING et coll., 1968).
- inversement, pendant la période d'obscurité le temps d'endormissement est augmenté et le temps de sommeil barbiturique diminue chez le rat (DAVIS, 1962 ; VESSEL et Coll., 1968 ; FRIEDMAN et WALKER, 1969).
- les mêmes observations sont réalisées chez la souris (FORGER et coll., 1983).
- les températures corporelles plus faibles pendant le jour pourraient expliquer l'allongement du temps de sommeil barbiturique en période diurne (FUHRMAN, 1947). Pourtant, les temps de sommeil les plus longs apparaissent au début de la phase obscure, quand la température corporelle est assez élevée chez le rat (SCHEVING et Coll., 1968). En fait, la température corporelle peut n'être qu'un des facteurs intervenant dans la durée du sommeil. En effet, on constate que chez le rat, la noradrénaline et l'histamine sont à leur taux maximal, et la 5 hydroxytryptamine est à son taux minimal pendant la période obscure et inversement en période diurne. Le pentobarbital accentue ces différences (FRIEDMAN et WALKER, 1968, 1969 ; KEMPF et Coll., 1982).

Le taux des catécholamines régule en fait les périodes veille-sommeil de l'animal de telle sorte que les rongeurs comme la souris présentent une activité <sup>locomotrice</sup> maximale en phase nocturne et minimale en phase diurne, d'où des effets différents des barbituriques selon qu'ils sont administrés en phase diurne ou nocturne, comme on l'a vu précédemment.

De plus, la modification du rythme circadien lors de l'arrivage de nouveaux animaux peut perturber divers mécanismes homéostatiques et en particulier l'adaptation aux changements dans l'environnement de l'animal. (Ce qui sera le cas dans les tests)

Ce n'est pas nécessairement le manque d'habitude aux changements qui est gênant, mais l'écartement d'un rythme de 24 heures (FORGER et Coll., 1983). Il apparaît donc que la prise en compte de la chronobiologie est essentielle dans ces expériences.

Ainsi, le test de pentobarbital a été mis au point dans notre laboratoire (ROLLAND, 1985) et les divers paramètres influant sur les résultats de ce test ont été étudiés, entre autre la période de la journée durant laquelle les tests sont effectués.

Il a été établi que les tests comportementaux devront avoir lieu toujours durant la même période du cycle nyctéméral (période d'obscurité) sur des animaux homogènes du point de vue de l'âge, du poids et du sexe.

Pour étudier l'interaction entre les extraits végétaux et le barbiturique, nous choisirons pour ce dernier une dose infra hypnotique et nous vérifierons si l'extrait végétal induit le sommeil et donc potentialise l'effet du barbiturique.

#### 1.2.2.4 Protocole expérimental

8 lots de 10 souris (laboratoires Césal, Montmédy) reçoivent par voie IP (1 ml par 100g de masse corporelle) des doses des 4 extraits végétaux de 400 et 800 mg/kg, 30 minutes avant l'injection de pentobarbital sodique 25 mg/kg (1 ml par 100g de masse corporelle), (nembutal<sup>R</sup>, Abbot), (préparation des extraits de plantes : voir 1.2.2.1) par voie IP à la dose de 25 mg/kg dissous dans l'eau distillée. Cette dose est considérée comme infra hypnotique, dans la mesure où elle n'induit pas d'hypnose significative chez la souris.

Un lot de 10 souris reçoit une solution de NaCl 0,9 % dans les mêmes conditions, avant le pentobarbital.

On mesure alors le nombre de souris endormies ainsi que le temps d'endormissement et le temps de sommeil de chaque animal.

Le sommeil est considéré comme effectif quand les souris acceptent la position en décubitus latéral.

#### 1.2.2.4 Analyses statistiques

Les pourcentages d'endormissement de chaque lot sont comparés au lot témoin par le test du  $\chi^2$  modifié.

Après vérification de l'homogénéité des variances à l'aide du test de BARTLETT, les valeurs moyennes des temps d'endormissement et de sommeil de chaque lot sont comparées à celles du lot témoin.

### 1.2.3 Résultats

Les résultats sont présentés dans le tableau 1.

TABLEAU 1

Effets des 4 extraits végétaux dans l'interaction  
avec le pentobarbital utilisé à dose infra-hypnotique  
(25 mg/kg)

DOSES PLANTES	400 mg/kg		800 mg/kg	
	Nb de souris par lot	% endormissement	Nb de souris par lot	% endormissement
<u>A . CAUDATUS</u>	10	20	10	90 ***
<u>C. EXCELSA</u>	10	50	10	50
<u>K. CRENATA</u>	10	40	10	80 ***
<u>X. XANTHOXYLOÏDES</u>	10	90 ***	10	100 ***
NaCl 0,9 ‰	10	10		

\*  $p < 0,05$

\*\*  $p < 0,01$

\*\*\*  $p < 0,005$

Le tableau 1 montre que les 3 extraits (A.caudatus, K.crenata, X.xanthoxyloïdes) induisent significativement le sommeil à la dose de 800 mg/kg (respectivement 90,80 et 100 % d'endormissement) mais seul X. Xanthoxyloïdes présente un effet significatif à 400 mg/kg, où 90 % des animaux traités se sont endormis ; dans le lot témoin seulement 10 % des animaux sont endormis.

**TABLEAU 2**  
**Effets des 4 extraits végétaux sur les temps d'endormissement**  
**et de sommeil des souris, après traitement au pentobarbital**  
**(25 mg/kg)**

Extraits végétaux	Témoin NaCl 0,9 ‰	<u>A.CAUDATUS</u>		<u>C.EXCELSA</u>		<u>K.CRENATA</u>		<u>X.XANTHOXYLOIDES</u>	
		400	800	400	800	400	800	400	800
Doses en mg/kg	/	400	800	400	800	400	800	400	800
Nombre d'animaux par lot	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Temps de sommeil (secondes)	103	200	1250	380	792	216	1134	590	1210
E.S	103	136	176	54	136	97	254	135	137
Variation par rap- port aux témoins (%)	/	+ 32	+1114 **	+ 269	+ 669 **	+ 110	+ 1000 **	+ 473	+ 1075 **
Temps d'endormis- sement (secondes)	48	103	344	356	311	226	325	464	384
E.S	48	69	47	48	52	93	60	60	18
Variation par rapport aux témoins (%)	/	+ 115	+ 617 **	+ 642 **	+ 548 **	+ 371 **	+ 577 **	+ 867 **	+ 700 **

\* p < 0,05

\*\* p < 0.01

Le tableau 2 permet de constater que les 4 extraits végétaux augmentent le temps de sommeil des souris, de façon très importante (jusqu'à +1114 %) aux doses de 800 mg/kg.

Les effets des doses 400 mg/kg sont moins puissants : seulement +32 % pour A.caudatus. C'est X.xanthoxyloïdes qui augmente le plus le temps de sommeil à 400mg/kg (+473 %).

On constate également un allongement des temps d'endormissement. On peut donc remarquer que, tant pour le pourcentage de souris endormies que pour le temps de sommeil c'est l'extrait de X.xanthoxyloïdes qui a les effets les plus marqués. Aussi, X.xanthoxyloïdes a été retenu pour les expérimentations ultérieures.

## **II. ETUDE BOTANIQUE.**

## II ETUDE BOTANIQUE

### 2.1 Position systématique des Rutaceae parmi les Sapindales

(CRONQUIST, 1970)

- 1- Souvent plus de 2 ovules par locule ou carpelle ; endosperme développé ; ovules apotropes ; souvent fleurs complètes.
- 2- Feuilles stipulées, principalement composées pennées, fleurs haplostémones, de 2 à 4 carpelles et placentation axile.
- 3- Feuilles principalement opposées ; disque annulaire, intrastaminal, ou étamines insérées sur le disque ; fleur régulière ; 2 à 3 ou rarement 4 carpelles ; pollen binucléaire  
 ..... 1- Staphyleaceae
- 3- Feuilles alternes, disque unilatéral, extrastaminal, fleurs irrégulières ; souvent 4 carpelles, pollen trinucléaire  
 ..... 2- Melanthaceae
- 2- Feuilles exstipulées, simples, alternes, fleurs diplostémones, avec principalement 5 carpelles, la placentation pariétale, disque annulaire, extrastaminal ..... 3- Greyiaceae

1- Rarement plus de 2 ovules par carpelle ou locule ; la plupart des familles dépourvues d'endosperme ou l'endosperme est peu abondant ; ovules variés : apotrope ou épitrope ; fleurs complètes ou unisexuées.

4- Fleurs strictement apocarpes.

5- Style terminal ; fruit déhiscent ; graines arillées ; feuilles souvent composées ..... 4- Connaraceae

5- Style basal ; fruit indéhiscent ; graines exarillées ; feuilles simples ..... 5- Stylobasiaceae

4- Fleurs souvent plus ou moins syncarpes (quelques exceptions chez les Simaroubaceae).

6- Principalement disque extrastaminal (et fréquemment unilatéral) ou dépourvu de disque (intrastaminal chez quelques Aceraceae) ; ovules apotropes à l'exception des Akaniaceae ; fleurs plus souvent irrégulières.

7- Feuilles principalement alternes ; typiquement 8 étamines (5 en trop).

8- Graine avec endosperme et dépourvue d'aril ; rayons médullaires très vastes ; dépourvu de disque ; ovules épitropes, 2 dans chaque locule .....

..... 6- Akaniaceae

8- Graines dépourvues d'endosperme et plus souvent avec un aril ; rayons médullaires étroits ; disque présent, souvent unilatéral ; ovules apotropes, 1 ou souvent 2 par locule .....

..... 7- Sapindaceae

7- Feuilles opposées.

9- Feuilles composées palmées, fruit tricarPELLAIRE ; usuellement capsule à 1 graine ; fleurs irrégulières ; de 5 à 8 étamines .....

..... 8- Hippocastanaceae

9- Feuilles simples palmatilobées ou composées pennées ; fruit bicarpellaire ; samare à 2 graines ; fleurs régulières ; de 4 à 10 étamines, plus souvent 8.....

..... 9- Aceraceae

6- Disque intrastaminal, annulaire ou souvent développé dans un gynophore (absent chez les Julianaceae) ; ovules épitropes à l'exception de Anacardiaceae et Julianaceae

10- Ecorce et bois avec structure marquante, de canaux sécréteurs de résine.

11- Ovaire 2 à 5 cellulaire, avec 2 (rarement 1) ovules épitropes par locule .....  
 ..... 10- Burceraceae

11- Ovaire unicellulaire avec 1 seul ovule apotrope.

12- Fleurs développées normalement, complètes ou quelquefois unisexuées, avec un périanthe évident, disque intrastaminal présent .....  
 ..... 11- Anacardiaceae

12- Fleurs réduites, unisexuées, celles qui sont pistillées dépourvues de périanthe ; disque absent .....  
 ..... 12- Julianaceae

10- Ecorce et bois sans structure de canaux sécréteurs de résine.

13- Feuilles principalement exstipulées, si existantes, sont petites devenant très vite caduques ; feuilles particulièrement alternes.

14- Etamines souvent libres.

15- Feuilles sans punctuations glandulaires.

16- Graines dépourvues d'endosperme, feuilles souvent composées, rarement simples ; écorce de gout amer ; style souvent séparé ; fleurs souvent pentamères ; pollen binucléaire .....  
 ..... 13- Simaroubaceae

16- Graines ayant endosperme ; feuilles simples ; écorce pas amère ; style unifié ; fleurs trimères ou rarement tétramères ; pollen trinuélaire .....  
 ..... 14- Cneoraceae

15- Feuilles souvent avec punctuations glandulaires ....  
 ..... 15- Rutaceae

14- Etamines souvent attachées par leurs filaments .....  
 ..... 16- Meliaceae

- 13- Feuilles développées, persistantes stipulées, souvent opposées ; graines souvent endospermées .....
- ..... 17- Zygophyllaceae

**2.2 Position systématique du genre *Xanthoxylum* Gmelin = *Fagara* L. dans la famille des Rutacées**

(HUTCHINSON et coll., 1958 ; FOURNIER, 1961 .)

Cette famille rassemble des plantes à tiges herbacées ou des arbres. Les feuilles sont simples ou composées, souvent portant des glandes, non stipulées. Fleurs hermaphrodites ou unisexuées, actinomorphes. 4 à 5 sépales, imbriqués, libres ou attachés, les pétales sont imbriqués, rarement de position valvaire, souvent libres. Le nombre d'étamines est égal ou le double du nombre des pétales ; rarement inégales, elles sont libres, rarement attachées ; anthères bicellulaires, introrses, s'ouvrant longitudinalement. Disque souvent présent avec les étamines. Ovaire supère, syncarpe et souvent 4 à 5 cellulaire ou carpelles libres (apocarpe secondaire) ; style libre ou attaché. Souvent 2 ovules superposés. Fruit: baie, drupe, rarement une capsule. Graine avec ou sans endosperme.

Dans la famille des Rutacées, suivant les caractères morphologiques des fruits et des feuilles, on distingue plusieurs genres, mais pour mieux situer le genre *Fagara* L = ~~*Xanthoxylum*~~ *Gmelin* nous avons préféré la classification proposée par HUTCHINSON et Coll. (1958) où ils distinguent 9 genres dans cette famille:

- Fruit constitué de 1 à 5 carpelles libres, déhiscent dont chacun contient une graine luisante noire ou bleuâtre ; souvent constitué d'une tige avec beaucoup de branches ; feuilles et inflorescence couvertes par des épines ; feuilles imparipennées souvent avec de nombreuses folioles ; fleurs unisexuées .....  
 ..... 1- Fagara

- Fruit indéhiscent ; plantes non épineuses mais quelquefois avec épines axillaires ; feuilles simples, de 1 à 3 folioles, digitées ou imparipennées:

- Feuilles imparipennées avec de nombreuses folioles alternes ; branchioles dépourvues d'épines, fleurs bisexuées ; fruit charnu, 1 graine ..... 2- Clausena

- Feuilles simples, 1-3 folioles, digitées ou imparipennées avec 3 paires de folioles opposées:

- Branches avec 1 ou plus rarement 2 épines axillaires ; feuilles simples, 1-3 folioles imparipennées ; fleurs bisexuées:

- Fruits durs casqués, 5-10 cm de diamètre ; ovules et graines nombreux, styles courts:
  - 15-20 étamines ; disque légèrement lobé ; ovaire 8 cellulaire ; feuilles normalement composées de 3 folioles .....3- Afragale
  - 8-10 étamines ; disque légèrement lobé ; ovaire 8 cellulaire ; feuilles normalement composées de 3 folioles .....4- Aeglopsis
  - Fruits moëlleux ; jusqu'à 3 cm de diamètre ; ovaire (3-) 4 à 5 cellulaire ; ovules solitaires dans chaque cellule ; style plus long que l'ovaire ; 8-10 étamines ; feuilles simples, 1-3 folioles ou imparipennées avec plus de 3 paires de folioles opposées ; pétioles souvent ailés ..... 5- Citropsis
- Branches sans épines ; feuilles digitées (2-) 3-5 foliolées ; fleurs souvent unisexuées:
  - Ovaire à 4 loges ; fruit à 4 loges, 2 graines par loge. 8 étamines ou staminodes ; feuilles à 3-5 folioles ..... 6- Araliopsis

- Ovaire à 1-2 loges ou composé de plus de 4 carpelles qui sont séparés dans le fruit ; 1 graine par fruit ; 4-5 étamines ou staminodes ; feuilles(1-) 3 (-5) foliolées:
  - 2-4 carpelles plus ou moins libres ; qui deviennent libres dans le fruit, ou 1-3 car avortement évident .....  
..... 7- Oricia
- Carpelles solitaires ou 2 carpelles unifiés non séparés dans le fruit:
  - Ovaire et fruit à 2 loges: .....  
.....8- Diphasia
  - Ovaire et fruit uniloculaires.....  
.....9- Teclea

## 2.3 Fagara zanthoxyloïdes Lam.

### 2.3.1 Position systématique

(HUTCHINSON et coll., 1958.)

F.Zanthoxyloïdes Lam. = Z.senegalense DC. = Z.zanthoxyloïdes Waterm.

= F.senegalensis DC. A. Chev.

= Z.polygamum Schum. = X.xanthoxyloïdes Waterm.

Plante herbacée glabre ou arbuste ayant jusqu'à 40 pieds de hauteur, avec feuilles molles et aromatiques ; fleurs crème-blanc ; abondante sur les côtes.

F.pubescens A. Chev. = Z.melanacanthum Chev.

Arbre ou petit arbuste, de 6 à 20 pieds de haut ; branches tomenteuses armées d'épines dures ; fleurs blanches, fruit rouge.

F.viridis A. Chev. = F.attiensis Hutch et Dalz.

Petit arbuste ou arbre de 6 à 12 pieds de haut, pubescent, branches épineuses, fleurs verdâtres-blanches sous forme de grandes panicules terminales.

F.buesgenii Engl. = F.viridis F.W.T.A.

Plante de régions forestières.

F.macrophylla Engl.

Plante forestière, de 30 à 40 pieds de hauteur, rarement au delà de 120 pieds ; grandes branches couvertes par de grandes épines, feuilles très larges.

F.melanorachis Hoyle

Arbre forestier similaire au précédent.

F.rubescens (Planch. ex Hook. f.) Engl.

= Z.rubescens Planch. ex Hook. f.

= Z.melanacanthum Planch. ex Oliv.

= F.melanacantha (Planch. ex Oliv.) Engl.

= F.welwischii Engl.

= F.afzelii Engl.

= F.altissima Engl.

= F.bonetensis Pierre ex Engl.

= F.attiensis Hutch et Dalz.

= Z.attienne A. Chev.

Arbre forestier de 30 pieds de haut, armé d'épines noires ; fleurs verdâtres ou blanchâtres, nombreuses sous forme de larges panicules.

F.parvifoliola A. Chev. ex Keay

= Z.parvifolium A. Chev.

= F.leprieurii F.W.T.A.

Arbuste forestier de 7 pieds, dépourvu d'épines mais les jeunes pousses possèdent des épines.

F.lemairei De Wild = F.unwinii Hutch et Dalz.

Arbre forestier, plus de 80 pieds de haut et 6 pieds de diamètre ; tronc épineux.

F.leprieurii (Guill. et Perr.) Engl.

= Z.leprieurii Guill. et Perr.

= F.angolensis Engl.

= F.polycantha Engl.

= Z.nitens Hiern.

= F.attiensis Hutch et Dalz.

Arbuste forestier, de 15 à 80 pieds de haut, branches couvertes de grandes et larges épines pointues ; fleurs blanches.

Z.crenatum A. Chev. = F.angolensis

C'est une forme de F.leprieurii.

F.dinklagei Engl. = F.klanei Pierre ex De Wild. = F.poggei Engl.

Liane forestière avec nombreuses épines.

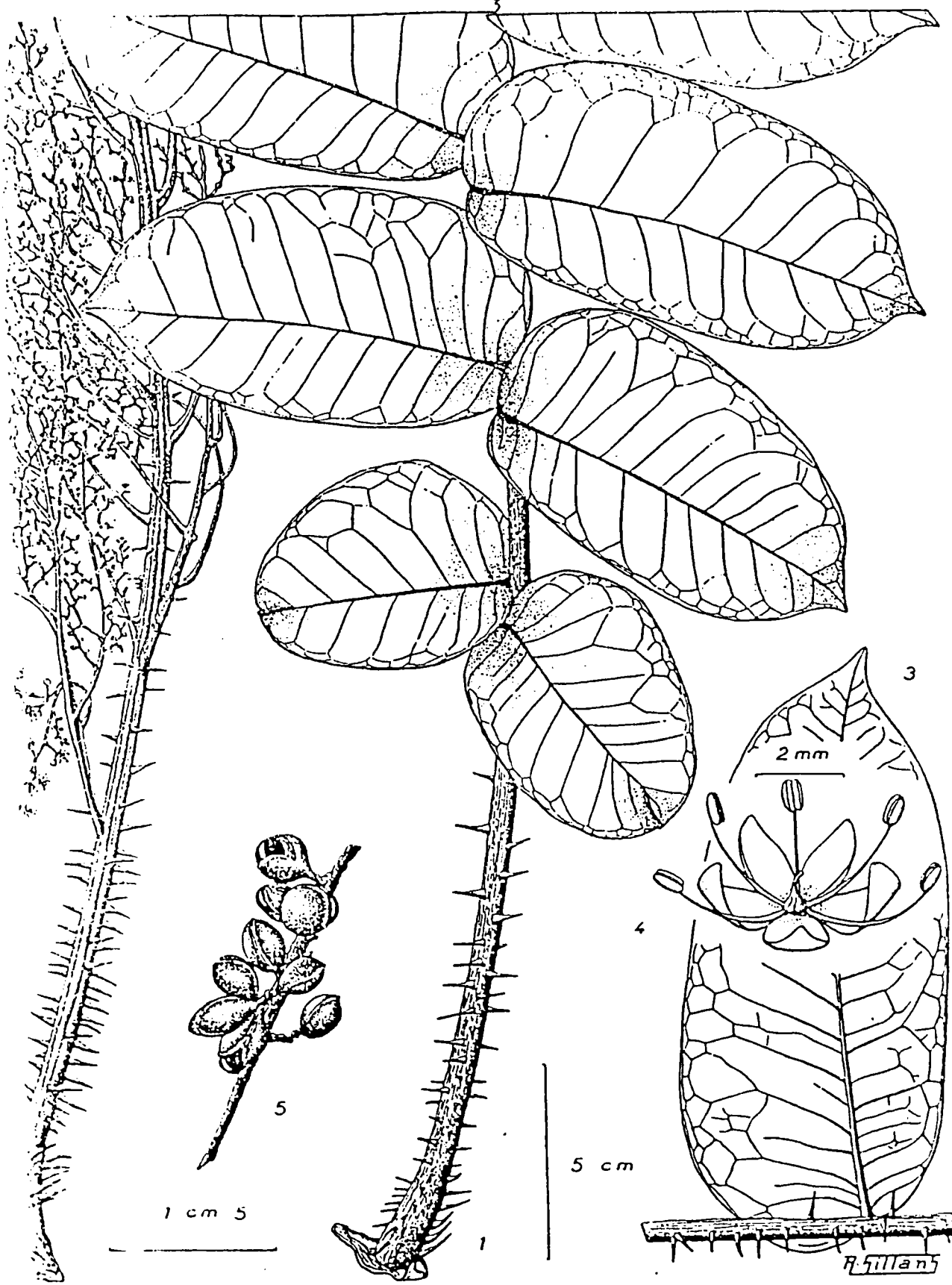


Fig : 1 *Eugenia macrophylla* Engler : 1. Rameau stérile (échelle commune avec 2 et 3). — 2. Rameau florifère (fleurs mâles). — 3. Feuille vue en dessous montrant les nervures et la disposition des épines sur le rachis. — 4. Fleur mâle. — 5. Partie terminale d'un axe secondaire de rameau fructifère.

### 2.3.2 Description botanique du genre Xanthoxylum = Fagara

Le genre Xanthoxylum compte de nombreux représentants dans les régions tropicales, et quelques espèces dans les zones tempérées de l'Extrême-Orient et en Amérique du Nord.

On compte actuellement 250 espèces de Xanthoxylum, dont plus de 80 en Afrique. On trouve ainsi :

- des espèces africaines (Afrique de l'ouest essentiellement) ;
- des espèces indiennes et chinoises ;
- des espèces japonaises ;
- des espèces australiennes et de Nouvelle Guinée ;
- des espèces d'Hawaï ;
- des espèces américaines (d'Amérique du nord, mais aussi du Vénézuéla et d'Argentine : 8 espèces dont la Fagara coco).

Ces plantes sont des arbres ou des arbustes. Les feuilles sont simples, trifoliées ou pennées, à disposition alterne. Les tiges et feuilles portent des épines. Les inflorescences sont constituées de petites fleurs à pétiole court, ou sessiles, groupées en panicules, pseudo-grappes ou vraies grappes (PARIS, 1947 ; PALMER, 1956).

Les fleurs du genre Xanthoxylum sont hermaphrodites ou unisexuées, formées de :

- 3 à 5 sépales de petite taille, imbriqués dans le bourgeon , peu soudés, généralement persistants ;
- 3 à 5 pétales allongés, à préfloraison imbriquée ou valvée.

La fleur mâle est constituée de :

- 3 à 5 étamines, opposées aux sépales de forme effilée en pointe ou ovoïdes ;
- 1 à 5 carpelles rudimentaires séparés ou unis par le style.

La fleur femelle est caractérisée par :

- l'absence ou la présence de staminodes écailleux ;
- 1 à 5 carpelles comportant le plus souvent 2 placentas accolés ou complètement séparés ;
- un style un peu incliné, libre ou soudé vers le haut ;
- un stigmate assez épais, libre ou formant une tête à 2 ou 5 lobes.

Le fruit est constitué de :

- 1 à 5 carpelles généralement séparés ;
  - c'est un fruit sec ou une drupe, de forme sphérique ou ovoïde et allongé, à 2 placentas avec un endocarpe persistant ou se résorbant.
- Il ne renferme qu'une seule graine (rarement deux) presque sphérique ou allongée, entourée d'un tégument très épais, noir ou bleu-noir brillant. C'est une graine albuminée à embryon droit ou tordu, présentant des cotylédons plats, presque en croix.

### 2.3.3 Xanthoxylum xanthoxyloides

#### 2.3.3.1 Chorologie

Il s'agit d'un petit arbre, haut de 5 à 15 m, qui pousse en forêt dense humide mais également dans des régions nettement sèches (LETOUZEY, 1972). On le rencontre particulièrement dans certains terrains secs de la zone des savanes, dans les forêts-galeries et même dans les steppes côtières sahéliennes du Sénégal et les fourrés littoraux de l'Afrique occidentale. Il s'étend jusqu'aux lisières septentrionales de la forêt dense et pénètre dans les boqueteaux de forêt semi-décidue en terrain très sec (TROCHAIN, 1940).

Cet arbre est commun au Sénégal, en Guinée, au Mali, en Côte d'Ivoire, au Ghana, au Togo, au Bénin, au Nigéria et au Congo. Très fréquent dans les taillis de la Casamane maritime, il suit les secteurs côtiers dans les sols frais, jusqu'aux environs de Dakar (KERHARO, 1971).

### 2.3.3.2 Description botanique

C'est un arbre ou arbuste sarmenteux de 5 à 15 m de hauteur, à fût souvent bas-branchu et à cime plutôt en boule. Le tronc, les branches, les rameaux et la nervure médiane des folioles portent de grosses épines côniques, recourbées et acérées en forme de griffe, atteignant jusqu'à 1 cm de longueur, de teinte brune avec socle plus clair.

- Les feuilles à disposition alterne sont composées imparipennées, elles ont un pétiole de 2 à 5 cm et 1 rachis plus ou moins cylindrique ou aplati et canaliculé. Elles comportent 5 à 9 folioles opposées, subopposées ou alternes, oblongues-elliptiques, oblongues ou oblongues-lancéolées. Elles font 5 à 10 cm de long et 2 à 4 cm de large, sont plus ou moins cunéiformes à la base, sur un pétiolule de 2 mm, articulé inférieurement. Le sommet du limbe est très nettement arrondi, émarginé ou garni d'un large mucron triangulaire. Ce limbe est finement crénelé sur les bords, entier ou a une marge rebordée au dessous. Les folioles sont coriaces, leur nervure médiane est déprimée au dessus, fortement saillante au dessous, avec des nervures secondaires et des nervilles très peu visibles (photographie 1).

PHOTOGRAPHIE 2 . FEUILLES ET FLEURS DE X.XANTHOXYLOIDES .



PHOTOGRAPHIE 1 . DETAIL DES FEUILLES DE X.XANTHOXYLOIDES .



- Les fleurs sont groupées en panicules plus courtes que les feuilles, lâches, terminales ou axillaires. Ces inflorescences sont densément fleuries, avec des jeunes axes pubérulents à pubescents. Les fleurs sont garnies de petites bractéoles triangulaires à la base. Elles sont de petite taille, unisexuées par avortement, pentamères. Leur calice possède 5 petits lobes triangulaires souvent brièvement fimbriés sur leur bord. Les fleurs sont agréablement parfumées, possèdent 4 à 5 pétales libres et blanc-crème.

Les fleurs mâles ont 5 étamines et un pistil rudimentaire fusiforme subulé sur un disque central épais, ventru et pentalobé.

Les fleurs femelles ont un disque cylindrique peu élevé supportant un carpelle globuleux d'environ 0,8 mm de diamètre, avec un style latéral courbé et un stigmate capité (photographie 2).

- La fructification se présente sous la forme de panicules de petites capsules globuleuses et glandulaires de la taille d'un pois (5 à 6 mm de diamètre). L'ouverture est assurée par 2 valves. Chaque fruit ne contient qu'une seule graine, bleu très foncé et brillante. L'embryon a des cotylédons ovales et aplatis.

- Les tiges sont cylindriques, et ont 3 à 5 cm de diamètre. L'écorce de 2 à 3 mm d'épaisseur est lisse, brun violacé. Le bois est très dur et de belle couleur jaune clair caractéristique, avec des reflets moirés. La saveur de l'écorce est amère, la mastication provoque un picotement de la langue et une augmentation de la salivation.

- Les racines, de 2 à 4 cm de diamètre, ont un bois jaune. L'écorce, brun clair, est peu épaisse (1 à 2 mm) et parsemée de taches jaune vif. La saveur de l'écorce est plus soutenue que celle de l'écorce de tige ; elle est aromatique, puis amère et poivrée. La mastication entraîne un engourdissement de la langue. De plus, l'écorce est aussi nettement sialagogue (photographie 3).

Feuillage et écorces dégagent une odeur très aromatique, poivrée citronnée (AUBREVILLE, 1959 ; TORTO et coll., 1966 ; KERHARO, 1971 ; ISHII et coll., 1982 ; ADJANOHOON et coll., 1979 à 1986).

#### 2.3.3.3 Etude anatomique

On réalise une étude histologique en effectuant des coupes transversales des parties aériennes de la plante sèche (tiges et feuilles). En effet, le diamètre et la dureté des racines récoltées n'ont pas permis la réalisation de coupes.

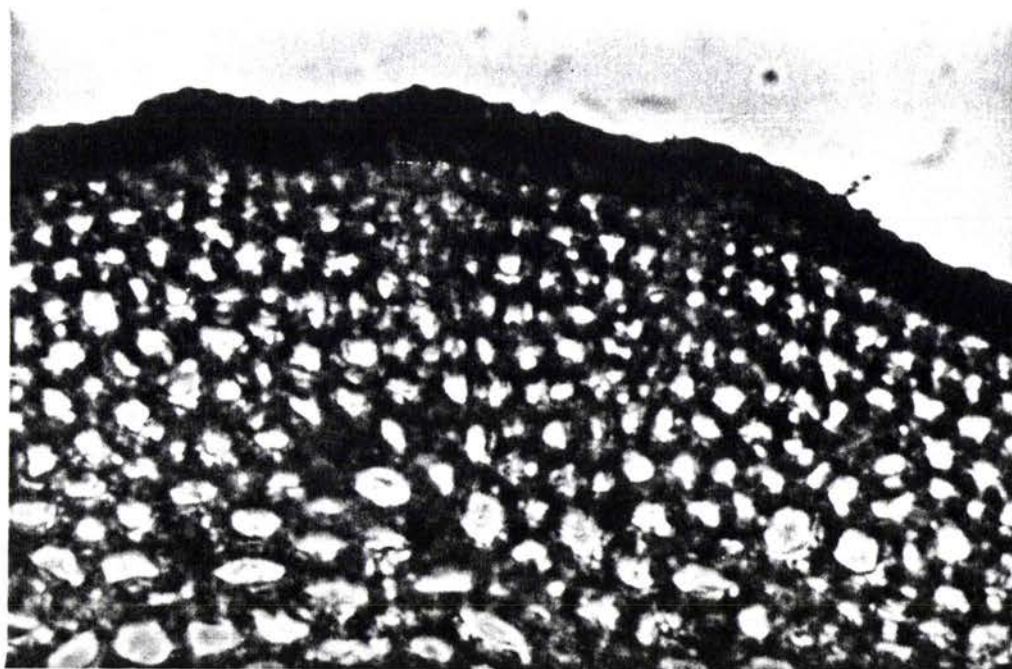
#### - Préparation de la plante

La plante sèche est préalablement immergée dans de l'éthanol à 60° pendant 12 heures.

PHOTOGRAPHIE 3 . RACINES DE X. XANTHOXYLOIDES .



PHOTOGRAPHIE 4 . PARENCHYME CORTICAL ET EPIDERME DE LA TIGE DE X. XANTHOXYLOIDES  
VUS AU MICROSCOPE (COUPE TRANSVERSALE) .



- Réalisation des coupes

On effectue des coupes transversales très fines à partir des différents fragments de la plante insérés dans la moelle de sureau. Ces coupes sont ensuite immergées dans de l'hypochlorite de sodium à 5 % pour éliminer les constituants intracellulaires, puis rincées à l'acide acétique à 3 % et à l'eau distillée.

- Coloration des coupes

Les coupes sont immergées dans du vert d'iode pendant 5 mn. Un rinçage à l'eau distillée est ensuite effectué. Elles sont alors colorées au carmin aluné (immersion pendant 3 mn), puis rincées à l'eau distillée et plongées successivement dans de l'éthanol à 70°, 96° et de l'éthanol absolu.

- Observation des coupes

Elle est effectuée au microscope. Les coupes sont présentées sur les photographies 4 à 7.

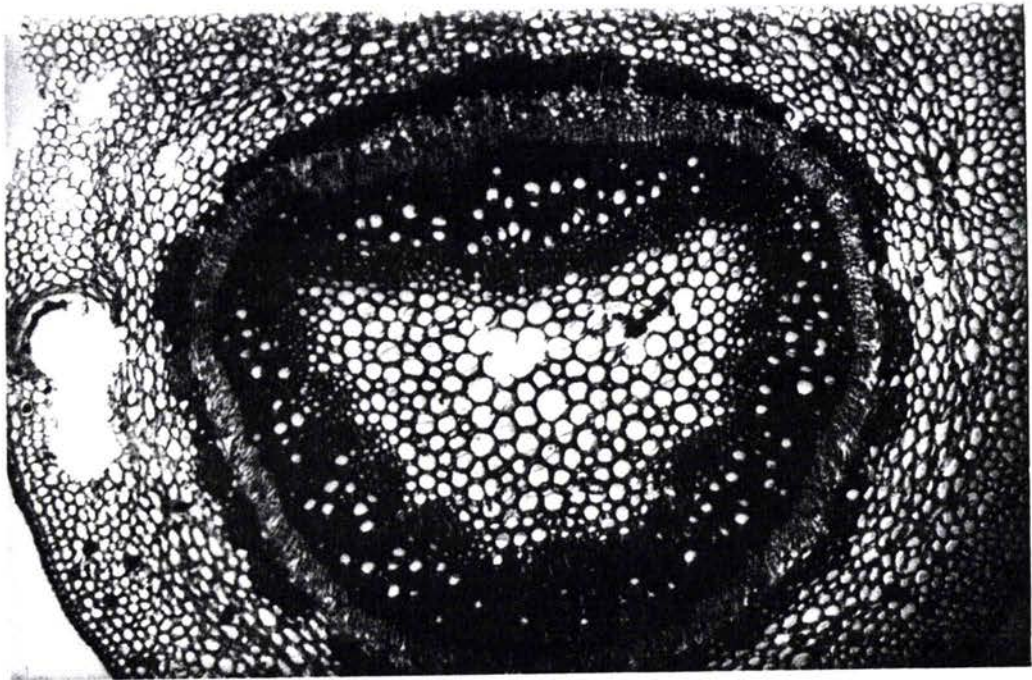
Tige : (photographie 4)

De l'extérieur vers l'intérieur, il existe :

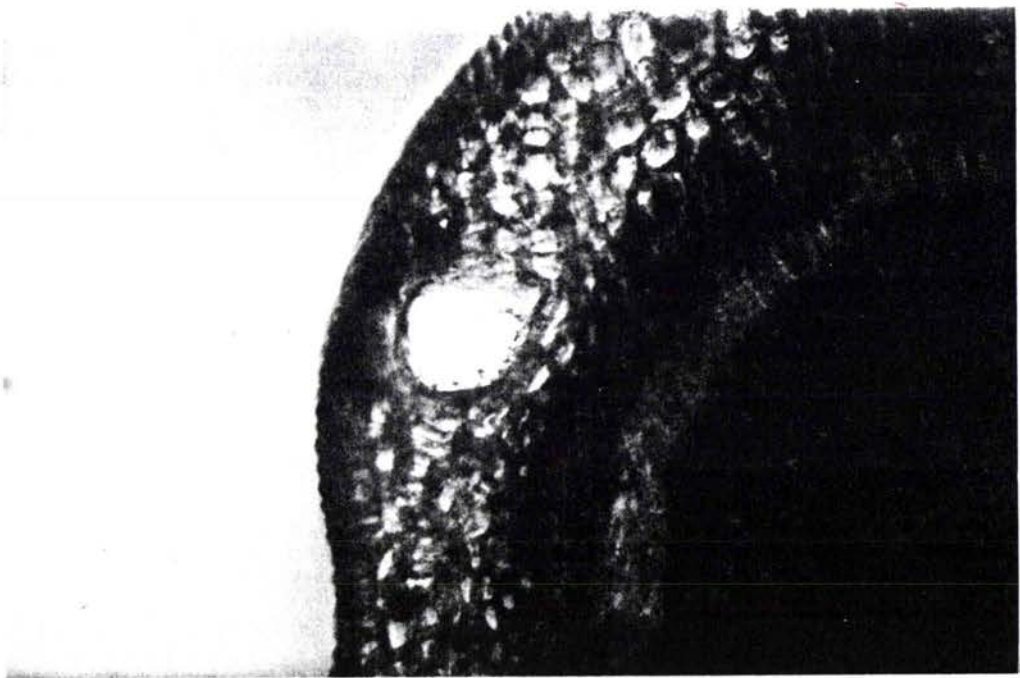
- \* un épiderme plus ou moins subérifié (photographie 5) ;
- \* une couche d'hypoderme ;
- \* quelques rangées de cellules collenchymateuses ;
- \* un parenchyme cortical avec des poches sécrétrices (photographie 6) ;
- \* des faisceaux libéro-ligneux entourés par des amas de cellules sclérifiées (sclérenchyme).

Donc dans l'ensemble, on a les caractéristiques d'une Dicotylédone.

PHOTOGRAPHIE 5 . COUPE TRANSVERSALE DE TIGE DE X. XANTHOXYLOIDES VUE AU MICROSCOPE .



PHOTOGRAPHIE 6 . DETAIL DE LA COUPE TRANSVERSALE DE TIGE DE X. XANTHOXYLOIDES VUE AU MICROSCOPE (POCHES SECRETRICES) .



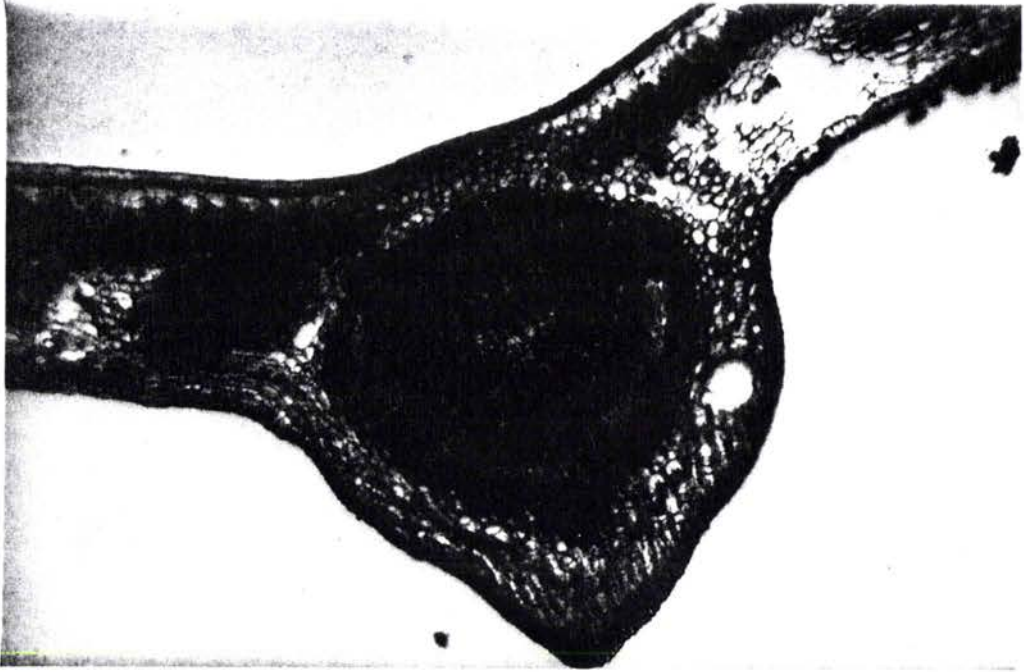
Feuille : (photographie 7)

De la face supérieure à la face inférieure, on observe :

- \* l'épiderme ;
- \* au niveau de la nervure centrale, quelques rangées de cellules collenchymateuses sur les 2 faces ;
- \* le faisceau libéro-ligneux entouré d'un péricycle sclérenchymateux ;
- \* sur le limbe 1 à 2 rangées de tissu palissadique sur la face supérieure ;
- \* des poches sécrétrices dans la couche de parenchyme cortical.

Ces feuilles sont glabres sur les 2 faces.

PHOTOGRAPHIE 7 . COUPE TRANSVERSALE DE FEUILLE DE X.XANTHOXYLOIDES  
VUE AU MICROSCOPE .



### **III. COMPOSITION CHIMIQUE.**

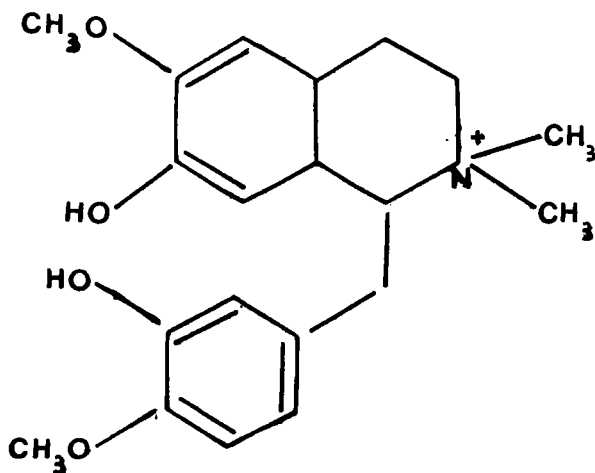
### III COMPOSITION CHIMIQUE

#### 3.1 Les alcaloïdes

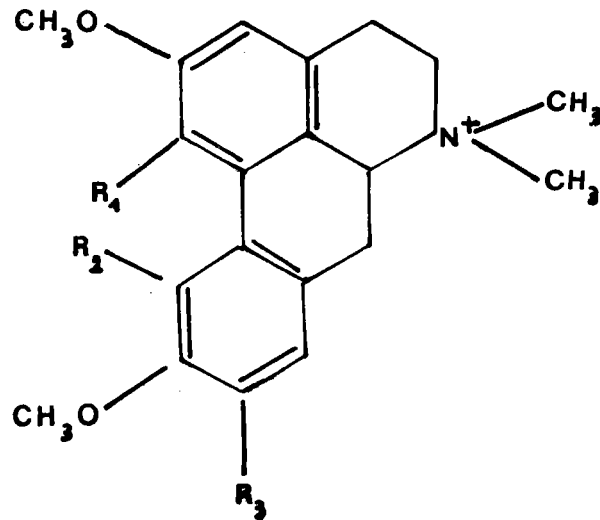
##### 3.1.1 Dérivés benzyltétrahydroisoquinoléiques

La tembétarine (BOWDEN et coll., 1963 ; ASSEM et Coll., 1983)

$C_{20}H_{26}NO_4^+$ , c'est une benzylisoquinoline présente dans l'écorce.



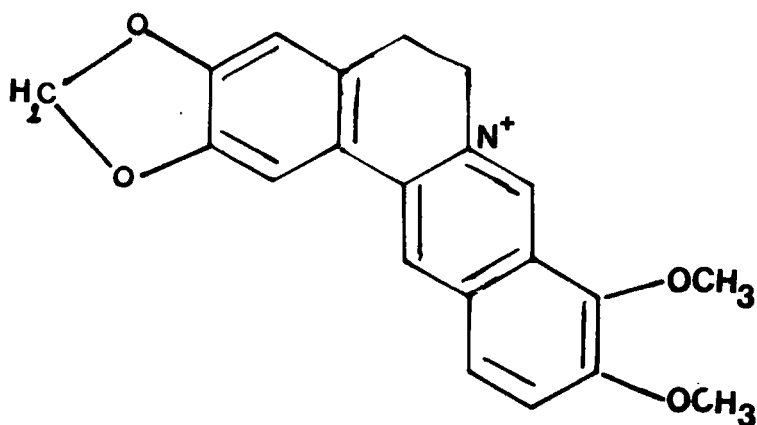
souvent un chlorure

3.1.2 Aporphines quaternaires

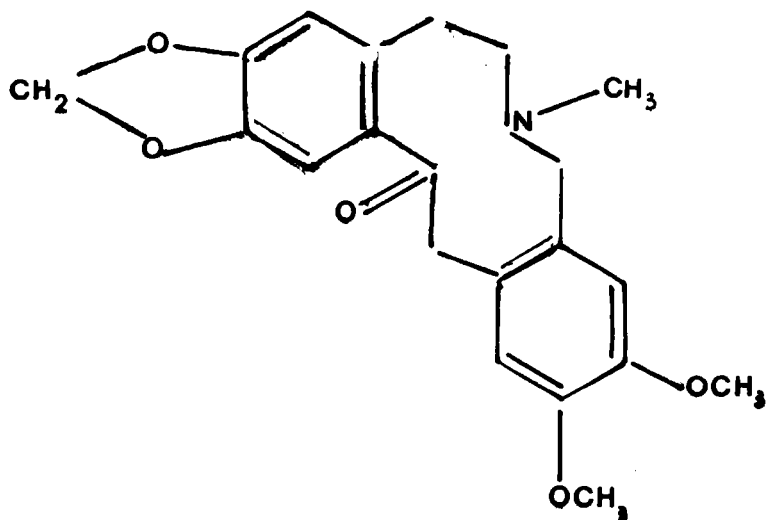
	Présent dans	R 1	R 2	R 3	Références Bibliographiques
Magnoflorine	Ecorce	OH	OH	H	FISH, 1972 ASSEM, 1983
N méthylcorydine	Ecorce	OH	CH <sub>3</sub> O	/	FISH, 1972
N méthylisocorydine	Ecorce	CH <sub>3</sub> O	OH	H	FISH, 1972

### 3.1.3 Dérivés de la protoberbérine

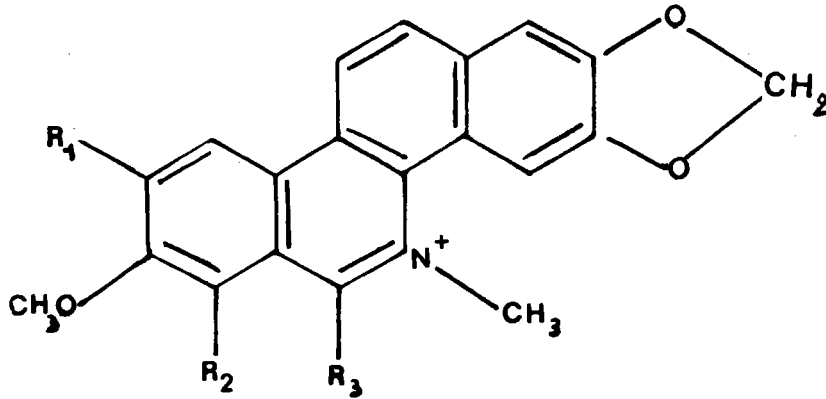
La berbérine (THOMAS et coll., 1911 ; FISH et coll., 1972) présente dans l'écorce, c'est un ammonium quaternaire.



### 3.1.4 Dérivés de la protopine = fagarine II



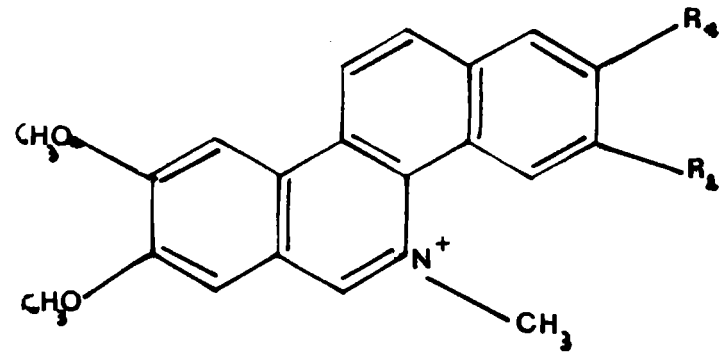
## 3.1.5 Dérivés de la phénanthridine



la phénanthridine

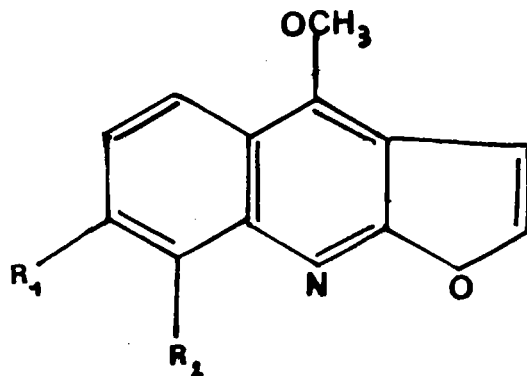
	Présent dans	R 1	R 2	R 3	Références Bibliographiques
Nitidine naphthaphénanthridine	Ecorce de racines	OCH <sub>3</sub>	H	H	FISH et coll., 1972 PHILIPS et coll., 1980, 1981
Chélérythrine = $\alpha$ naphthaphénanthridine	Ecorce de racines	H	OCH <sub>3</sub>	H	THOMAS et coll., 1911 TORTO et coll., 1969 FISH et coll., 1972 ASSEM et coll., 1983
Angoline = 9 méthoxychélérythrine	Ecorce	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	AUBREVILLE, 1959
Artarine = 9 méthoxychélérythrine	Ecorce	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	AUBREVILLE, 1959
Fagaridine	Ecorce de racines	H	OH	H	PARIS et coll., 1947 HANAOKA et coll., 1985
Bocconoline	Ecorce	H	OCH <sub>3</sub>	H	ASSEM et coll., 1983

La fagaronine (GILLESPIE et coll., 1974 ; PHILIPS et coll., 1980 ) présente dans l'écorce de racines.



:	:	:	:
:	:	R 1	R 2
:	:	:	:
:	:	:	:
:	fagaronine Ia	OH	OCH <sub>3</sub>
:	:	:	:
:	fagaronine Ib	OCH <sub>3</sub>	OH
:	:	:	:

Citons aussi la (11-2' cétobutane) dihydrochélérythrine, présente dans l'écorce (ASSEM et Coll., 1983).

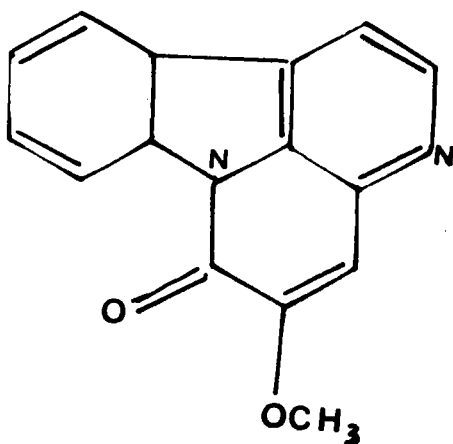
3.1.6 Dérivés de la furoquinoléine

La skimmianine, base furoquinolinique est l'alcaloïde le plus courant de la famille des Rutacées (FISH et coll., 1972). Le site de biosynthèse est situé au coeur du bois d'où on a extrait un précurseur du cycle furoquinoline : la 3 diméthylallyl 4 méthoxy 2 quinolone (STAMM, 1984).

	Présent dans	R 1	R 2	Références Bibliographiques
Dictamine	Ecorce	H	H	ASSEM et coll., 1983
γ Fagarine 8 méthoxy dictamine	Ecorce	H	OCH <sub>3</sub>	ASSEM et coll., 1983
Skimmianine β fagarine	Ecorce Feuilles	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	PARIS et coll., 1947 CALDERWOOD et coll., 1966 TORTO et coll., 1969 FISH et coll., 1972 ASSEM et coll., 1983

Pb : grande insolubilité des bases libres et grande acidité des solutions salines.

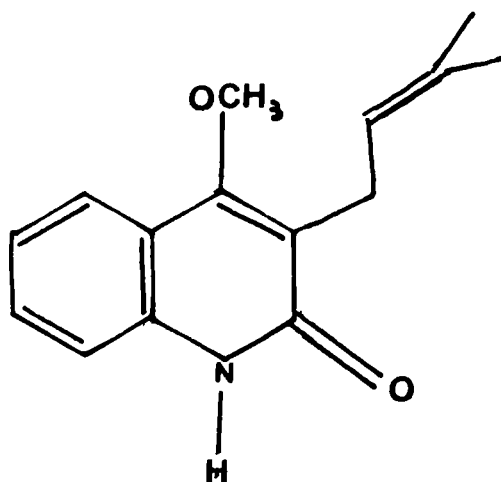
### 3.1.7 Dérivés de l'indol



La 5 méthoxycanthinone

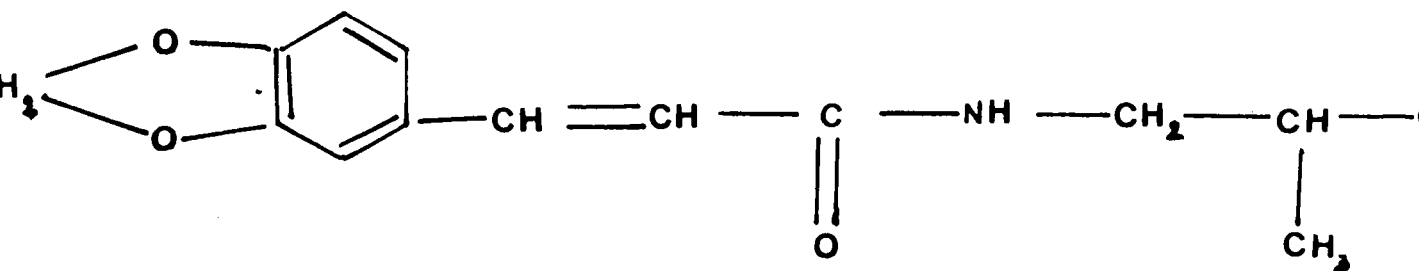
### 3.1.8 Dérivés de l'hydroquinoléine

La 3 diméthylallyl 4 méthy 2 quinolone (STAMM, 1984)



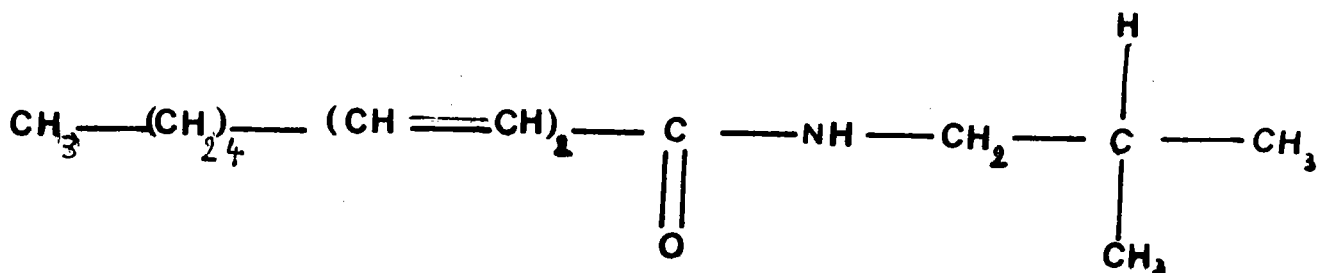
3.2 Les amides

- la fagaramide présente dans l'écorce de racines. (THOMAS et coll., 1911 ;  
PARIS et coll., 1947 ;  
CALDERWOOD et coll.,  
1966 ;  
FISH et coll., 1972 ;  
PHILIPS et coll.,  
1981 ;  
KARRER, 1985)



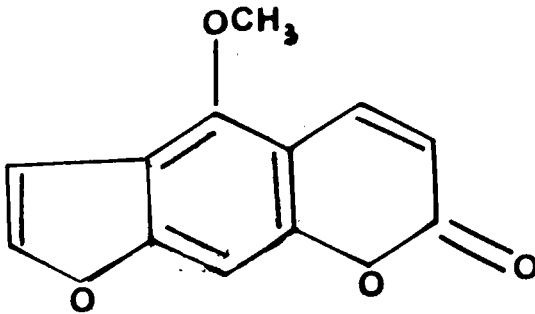
- La N isobutyl all-trans.2.4 décadiénamide = la pellitorine, présente dans les écorces de racines.

(CALDERWOOD et coll., 1966 ; HEGNAUER, 1973 ; KARRER et coll., 1981)



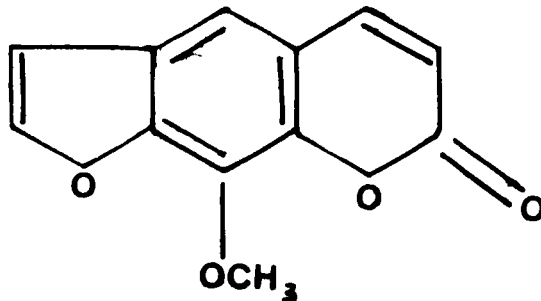
3.3 Les coumarines : Ce sont des dérivés de la daphnétine.

- Le bergaptène présent dans l'huile essentielle retirée des fruits et des feuilles (STAMM, 1984).



(KARRER, 1985)

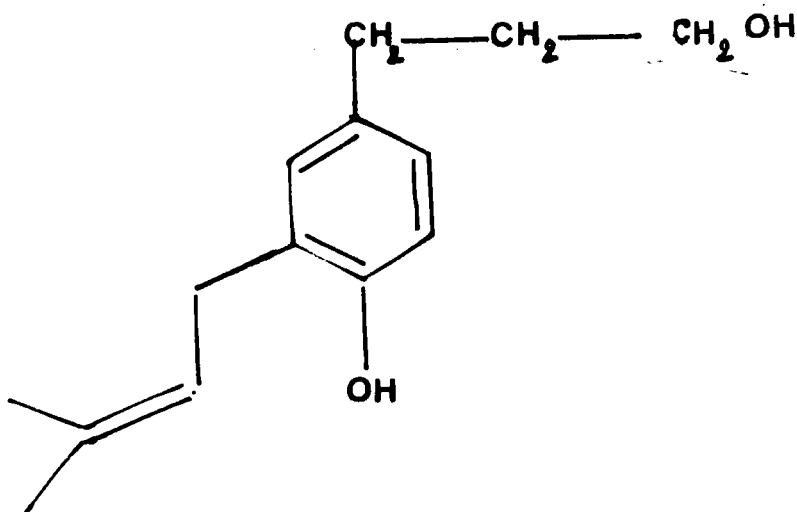
- La xanthotoxine = ammoïdine, isomère du bergaptène ( $C_{12}H_8O_4$ ). On en trouve 2 % dans les fruits (extrait alcoolique), (PARIS et coll., 1947 ; KARRER, 1985)



### 3.4 Alcools

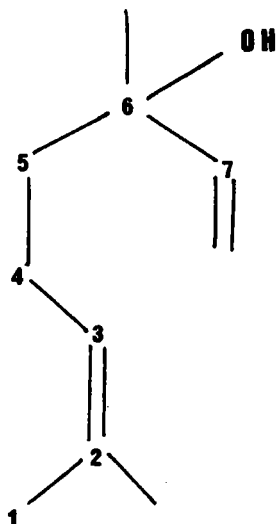
- Alcool phénol isoprénolique : le xanthoxylol

Présent dans la racine et l'huile du bois (BEZANGER- BEAUQUESNE et coll., 1956, 1961 ; ESHIET, 1966 ; KARRER, 1985).

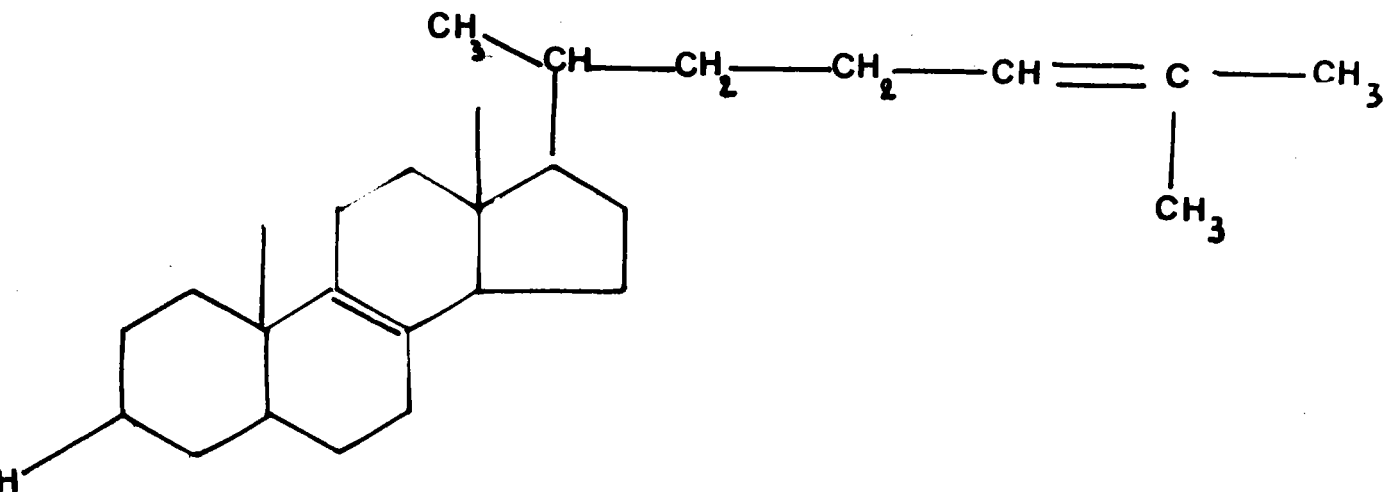


- Un alcool monoterpénique aliphatique

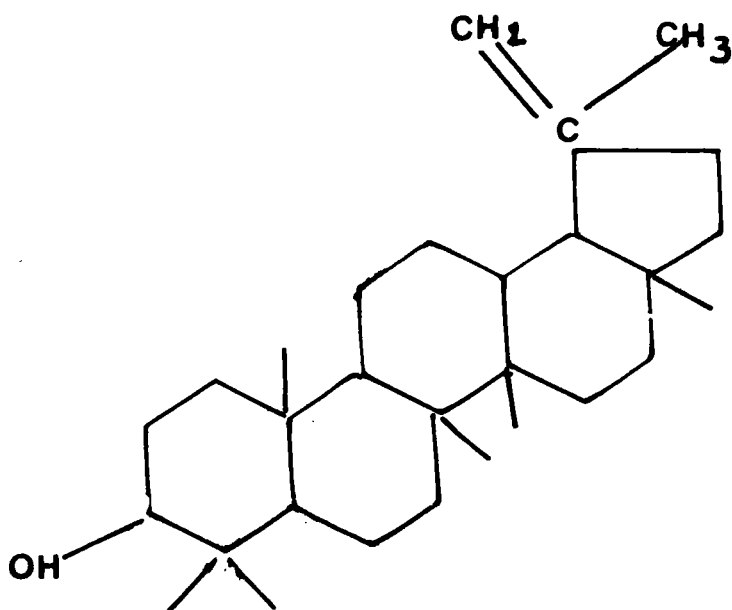
$C_n H_{2n-3} OH$  : c'est le 2.6 diméthyl  $\Delta^{2.7}$  octadien 6.01 ou linalol (EL SAÏD, 1969 ; SIMONSEN, 1953). Il est présent dans les fruits et les feuilles.



- Un stérol : le zymostérol (PARIS et coll., 1947 ; KARRER et coll., 1985)

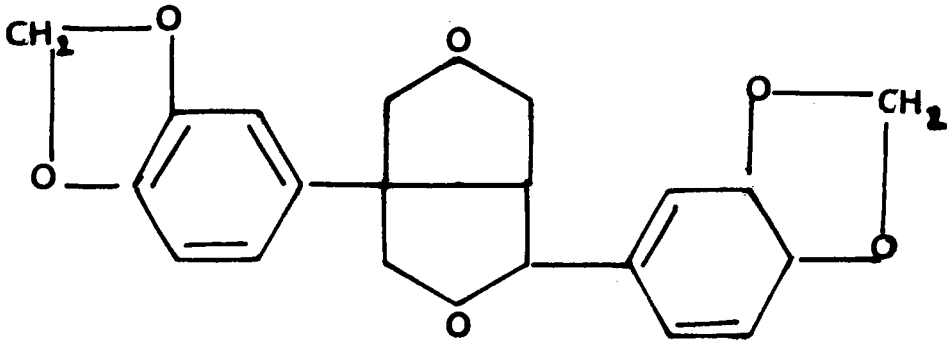


- Un triterpène : le lupéol, il est présent dans l'écorce (0,25 %), (KARRER et coll., 1977, 1985).



### 3.5 Les lignanes

- La sésamine, présente dans l'écorce de racines (KARRER, 1985)



- Le fagarol, présent dans l'écorce de racines (PARIS et coll., 1947 ; HEGNAUER, 1973). C'est un mélange de sésamine (+) et (-). Les lignanes sont présents en quantités importantes chez les Rutacées.

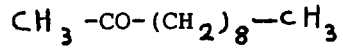
### 3.6 Acides organiques

- Acide 2 Hydroxyméthyl benzoïque, présent dans les feuilles et les racines.
  
- Acide vanillique, présent dans les feuilles.
  
- Acides p } hydroxybenzoïques, présents dans les feuilles et les racines.  
m }
  
- Acide 2.OH, 3 phénylpropionique, présent dans les feuilles et les racines.
  
- Acides stéarique, oléique et palmitique (traces), présents dans les racines et les feuilles.
  
- Acide aminobenzoïque, présent dans les feuilles et les racines.

(ELUJOBA et coll., 1977)

### 3.7 Cétones aliphatiques

la méthylnonylcétone = undécane



Elle est présente dans les fruits et les feuilles (PRIESS, 1911 ; PARIS et coll., 1947).

Les cétones sont les principaux constituants des huiles essentielles, substances largement répandues chez les Rutacées, et trouvées au niveau des feuilles et des fruits, stockées dans des poches sécrétrices. (dipenthène), (STAMM, 1984).

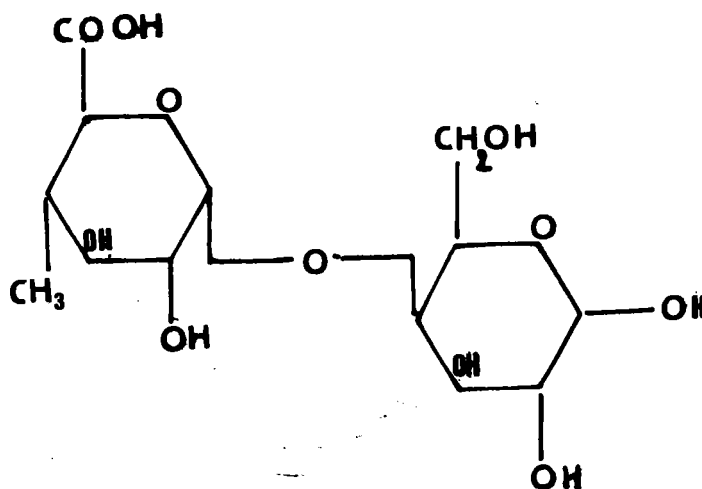
### 3.8 Autres constituants

- Des saponines, relativement rares chez les Rutacées, ont été caractérisées dans l'écorce.
- On peut remarquer aussi des sucres (arabinose, galactose) et des substances polyuroniques (gommes, mucilages) dans les feuilles et les tiges (KARRER, 1985).

. acide 4.0 méthylglucuronique

. acide aldobiouronique : 4.0 (4.0 . méthyl. D. glucuronasyl) D galactose (TORTO et coll., 1966).

L'élément de base de ces substances est constitué par le O-(4.0 méthyl a D glucopyranosyluronido)-(1-4) D galactose.



- Des esters acétique et caprique ont été trouvés dans les fruits (ISHII et coll., 1982).
- Dans les feuilles, on trouve un hétéroside flavonique qui pourrait être le rutoside.

## **IV. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.**

#### IV ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

##### 4.1 Indications thérapeutiques traditionnelles

X. xanthoxyloïdes est une espèce largement utilisée en médecine traditionnelle africaine et le tableau 3 présentant les nombreux noms vernaculaires dans différentes ethnies, indique que cette espèce est largement connue au Bénin, au Congo, au Mali, au Niger, au Nigéria, au Sénégal et au Togo.

TABLEAU (page suivante)

TABLEAU 3

Noms vernaculaires de X. xanthoxyloïdes

(KERHARO et coll., 1981 ;ADJANOHOOUN et Coll., 1979, 1981, 1985)

PAYS	ETHNIES - DIALECTES	APPELLATIONS
BENIN	Fon Goun Yowba	Hê Hê Igui ata
CONGO	Bambara	Wankaré
MALI	Bambara Malinké Peulh	Wo ; Gozo-ngua Wo Bulébarkélé ; barkeley
NIGER	Hausa	Fasakwari
NIGERIA	Yorusa	Igui ata ; ata
SENEGAL	Bambara Diola Diembereng Diola Fogny Niom Peulh Sérère Socé Wolof	WO ; Gro-ngua Nisédet Busam Inok Barkeley ; bulebarbele Noc Samatino Dengidek ; génidek ; nden ; horapolé ala
TOGO	Akassélem Akposso Bassa Moba Tem	Bidjakogoro Owlauri Dikambidjumbi Djomédiag Abalatchang'aī

Le bois de X. xanthoxyloïdes est réputé pour sa résistance et sa longévité. Il contient une résine inflammable et a longtemps été utilisé pour la fabrication de torches (IRVINE, 1930).

X. xanthoxyloïdes est couramment utilisé comme aromate. On l'utilisait également pour battre les vêtements et les adoucir

( IRVINE,1930), et comme poison de pêche au Congo, les racines ayant une activité ichthyotoxique (ADJANOOUN et coll., 1985).

Il est utilisé contre diverses affections et assez souvent on le retrouve dans des indications traditionnelles concernant la drépanocytose.

#### 4.1.1 Appareil digestif

##### 4.1.1.1 Troubles intestinaux et stomacaux

Les feuilles et racines de X. xanthoxyloïdes sont utilisées en cas de gastro-entérites au Sénégal (KERHARO et coll., 1950) et au Congo.

Chez les Wolofs, les feuilles et racines fraîches sont prescrites dans le traitement des diarrhées et de la dysenterie.

L'écorce est utilisée au Congo comme laxatif et stomachique.

##### 4.1.1.2 Parasitoses intestinales

Le décoction de racines est prescrite comme vermifuge en Afrique occidentale.

Les fruits auraient aussi des propriétés antiparasitaires. Au Sénégal, X. xanthoxyloïdes est considéré comme parasiticide externe et interne. Aux îles du Saloum, la réputation de la plante comme vermifuge est telle "qu'on prétend que son action commence à se faire sentir dans les entrailles dès qu'on commence à attaquer à la machette les racines et les écorces" (BOUQUET et coll., 1974).

#### 4.1.1.3 Ictères

Au Bénin, on pile les racines sèches de la plante avec des écorces sèches de tiges de Ostryoderris stuhlmanii, des bulles d'oignon (Alium cepa) et du poivre (Piper guineense), on ajoute chaque jour 1 cuillerée à café de la poudre obtenue à la sauce des repas de midi et du soir (ADJANOHOUM et coll., 1986).

#### 4.1.1.4 Douleurs abdominales

Au Togo, on réduit en poudre l'écorce séchée de racine de X. xanthoxyloïdes et les gousses de Aframomum melegueta, en quantités égales et on délaie 1 cuillerée à café au mélange dans de l'eau chaude, à boire une fois par jour (ADJANOHOUM et coll., 1986).

#### 4.1.1.5 Hémorroïdes

Au Bénin, on fait des bains de siège avec le décocté aqueux chaud d'une botte de racines fraîches ou sèches de X. xanthoxyloïdes (ADJANOHOUM et coll., 1986).

#### 4.1.2 Appareil locomoteur

##### 4.1.2.1 Courbatures

Faire une décoction d'une heure environ, dans 3 litres d'eau, du mélange d'une botte de racines de X. xanthoxyloïdes, de Citrus aurantifolia, Nauclea latifolia, Rhaphiostylis beninensis et Voacanga africana. Ajouter une botte d'écorces de tige de Antiaris africana et de Bridelia ferruginea.

Le décocté aqueux filtré au travers d'un linge est utilisé par voie orale à raison de 75 à 150 ml deux fois par jour, au Bénin (AJANOHOUN et coll., 1986).

##### 4.1.2.2 Douleurs articulaires, lumbagos, rhumatismes

X. xanthoxyloïdes est prescrit contre les douleurs articulaires, les paralysies, au Bénin (THOMAS et coll., 1911).

La pulpe de la plante est utilisée en usage externe au Congo, contre les maux de reins, les douleurs costales, les spasmes musculaires (THOMAS et coll., 1911).

### 4.1.3 Appareil génital féminin

#### 4.1.3.1 Troubles ovariens

X. xanthoxyloïdes est prescrit contre les troubles ovariens et les problèmes de stérilité. le remède est administré par os ou en usage externe, en injections vaginales.

#### 4.1.3.2 Aménorrhées

Au Bénin, on pile les racines de la plante avec des écorces sèches de tige de Ostryoderris stuhlmanii, des bulles d'oignon (Allium cepa) et du poivre (Piper guineense). On ajoute 1 cuillère à café de la poudre obtenue à la sauce des repas de la malade, pendant un mois (ADJANOHOOUN et coll., 1986).

#### 4.1.3.3 Dysménorrhées

On prescrit, au Bénin, les racines de X. xanthoxyloïdes et de Uvaria Chamae, avec les fruits de Xylophia aethiopica, les racines de Dioclea reflexa et de Morinda lucida en décoction.

#### 4.1.3.4 Leucorrhées

Toujours au Bénin, on triture des feuilles fraîches dans de l'eau, on laisse macérer 1 heure et on filtre. On boit le filtrat seul ou mélangé à de l'akassa (pâte alimentaire), (ADJANOHOOUN et coll., 1986).

#### 4.1.3.5 Suites de couches pathologiques

Au Bénin, les racines sèches de la plante associées à celles de Flacourtia flavescens sont réduites en poudre.

On prend, une fois par jour, une pincée de poudre délayée dans un demi verre d'eau (ADJANOHOUN et coll., 1986).

Contre les douleurs après accouchement, on prescrit un mélange d'écorces de racines et de rhum (IRVINE, 1930).

#### **4.1.4 Appareil uro-génital masculin**

##### **4.1.4.1 Blénorragie**

En Côte d'Ivoire, on utilise une macération aqueuse des écorces de tiges ou de la tige entière. Le remède est administré par os, additionné d'un jus de citron, ou en injections urétrales (ADJANOHOUN et coll., 1979).

##### **4.1.4.2 Urétrite**

On signale au Sénégal que les feuilles et les racines sont efficaces contre ce trouble (KERHARO et coll., 1973).

##### **4.1.4.3 Propriétés aphrodisiaques**

La plante est considérée comme aphrodisiaque : mâcher les écorces avec des noix de Kola et des graines de maniguette, et un grand verre de vin rouge.

#### 4.1.5 Nez - Bouche - Gorge - Oreilles

##### 4.1.5.1 Odontalgie et gingivites

L'écorce de racines est couramment utilisée comme cure-dents analgésique (PARIS et coll., 1947) en Côte d'Ivoire (ADJANOHOON et coll., 1979) et au Sénégal (KERHARO et coll., 1973) ainsi qu'au Bénin (ADJANOHOON et coll., 1986) et au Mali (ADJANOHOON et coll., 1985).

Les propriétés mécaniques du cure-dents sont associées aux propriétés thérapeutiques de l'écorce de racines (PARIS et coll., 1947) contre les maux de dents, les stomatites, les gingivites. L'écorce de racines contient une essence au goût piquant, provoquant la salivation et un engourdissement de la langue (PARIS et coll., 1947).

Au Bénin, toujours contre les maux de dents, on réalise des décoctions de racines de X. xanthoxyloïdes et de racines d'Uvaria chamae, à boire matin et soir.

Sont aussi utilisées des décoctions de racines de X. xanthoxyloïdes en bains de bouche 2 fois par jour.

Une autre préparation consiste à faire bouillir l'écorce de racines avec des piments rouges dans l'eau de riz ou de la bouillie claire d'amidon de maïs et à garder le liquide chaud le plus longtemps possible dans la bouche.

On peut associer à la racine de X. xanthoxyloïdes quelques grains de Xylopia aethiopica et de Piper nigrum en décoction, et l'utiliser en bains de bouche

#### 4.1.5.2 Caries dentaires

Au Congo, on applique parfois les épines du tronc sur la dent cariée.

On peut aussi appliquer directement la racine entière ou en poudre, sur la dent cariée (ADJANOHOUN et coll., 1986).

#### 4.1.5.3 Toux

Au Congo, on recommande de boire du vin de palme, dans lequel ont macéré des écorces en petits morceaux, ou de boire une décoction aqueuse, ou de sucer l'écorce de X. xanthoxyloïdes.

#### 4.1.5.4 Angine - Pharyngite

Au Mali, on réalise une décoction aqueuse d'une botte de racines fraîches ou sèches (100 à 200g pour 2 litres d'eau). Le décocté aqueux bouillant est utilisé en bains de vapeur ; tiédi, il s'emploie en bains de bouche répétés (ADJANOHOUN et coll., 1985).

#### 4.1.6 Peau

##### 4.1.6.1 Ulcères et plaies

Au Bénin, on soigne les ulcères et les plaies des muqueuses avec une décoction de racines de X. xanthoxyloïdes, d'Uvaria chamae, de fruits de Xylopia aethiopica et de racines de Dioclea reflexa.

##### 4.1.6.2 Abcès

Au Bénin, on utilise un décocté aqueux des racines de la plante associées à celles de Baijsea zygodioïdes et de Uvaria chamae. Le décocté est bu à raison de 1 verre à liqueur 3 fois par jour (ADJANOHOUN et coll., 1986).

##### 4.1.6.3 Pian - Plaies suppurantes

Au Sénégal, les racines sont utilisées en usage externe (KERHARO et coll., 1973).

##### 4.1.6.4 Plaies chroniques

Au Togo, on lave les plaies chaque jour avec un décocté de 500g de feuilles et d'écorces de racines dans 3 litres d'eau (ADJANOHOUN et Coll., 1986).

##### 4.1.6.5 Ulcères phagédéniques

Au Sénégal, on utilise les racines en usage externe (KERHARO et Coll., 1973).

#### 4.1.6.6 Gale

Au Congo, X. xanthoxyloïdes est utilisé par os, ou en usage externe : on applique de la poudre d'écorces de racines avec de l'huile de palme sur la peau ou sur les pieds.

#### 4.1.6.7 Morsures de serpents

Au Sénégal, les racines sont prescrites en usage externe (KERHARO et coll., 1973).

#### **4.1.7 Maladies et indications particulières**

##### **4.1.7.1 Céphalées**

Les feuilles et les écorces sont utilisées au Congo, en usage externe (applications de pulpe de la plante). Au Sénégal, les feuilles, les écorces de tiges et de racines fraîches, fractionnées et plus ou moins froissées, sont utilisées en aromathérapie pour soulager le céphalées, en application sur la tête ou le front, répartition sur la couche du malade (KERHARO et coll., 1973).

##### **4.1.7.2 Etat fébrile**

En Afrique occidentale, on utilise la racine bouillie avec des céréales comme fébrifuge (PARIS et coll., 1947). Parfois aussi on fait bouillir les feuilles et on boit la potion obtenue pour soigner la fièvre (IRVINE, 1930).

##### **4.1.7.3 Oedèmes**

Au Togo, on boit un verre à liqueur, matin et soir, d'une décoction de 15 à 20g de racines dans 1 quart de litre d'eau (ADJANOHOUN et coll., 1986).

#### 4.1.7.4 Drépanocytose

Contre les douleurs drépanocytaires et les oedèmes, on utilise le X. xanthoxyloïdes pilé avec des "grains de paradis" et du jus de lime douce.

- Au Bénin : . on fait sécher la plante 3 ou 4 jours, puis on fait macérer les tiges et l'écorce dans 5 litres d'eau, le mélange fermente et est administré à raison de 2 cuillerée à soupe par jour, pendant 6 mois à 1 an.
- . On utilise les racines de X. xanthoxyloïdes et d'Uvaria chamae en décoction, 2 fois par jour contre les maux de ventre.
- . On pulvérise les écorces sèches de racines de la plante seule ou associée soit aux feuille et racines sèches de Flacourtia flavescens ou d'Uvaria chamae soit aux tiges feuillées sèches de Hibiscus surratensis. On ajoute une pincée de cette poudre aux repas du malade, matin, midi et soir (ADJANOOUN et Coll., 1986).
- . On peut aussi boire (3 fois par jour) une cuillerée à café du décocté aqueux des racines de la plante associées à celles de Newbouldia laevis (ADJANOOUN et Coll., 1986).
- . Certains tradipraticiens prescrivent (1 fois par jour) 2 cuillerées à soupe du macéré de 200g de racines (séchées 3 jours à l'air libre) dans 5 litres d'eau, pendant 24 heures.
- . On peut réaliser une macération aqueuse de la tige feuillée (100g environ pour un litre d'eau) et boire un verre à liqueur du macéré, 1 fois par jour (ADJANOOUN et Coll., 1986).

- X. xanthoxyloïdes entre dans la composition de 2 médicaments contre une maladie correspondant à la description clinique de la drépanocytose avec des proportions précises (LONSDORFER et coll., 1981).

Dans la région de Korhogo, un tradipraticien Djeli le prescrit seul et de la façon suivante : 70g de racines entières nettoyées par 1 grattage léger sont mises à décocter dans un canari d'environ 3 litres jusqu'à ce que l'eau se colore en jaune (30 minutes). Matin et soir, le malade est lavé avec le décocté réchauffé qu'on lui fait également boire (150 ml). Lorsque le liquide est épuisé, les mêmes racines sont utilisées pour préparer un nouveau décocté ceci jusqu'à la guérison du malade (3 à 7 jours).

- A Port Bouët, les racines de X. xanthoxyloïdes sont récoltées sur le cordon lagunaire par un herboriste ghanéen qui les utilise (avec les racines de Strophantus hispidus, Rauwolfia vomitaria, Uvaria chamae, Zingiber officinale, les fruits de Xylapia sp et de piment) pour préparer un décocté brun de saveur très amère, conservé dans une bouteille. La préparation devra être absorbée 3 fois par jour, matin, midi et soir jusqu'à la guérison.

## 4.2 Etudes pharmacologiques

### 4.2.1 Effets anti-falcémians

C'est l'observation, par hasard, du fait que les extraits de Fagara xanthoxyloides conservaient la couleur rouge de préparations d'agar et de sang dans les zones d'inhibition microbienne qui a induit les recherches. On postula que ceci reflétait l'inhibition de la lyse des hématies. Puis on rapporta que des extraits rapportés du Nigéria inversaient l'anémie falciforme induite par le métabisulfite contenant de l'hémoglobine A.S. (HEADINGS et coll., 1976)

Les extraits ont été testés quant à leur effet sur la relation entre la saturation du sang en O<sub>2</sub> et le nombre de drépanocytes formés.

**4.2.1.1 Les extraits utilisés** : ils ont été réalisés par extraction aqueuse puis étherée, soit à partir de la fraction huileuse de l'extrait. Très souvent l'extrait de base est un extrait aqueux. (EKONG et coll., 1975)

- Elujoba et Sofowora (1977) utilisent la plante hachée, séchée et pulvérisée. Un poids connu de plante est mélangé à 250 ml d'eau distillée dans un appareil de Soxhlet pendant 36 h.

L'extrait est ensuite concentré à la flamme pour obtenir 50 ml que l'on mélange ensuite à 5x250 ml d'éther. La fraction étherée est concentrée jusqu'à obtention de 2,5 ml avant d'être appliquée sur des plaques de Kieselgur C pour la détection des acides.

- Headings et coll. (1976) effectuent le même travail à l'appareil de Soxhlet pendant 24 h. L'extrait est passé dans l'eau désionisée et lyophilisée. Le résidu est resolubilisé dans une solution de phosphate tamponnée.

- Divers auteurs (HONIG et coll., 1975 ; ISAACS SODEYE, 1975) ont utilisé la technique de Sofowora et Isaacs (1971) : 30 g de racines sont traités dans l'appareil de Soxhlet, l'extrait aqueux résultant est évaporé dans le vide et le résidu (8g) est redissous dans le milieu de culture n° 199.

- La technique de Lonsdorfer (1981) est directement inspirée de recettes de tradipraticiens Africains : écorces et bois de la racine ont été broyés séparément ; la poudre de racine totale utilisée pour préparer les solutions a été reconstituée ( 15 g de poudre d'écorce et 35 g de poudre de bois pour 50 g).

On effectua une décoction : 650 ml d'eau distillée furent nécessaires pour 50 g de poudre (étant donné l'abondance des mucilages) ; le liquide obtenu après décoction de 30 minutes et filtration sous vide à chaud fut ramené à 50 ml par évaporation sous vide, puis centrifugé pour éliminer les mucilages.

#### 4.2.1.2 Effets observés :

##### 4.2.1.2.1 Fraction huileuse (LONSDORFER et coll., 1981)

-Eshiet et Taylor (1966) isolent, à partir d'extraits d'écorce et de bois de racines auxquels on ajoute d'autres produits naturels, une fraction phénolique, le xanthoxylol ( $C_{14}H_{20}O_2$ ) que Ekong et coll. (1975) modifient chimiquement en DBA (3,4-dihydro 2,2 diméthyl 2H - 1 benzopyran 6 - butyric acid).

Le xanthoxylol aurait des propriétés anti falcémiantes, le DBA serait encore plus actif sur une drépanocytose provoquée expérimentalement : il est actif dès 1mM, l'inhibition de l'effet falcémiant sur des hématies déoxygénées à 37° est complète à 13mM. Selon eux, l'action se ferait par pénétration dans les hématies (liaison non covalente avec l'hémoglobine) ou par interaction au niveau des membranes.

- Poillon et coll. (1977) font la même constatation et observent après incubation avec du DBA, une augmentation de la solubilité de l'hémoglobine S déoxygénée.

- Honig et coll. (1978) rapportent cependant des résultats opposés : soumettant des globules rouges isolés en suspension, ou du sang total natif à des pressions partielles décroissantes d' $O_2$ , aucune action antifalcémiant du DBA n'est obtenue même à la dose de 10mM, dose qui assurait chez Ekong et coll. une inhibition presque totale de la falciformation : en effet selon eux, le DBA qui n'entre pas dans les hématies ne peut donc restaurer une hémoglobine normale.

- Honig et coll. (1978) avaient aussi obtenu ces résultats contraires à ceux de Sofowora et Isaacs (1971) : mais les premiers utilisaient du sang entier (des hématies lavées) provenant de malades asymptomatiques (Sofowora traitait les hématies au bisulfite). Enfin tous ces auteurs constatent que le DBA n'augmente pas l'affinité de l'hémoglobine pour l'O<sub>2</sub>, et que parfois même sa courbe de dissociation est légèrement déplacée vers la droite, évoquant une diminution d'affinité (Effet Bohr).

#### 4.2.1.2.2 Extraction aqueuse et étherée :

- A partir d'un composé actif "B" Sofowora et coll. (1975) identifient l'acide 2 hydroxyméthylbenzoïque comme principe antifalcémiant essentiel de ce composé "B". Ils observent une stabilité des érythrocytes incubés avec "B" alors que l'échantillon témoin présente une falciformation rapidement croissante. Sont aussi falcémiants l'acide p. hydroxy benzoïque, l'acide vanillique et des dérivés similaires de l'acide benzoïque. Onajobi, en 1976, réalise la synthèse d'analogues chimiques de ces composés.

- Heading et coll. (1976) constatent que le résidu lyophilisé aqueux des racines provoque une réversibilité des cellules falciformées à partir d'une dose-seuil (0,3 mg/ml). Il y a augmentation discrète mais significative du temps de demi-vie des érythrocytes, mais pas de modification de l'instabilité de l'hémoglobine S.

- Elujoba et Sofowora (1977) étudient différentes espèces de Fagara en fonction de l'acidité de l'extrait aqueux puis éthéré et rattachent l'intensité de leur activité antifalcémiant à la quantité d'acide totale contenue dans la plante ; ils obtiennent ainsi selon le moment de maturité de la plante une classification d'efficacité des espèces et des différentes parties de la plante en fonction de ces critères d'acidité. L'action anti falcémiant la plus puissante est celle de l'extrait de feuilles. Les études montrent que l'extrait de racine dépourvu de toxicité par voie orale, réduit aussi les crises douloureuses de la drépanocytose (SOFOWORA et coll., 1975). Ils dégagent les caractéristiques communes aux molécules possédant des propriétés antifalcémiantes :

- \* un noyau benzénique
- \* un groupe carboxylique acide
- \* un groupement riche en électrons (groupe hydroxyle ou aminé)

- Lonsdorfer et coll. (1981) montrent que la décoction de Xanthoxyloïdes possède in vitro une propriété antifalcémiant indéniable : bien que l'affinité de l'hémoglobine pour l'O<sub>2</sub> se trouve réduite du fait de l'acidité (pH 6,33) de la décoction, la diminution du taux de falciformation est de 30 % en moyenne.

- En vue de l'entrée sur le marché de la pharmacopée traditionnelle au Nigéria des racines de Xanthoxylum, des valeurs de référence concernant la concentration des extraits, la teneur en cendres, etc... ont été établies pour les espèces de Xanthoxylum les plus communes au Nigéria (ADEOYE et SOFOWORA, 1979).

- Les techniques d'essais pour la standardisation de l'activité antifalcémiant de la plante ont été formulées (ADESANYA ET SOFOWORA, 1982).

#### 4.2.2 Effets anti tumoraux

La transcriptase réverse virale est impliquée dans la formation de l'ADN viral : des inhibiteurs spécifiques de cette enzyme pourraient donc être utiles dans la lutte contre leucémies et cancers dûs aux virus oncogènes. C'est essentiellement la fagaronine et la nitidine, dérivées de la benzophénanthridine, qui ont été étudiées pour leurs effets.

##### 4.2.2.1 Tests et résultats :

- Sagar Séthi et coll. (1971) mettent en présence de l'ARN viral, du DNA et des nucléotides marqués, avec l'enzyme transcriptase réverse purifiée. On ajoute ou non la fagaronine. Le degré d'inhibition de la fagaronine sur l'action enzymatique est mesuré par le comptage de la radioactivité, signe de formation de l'ADN viral.

- L'activité de la transcriptase réverse du virus de la leucémie murine de Rauscher, du virus du sarcome du Singe et du virus du myéloblastome aviaire fut mesurée avec des concentrations croissantes de fagaronine de 0 à 50 µg/ml.

- Selon Cordell (1979), la fagaronine inhibe puissamment la réverse transcriptase de plusieurs systèmes viraux.

- Messmer (1972) lui aussi l'isole et prouve son activité contre la leucémie P<sub>388</sub> chez la souris, permettant de prolonger la vie des animaux respectivement de 265, 210 et 190 % aux doses de fagaronine de 100, 50 et 25 mg/kg. Plusieurs souris traitées avec la fagaronine furent considérées comme guéries.

- Les travaux d'Arisawa (1984) confirment ces résultats : il ajoute que la nitidine a aussi une activité exceptionnelle dans la leucémie lymphoïde P<sub>388</sub>.

La fagaronine est aussi active dans la leucémie lymphoïde L 1210. Action de la fagaronine sur les tests KB et P<sub>388</sub>.

KB : dose efficace 50 = 0,57 µg/ml

P<sub>388</sub> : dose efficace 50 = 0,18 µg/ml

#### 4.2.2.2 Mode d'action de la fagaronine :

- Sagar Séthi et coll. (1971) utilisèrent divers précurseurs marqués (poly rA. oligo dT, poly dA. oligo dT, poly rC. oligo d6, DNA activé et RNA viral 70 S)

La fagaronine inhiba puissamment l'activité de l'enzyme avec poly rA - oligo dT, poly dA - oligo dT, le DNA activé et le RNA viral 70 S, mais il n'y eut aucune inhibition enzymatique avec poly rC - oligo d6.

Donc cette inhibition ne se ferait pas par action inhibitrice avec poly rA oligo dT et poly dA oligo dT : ceci suggère que l'inhibition est due à une interaction avec les paires de bases (rA)<sub>n</sub>, (dT)<sub>n</sub> ou A-T.

Il reste à déterminer si l'activité anti-leucémique de la fagaronine est due à cette propriété.

- Pezzuto et coll (1983) montrent qu'ajoutée à de l'ADN de thymus de veau, la fagaronine provoque une modification du spectre de l'ADN, avec une augmentation d'intensité vers 400 nm.

Les modifications spectrales dépendent de la concentration d'ADN ajouté.

On observe en fait un complexe ADN - fagaronine : une fagaronine pour 4,5 paires de bases.

L'interaction avec les bases puriques semble plus forte qu'avec les bases pyrimidiques.

D'après les résultats obtenus avec la N demethylfagaronine le cation quaternaire se lierait aux groupements phosphatés négatifs des acides nucléiques. Après l'interaction initiale, une zone plus hydrophobe de la molécule pourrait s'insérer entre les paires de bases.

Contrairement à ce que pensaient Sagar Sethi et coll. (1971), la liaison de la fagaronine n'est pas limitée aux polynucléotides contenant seulement l'adénine et la thymine. Selon Sagar Sethi et coll., une absence d'inhibition enzymatique était synonyme d'une absence d'interaction : ce n'est pas le cas car il se peut que la nature chimique des produits enzymatiques n'ait pas alors été toujours caractérisée (structure tertiaire des précurseurs, etc...).

### 4.2.3 Effets anti microbiens :

#### 4.2.3.1 Les extraits utilisés :

- Chez Fadulu (1975) et El Said et coll. (1971), la plante est séchée, hachée, pulvérisée et l'extrait est réalisé dans l'appareil de Soxhlet avec une solution phosphate tamponnée (pH 7,4). L'extrait est ensuite lyophilisé : 30 g de plante donne 8,1 g d'extrait. On redissout l'extrait dans le même tampon pour les tests.

- Odebiyi et coll. (1979) réalisent une extraction avec de l'éthanol à 80 % dans un appareil de Soxhlet, puis l'extrait est concentré dans le vide et mélangé à du pétrole léger. On mélange avec 6x100 ml puis 4x50 ml d'H Cl 2n, on filtre. Le précipité noir insoluble passe sur une colonne d'alumine. On réalise l'élution et dans la première fraction de 100 ml on recueille un alcaloïde jaune antibactérien qui recristallise en aiguilles jaunes.

On fractionne ensuite l'extrait acide dans le chloroforme. L'extrait est évaporé et alcalinisé avec  $\text{NH}_4 \text{OH}$ , puis passé en chromatographie. L'élution au chloroforme avec un ajout croissant de méthanol ne donna une activité antimicrobienne que dans les 100 premiers ml. On acidifie la phase alcaline avec HCl, le précipité est dissous dans l'acétone, on filtre, on passe l'ensemble sur résine échangeuse d'ions. Après filtration et lyophilisation, et cristallisation, on obtient des cristaux purs actifs de chélérythrine et une fraction de berbérine.

#### 4.2.3.2 Activité des produits :

- Pour Fadulu (1975) et El Said et coll. (1971), les extraits ont montré une action antimicrobienne sur la flore buccale, en particulier sur des organismes détectés dans les caries : Streptococcus brevis, Staphylococcus a/bus et une espèce de Bacillus.

- Les alcaloïdes quaternaires chélérythrine et berbérine ont montré une activité antimicrobienne selon Odebiyi et coll. (1979).

- Pezzuto et coll. (1983) montrent que la fagaronine est bactéricide (action sur Salmonella typhimurium) mais pas mutagène.

Cette action bactéricide est stimulée par la présence de surnageant de foie de Rat, le composé activant est thermolabile et localisé dans la fraction microsomale.

- Lewis a rapporté qu'existaient des substances anti caries dans les bâtons de X. xanthoxyloïdes. Ces substances ont été incorporées à des pâtes dentifrices, mais le mécanisme anti caries n'est pas encore connu. Spécifiquement, l'activité de l'extrait ressemble à celle des tannins.

#### 4.2.4 Effets anesthésiques :

- En 1947, Paris et Moyse - Mignon rapportent la présence, dans X.xanthoxyloïdes, d'une substance qui, appliquée sur la langue, produit un fourmillement intense suivi d'une anesthésie locale.

La substance fut obtenue par Bowden et coll. (1963) par extraction de l'écorce de racine dans un appareil de Soxhlet au pétrole léger pendant 48 h.

L'extrait fut réduit à 100 ml et stocké à 0° une nuit. Le filtrat fut évaporé, il resta une huile sombre. Elle fut distillée en diverses fractions. C'est la troisième (146 - 154°) qui se révéla active.

La structure du principe actif est : la pellitorine ou N isobutyl décadien amide

(BOWDEN et coll., 1963 ; KARRER et coll., 1981)

- Ekong et coll. (1975) montrent que le 3,4 dihydro - 2,2 - diméthyl - 2h . 1 benzopyran - 6 acide butyrique a un effet sédatif en IP, à 250 mg/kg. Il provoque une ataxie et une analgésie à 500 mg/kg.

En voie orale : on observe une légère sédation à 3 000 mg/kg.

- La fagaramide et la fagaronine ont des propriétés narcotiques déprimant le système nerveux central (PARIS et coll., 1947).

#### 4.2.5 Effets anti coagulants :

Les extraits aqueux lyophilisés du coeur du bois de X.  
xanthoxyloïdes contiennent des coumarines et de la furanoquinolone. Pour les tests, on utilisa des échantillons de plasma déficient en facteur VIII ou IX (ESSIEN et coll., 1976), et un extrait aqueux lyophilisé de plante.

L'extrait aqueux concentré raccourcit le temps de prothrombinoformation. Au contraire, un ajout d'extrait dilué allonge légèrement ce temps de prothrombine. Le résidu aqueux lyophilisé après extractions successives à l'éther, au chloroforme et au méthanol conserve cette activité coagulante. Cette activité ne peut être attribuée au xanthoxylol, au DBA ou à la fagaramide.

Le xanthoxylol de l'extrait retarde la formation du caillot : ces fractions seraient d'une solubilisation lente, donc, à forte concentration, ces fractions ont une action qui s'oppose à la coagulation.

#### 4.2.6 Effets sur le tonus musculaire :

Divers alcaloïdes ont une action à ce niveau :

- la berbérine contracte les cellules élastiques de la rate

A faible dose, elle a une action comparable à celle de l'acétylcholine.

A forte dose, elle s'oppose à l'action de l'acétylcholine.

Elle ressemble à l'hydrastine et l'hydrastinine en augmentant le tonus et les contractions de l'utérus in situ et excisé (Chat), de 2 à 4 mg/kg. L'utérus de Rat répond différemment.

- l'artarine agirait sur les muscles comme la vératrine, et ralentirait le rythme des contractions cardiaques en augmentant leur amplitude (PARIS et coll., 1947).

- la skimmianine potentialise l'action de l'adrénaline chez le Chat.

**V. PREPARATION ET CHOIX  
DES EXTRAITS.**

## V PREPARATION ET CHOIX DES EXTRAITS

### 5.1 Réalisation des extraits

Des feuilles et des racines de X. xanthoxyloïdes ont été récoltées en Côte d'Ivoire en août 1984. D'après les indications traditionnelles, une macération aqueuse de feuilles ou d'écorce de racines est souvent utilisée. Nous réaliserons donc des extraits aqueux mais également des extraits hydro- alcooliques, étant donné la richesse de la plante en alcaloïdes.

- extraits aqueux : les feuilles ou l'écorce de racines sont broyées puis on réalise une infusion de 30 g de plante dans 200 ml d'eau distillée, puis une macération pendant 24 heures à 44°.

Après filtration sur Büchner le filtrat obtenu est lyophilisé.

Rendement moyen :

\* feuilles : 8 % soit 2,4 g de lyophilisat pour 30 g de plante sèche.

\* écorce de racines : 6 % soit 1,8 g de lyophilisat pour 30 g de plante sèche.

- Extrait hydro- alcoolique : les feuilles ou l'écorce de racines sont broyées et on soumet 30 g de cette poudre à une décoction sous chauffage à reflux dans 200 ml d'alcool à 60° pendant 2 heures. Puis on réalise une macération à l'étuve à 44° pendant 48 heures.

Le produit est ensuite filtré sur Büchner, l'alcool est évaporé au Rotavapor et l'extrait est lyophilisé. Rendement moyen :

\* feuilles : 10,5 % soit 3,1 g de lyophilisat pour 30 g de plante sèche.

\* écorces de racines : 7 % soit 2,1 g de lyophilisat pour 30 g de plante sèche.

Lors des injections intra péritoniales (IP), le lyophilisat est dissous dans NaCl 0,9 % à raison de 1 ml/100 g de masse corporelle. Pour les injections per os (PO), le lyophilisat est dissous dans NaCl 0,9 % ou dans l'excipient CS 1944 à 20 % après dissolution de cet excipient dans l'eau distillée toujours à raison de 1 ml/100 g de masse corporelle.

Pour les injections sous cutanées (SC), le lyophilisat est dissous dans NaCl 0,9 % à raison de 0,5 ml/100 g de masse corporelle.

## 5.2 Identification des constituants organiques :

### 5.2.1 Identification par voie chimique :

La méthode consiste à utiliser certains réactifs pour identifier les constituants des extraits.

#### 5.2.1.1 Identification des tannins

La mise en évidence est effectuée selon la méthode suivante :

- \* Introduire dans un tube à essais 5 ml d'extrait à 5 %.
- \* ajouter 1 ml de solution aqueuse diluée de  $\text{FeCl}_3$  à 1 %, en présence de tannins il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.
- \* pour caractériser la présence de tannins catéchiques, ajouter à 5 ml d'extrait à 5 %, 1 ml d'acide chlorhydrique concentré. Porter à ébullition.

En présence de tannins catéchiques il y a formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique.

- \* La différenciation des tannins (catéchiques et galliques) est obtenue par la réaction de Stiasny : à 30 ml d'infusé à 5 %, ajouter 10 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 30%+5ml d'HCl concentré) chauffer au bain-marie à 80°. L'obtention de précipité montre la présence de tannins catéchiques.

Filtrer et saturer le filtrat d'acétate de sodium pulvérisé. Ajouter quelques gouttes d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  à 1 %. Le développement d'une teinte bleu-noir indique la présence de tannins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

Résultats des réactions caractéristiques :

	Réaction avec $\text{FeCl}_3$	Réaction avec H Cl	Réaction de Stiasny
<u>X. xanthoxyloïdes</u> (feuilles)	+	-	+
<u>X. xanthoxyloïdes</u> (écorces de racines)	+	-	+

Nos extraits ne contiennent donc que des tannins galliques.

#### 5.2.1.2 Identification des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des polyphénols existant sous forme d'hétérosides.

Pour les caractériser, on utilise la méthode suivante :

\* On ajoute à l'extrait un acide puis une base - si la coloration de l'extrait s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, on peut conclure à la présence d'anthocyane.

\* réaction de la cyanidine : verser dans un tube à essais 5 ml d'extrait, ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique (alcool à 95°, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volume) puis quelques copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool isoamylique.

L'apparition d'une coloration rose-orangée (flavones) ou rose-violacée (flavonones) ou rouge (flavonols, flavononols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique, indique la présence d'un flavonoïde libre (génine).

	Réaction avec HCl + NH <sub>3</sub>	Réaction de la cyanidine
<u>X. xanthoxyloïdes</u> (feuilles)	-	rose-violacé
<u>X. xanthoxyloïdes</u> (écorces de racines)	-	jaune

Donc il n'y a pas présence d'anthocyanes ni de flavonoïdes dans l'extrait d'écorces de racines. L'extrait de feuilles, lui, contient des flavonoïdes.

### 5.2.1.3 Identification des coumarines

Ce sont des dérivés de l'alpha. pyrone. Pour les caractériser

:

- \* ajouter 2 ml d'eau chaude à l'extrait
- \* partager la solution entre 2 tubes à essais
- \* ajouter au contenu de l'un des tubes 0,5 ml de  $\text{NH}_3$  à 25 %
- \* mélanger et observer la fluorescence sous UV 366 nm.

Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté  $\text{NH}_3$  indique la présence de coumarines.

On ne décèle pas la présence de coumarines dans les extraits testés ici.

Les coumarines sont présentes seulement dans les fruits, non analysés ici, et dans les huiles essentielles extraites des feuilles (STAMM, 1984 ; KARRER, 1985).

### 5.2.2 Identification par chromatographie en couche mince (CCM)

La chromatographie en couche mince est une méthode de séparation physico-chimique basée sur les différences d'affinité des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire (constituée d'une substance finement divisée appliquée sur une plaque) et l'autre mobile (solvant ou mélange de solvants organiques). La solution à analyser est déposée à la ligne de départ sous forme d'un point ou d'un trait. La plaque est introduite dans une cuve étanche contenant l'éluant approprié (phase mobile). La séparation des constituants du mélange s'effectue grâce à l'ascension par capillarité le long de la phase stationnaire (développement). Ensuite, les substances incolores seront rendues visibles (détection).

La révélation sous U.V. ne suffit pas à elle seule à donner une caractérisation complète des substances à analyser.

\* il faut comparer les substances de la solution à analyser avec celle d'une solution de référence.

\* on peut aussi révéler à l'aide de réactifs chimiques.

	EXTRAIT	VALEURS DE Rf	COULEUR SOUS UV 365	
I)	éluant = acétone + toluène + acide formique (60:60:10) phase stationnaire = gel de silice 60	écorces de racines	0,024	bleu-vert rose  bleu-vert bleu  rose
			0,07	
			0,20	
			0,34	
			0,39	
			0,45	
			0,53	
			0,61	
			0,65	
			0,73	
	0,79			
	0,85			
	0,90			
	front de solvant 16,5 cm	feuilles	0,13	bleu orange orange orange
0,74				
0,77				
0,96				
II)	éluant = isopropanol acétate d'éthyle /eau (50:50:10) phase stationnaire = gel de silice 60	écorces de racines	0,05	jaune bleu-vert bleu-vert orange orange bleu orange
			0,10	
			0,21	
			0,51	
			0,60	
			0,90	
			0,95	
			front de solvant 14,1 cm	
	0,96			

III)	éluant = n butanol acide acé- tique/eau (40:10:10) phase sta- tionnaire = gel de si- lice 60 ----- front de solvant 12,4 cm	écorces de racines	0,36 0,44 0,47 0,52 0,57 0,63 0,91 0,95	bleu-vert jaune bleu-vert orange bleu-vert orange orange jaune
		feuilles	0,75 0,96	bleu-vert rose
		éluant = acide acé- tique 10 % phase sta- tionnaire = cellulose	écorces de racines	0,08 0,25 0,40 0,55 0,84
IV)	----- front de solvant 13,5 cm	feuilles	0,49 0,57 0,62 0,82	

### 5.2.2.1 Caractérisation des phénols :

- réactif : paranitraniline diazoté (P.A.N.) et carbonate de sodium. (système IV)

en  $R_f = 0,25$  la tache révélée en bleu sous U.V. devient brune. On voit apparaitre une tache brune supplémentaire, (non révélée au préalable en U.V.)  
Donc l'extrait d'écorce de racines contient des phénols.

- autre réactif révélateur des phénols : la diméthylaminocinnamaldéhyde (DMAC) (système I)

On voit apparaitre des taches jaunes non révélées en U.V. :

$R_f = 0,027$  (écorces de racines)

$R_f = 0,03$

$R_f = 0,13$  (feuilles)

Donc les 2 extraits de x.xanthoxyloïdes contiennent des phénols.

Toutefois, l'analyse peut être complétée par les essais chimiques effectués dans le paragraphe 5.2.1.

#### 5.2.2.2 Caractérisation des sucres :

révélateur : naphorésorcine à 0,2 %

(système II)

On note la présence de sucres pour les 2 extraits, par l'apparition de taches violettes et bleues.

écorces de racines : Rf = 0,30

Rf = 0,39

feuilles : Rf = 0,30

Rf = 0,39

La caractérisation des acides aminés (révélateur : ninhydrine système III) s'est avérée négative.

### 5.3 Choix du solvant et de la fraction de plante utilisés

Nous utilisons ~~de~~ nouveau le test d'interaction avec un barbiturique : après la sélection de la plante, il nous permettra de comparer les activités des différents extraits.

#### 5.3.1 Protocole expérimental :

Il est le même que pour le test utilisé lors du choix de la plante (1.2.2.3).

8 lots de 10 Souris (laboratoires Janvier, Le Genest) reçoivent par voie IP (1 ml par 100 g de masse corporelle) des doses de 200 et 800 mg/kg des 4 extraits :

- \* aqueux de feuilles
- \* aqueux d'écorces de racines
- \* hydro- alcoolique de feuilles
- \* hydro -alcoolique d'écorces de racines.

Un lot de 10 Souris reçoit une solution de NaCl 0,9 % dans les mêmes conditions.

30 mn après, on leur injecte le pentobarbital sodique (1 ml par 100 g de masse corporelle) (nembutal<sup>R</sup>, Abbott) par voie IP à la dose infra-hypnotique de 25 mg/kg, dissous dans l'eau distillée.

### 5.3.2 Analyses statistiques :

Les pourcentages d'endormissement de chaque lot sont comparés au lot témoin par le test du  $\chi^2$  modifié.

### 5.3.3 Résultats

Ils sont présentés dans le tableau 3

Tableau 3 : effets des extraits de X. xanthoxyloïdes sur l'induction du sommeil après traitement à une dose infra-hypnotique de pentobarbital.

DOSES	200 mg/kg		800 mg/kg	
	nombre de souris par lot	% d'endormissement	nombre de souris par lot	% d'endormissement
EXTRAITS				
aqueux feuilles	10	80 ***	10	100 ***
hydro-alcoolique feuilles	10	80 ***	10	90 ***
aqueux écorces de racines	10	60 *	10	100 ***
hydro-alcoolique écorces de racines	10	60 *	10	100 ***
Na Cl 0,9 %	10	10		

\* p < 0,05  
 \*\* p < 0,01  
 \*\*\* p < 0,005

Les quatre extraits semblent avoir une activité voisine (pas de différence significative entre eux à 800 mg/kg), à 200 mg/kg les pourcentages d'endormissement sont augmentés significativement jusqu'à 60 à 80 %. A 800 mg/kg on observe des pourcentages de souris endormies de 90 à 100 %. Le lot témoin présente seulement 10 % d'endormissement. C'est l'extrait aqueux de feuilles qui présente les pourcentages d'endormissement les plus élevés, à la fois à 200 et 800 mg/kg (respectivement 80 et 100 %).

Pour rester proche des indications traditionnelles, nous utiliserons un extrait de feuilles et un extrait de racines. Pour les feuilles, c'est l'extrait aqueux qui est plus actif, ainsi que nous venons de le voir. Nous choisirons donc l'extrait aqueux de feuilles et un extrait hydro-alcoolique, celui d'écorce de racines, pour les tests.

## 5.4 Toxicité

### 5.4.1 Protocole expérimental

Des lots de 10 Souris (5 mâles et 5 femelles) (laboratoires Césal, Montmédy), reçoivent les lyophilisats d'extraits aqueux de feuilles de X. xanthoxyloïdes par voie IP et par voie orale aux doses de 3 500, 7 000 et 14 000 mg/kg.

Pour une étude comparée avec la toxicité de l'extrait hydro-alcoolique d'écorce de racines, des lots de 5 souris mâles reçoivent cet extrait aux doses de 5 000, 7 500 et 10 000 mg/kg.

La mortalité ainsi que les effets généraux (comportement, aspect extérieur, fonctionnel, etc...) sont relevés après 15 minutes, 14, 24, 48 heures et tous les jours pendant une durée de 14 jours. La masse corporelle de chaque souris est mesurée quotidiennement. La dose létale 50 (DE 50) est estimée grâce à la méthode de Liechtfeld-Wilcoxon (1949).

## 5.4.2 Résultats :

### 5.4.2.1 Extrait aqueux de feuilles

Les extraits aqueux de feuilles administrés par voie orale aux doses de 3, 5, 7 et 14 g/kg n'induisent aucune mortalité chez les Souris mâles et femelles et ne modifient pas les paramètres observés. Par voie IP on n'observe aucune mortalité à la dose de 3,5 g/kg, 2 morts le deuxième jour (un mâle, une femelle) à la dose de 7g/kg et 8 morts à la dose de 14 g/kg ( 5 mâles les deuxième et troisième jours et 3 femelles entre 3 et 6 jours). Toutes les souris présentent des flancs contractés pendant 24 heures après injection. La DE 50 est de  $10,6 \text{ g/kg} \pm 0,08 \text{ g/kg}$ .

#### 5.4.2.2 Extrait hydro- alcoolique d'écorces de racines

Administré par voie IP, l'extrait provoque, 2 heures après administration, les mortalités suivantes :

5 g/kg : 20 %

7,5 g/kg : 40 %

10 G/kg : 100 %

La DL 50 est de 7,0 g/kg+ou- 0,03 g/kg.

Nous avons donc (en 5.3) mis en évidence une activité de X. xanthoxyloïdes dans le test du pentobarbital.

Les données de la littérature précisent l'activité de cette plante : effets antifalcémiant, effets anti tumoraux, effets anti microbiens, effets anesthésiques locaux, effets anti coagulants et sur le tonus musculaire.

Notre travail va consister à compléter l'investigation des divers domaines d'activité possibles de cette plante : nous nous intéressons donc aux propriétés sur le système nerveux, ou propriétés psychotropes.

**VI. RECHERCHE D'EFFETS  
PSYCHOTROPES.**

## VI RECHERCHE D'EFFETS PSYCHOTROPES

### 6.1 Etude de l'interaction avec les barbituriques

Nous avons mis en évidence une action de X. xanthoxyloïdes sur l'induction du sommeil après traitement par le pentobarbital (1.2.3 et 5.3.3) utilisé à dose infra-hypnotique. En effet, X. xanthoxyloïdes augmente significativement les pourcentages de souris endormies aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg (respectivement 80, 90 et 100 % d'endormissement pour l'extrait aqueux de feuilles) et aux doses de 200 et 800 mg/kg (respectivement 80 et 90 % pour l'extrait hydro-alcoolique de feuilles, 60 et 100 % pour l'extrait aqueux de racines, et 60 et 100 % pour l'extrait hydro-alcoolique de racines).

Cette activité pharmacologique va être précisée par le test d'induction du sommeil lorsque le pentobarbital est utilisé à dose infra-hypnotique en testant d'autres doses dans le but de déterminer une dose efficace 50 (DE 50), par le test de potentialisation du sommeil induit par le pentobarbital à dose plus forte, et par le test de potentialisation du sommeil induit par le barbital.

### 6.1.1 Introduction

#### 6.1.1.1 Absorption

L'absorption des barbituriques se fait par les muqueuses gastrique et jéjunale, ou rectale (suppositoires). Elle est fonction, comme la diffusion dans l'organisme, de la liposolubilité des barbituriques.

Ils traversent la barrière hémoméningée et se fixent d'abord au néocortex (richement vascularisé) puis à tout le cerveau.

Ainsi le barbital, moins liposoluble que le pentobarbital, traverse plus lentement la barrière hémoméningée et donc son effet est plus lent, ce que nous confirmerons dans nos expérimentations (6.1.4.3).

#### 6.1.1.2 Effets pharmacologiques :

Les barbituriques, comme les hypnotiques en général, exercent un effet dépresseur général sur le système nerveux central (SIMON et coll., 1983).

Ils possèdent, en gros, un spectre pharmacologique à 5 facettes :

- effet anticonvulsivant (pentétrazol)
- effet myorelaxant (test de traction, rotarod)
- effet sédatif hypnotique (test de perte du reflexe de redressement).
- effet anti-agressif
- effet anti-conflit

### 6.1.1.3 Mode d'action

Plusieurs neurotransmetteurs sont impliqués dans le mécanisme du sommeil, et donc les barbituriques sont susceptibles d'agir sur divers types de neurones et de récepteurs :

- les neurones sérotoninergiques : le métabolisme de la sérotonine est diminué par les barbituriques et les benzodiazépines.
  
- les neurones GABA ergiques : les barbituriques (au moins à faible dose) et les benzodiazépines augmentent la transmission GABA ergique, en augmentant l'inhibition pré- et postsynaptique commandée par le GABA (Haefely, 1978 ; Boulenger, 1979).
  
- les récepteurs aux benzodiazépines : ces récepteurs auraient une influence sur l'induction du sommeil.

#### 6.1.1.4 Catabolisme

La plupart des barbituriques sont métabolisés par le foie. L'excrétion se fait essentiellement par les urines, mais lentement pour le phénobarbital et le barbital, excrétés sous forme inchangée (65 à 90 %).

Le pentobarbital est dégradé par le système NAD PH - cytochrome P.450 réductase - cytochrome P.450 (WAROT et coll., 1979 ; CHAND et CLAUSEN, 1982) : Il est transformé en un métabolite inactif (REMMER, 1972 ; GOODMAN et coll., 1975 ; RAMBERT et coll., 1986).

Les barbituriques ont un effet inducteur important sur la biogénèse d'enzymes hépatiques, ce qui expliquerait le phénomène de tolérance à l'action pharmacologique des hypnotiques et certaines interférences avec d'autres médicaments (BERTHELOT, 1972 ; CHEVALIER et coll., 1980).

Exemple : les IMAO, en inhibant ce métabolisme des hypnotiques potentialisent leur action.

Le catabolisme du pentobarbital fait intervenir l'action sur les enzymes microsomiales hépatiques, mais pas celui du barbital : le barbital ne subit pas de biotransformation. On peut comparer l'interaction de diverses drogues avec le barbital et avec le pentobarbital (BOISSIER et coll., 1966 ; SIMON et coll., 1980, 1982 et 1987). Ainsi, un inhibiteur des enzymes microsomiales hépatiques, le profiden, potentialise l'effet du pentobarbital, et est sans action sur le barbital (AXELROD et coll., 1954 ; GILLETTE, 1963).

En résumé, l'interaction avec l'hypnose induite par un barbiturique peut résulter soit d'une action au niveau d'un récepteur central (6.1.1.3), soit d'une interaction dans le catabolisme hépatique du barbiturique (JORY et coll., 1970 ; SIMON et coll., 1982), soit des 2 processus à la fois (TATEOKA et coll., 1987). Ainsi, selon le site de l'interaction, les barbituriques vont interférer avec diverses substances.

#### **6.1.1.5 Interaction possibles entre barbituriques et autres substances.**

##### **6.1.1.5.1 au niveau du catabolisme hépatique :**

L'alcool, les antidépresseurs tricycliques , certaines benzodiazépines (diazépan), accélèrent leur catabolisme.

Les IMAO inhibent le catabolisme des barbituriques.

##### **6.1.1.5.2 au niveau des récepteurs :**

Les antihistaminiques - les dérivés morphiniques, les neuroleptiques, les tranquillisants entraînent une addition ou potentialisation réciproque des effets sédatifs centraux (FABRE, 1975).

##### **6.1.1.5.3 mode d'interaction inconnu :**

Les barbituriques provoquent une augmentation de l'agressivité des amphotaminomanes.

Pour localiser le site d'interaction entre l'extrait végétal étudié et le barbiturique, on comparera donc l'effet de cet extrait avec le pentobarbital et le barbital : si l'interaction se fait uniquement au niveau du catabolisme hépatique, l'extrait de X. xanthoxyloïdes ne doit pas potentialiser l'effet du barbital.

## 6.1.2 Effet inducteur du sommeil après traitement à une dose infra-hypnotique de pentobarbital

### 6.1.2.1 Protocole expérimental

Sept lots de 10 Souris (laboratoires Janvier, Le Genest) reçoivent l'extrait aqueux de feuilles de X. xanthoxyloïdes par voie IP aux doses de 12.5, 25, 50, 100, 200, 400 et 800 mg/kg (1 ml/100 g de masse corporelle). Sept lots de 10 Souris reçoivent l'extrait hydro-alcoolique de X. xanthoxyloïdes dans les mêmes conditions, aux mêmes doses.

Deux lots de 10 Souris reçoivent une solution de clorazépate dipotassique (Tranxène<sup>R</sup>, Clin-Midy, Montpellier) dissous dans l'eau distillée, aux doses de 5 et 20 mg/kg. Un lot témoin reçoit du Na Cl 0,9 % dans les mêmes conditions. Toutes ces injections se font 30 minutes avant l'administration par voie IP de pentobarbital sodique (Nembutal<sup>R</sup>, Ablott), dilué dans l'eau distillée, à une dose infra-hypnotique de 25 mg/kg.

On mesure le pourcentage d'animaux endormis pour chaque lot.

### 6.1.2.2 Analyses statistiques

Les pourcentages d'endormissement de chaque lot sont comparés à ceux du lot témoin à l'aide du test du  $\chi^2$  modifié.

La DE 50 est déterminée à l'aide de la méthode de Liechtfield et Wilcoxon (1949).

### 6.1.2.3 Résultats

Les résultats sont présentés sur le tableau 4 et la figure 1.

Tableau 4 : Effets des extraits aqueux de feuilles et hydro-alcoolique d'écorces de racines de X. xanthoxyloïdes et du clorazépate dipotassique sur l'induction du sommeil après traitement à une dose infra-hypnotique de pentobarbital.

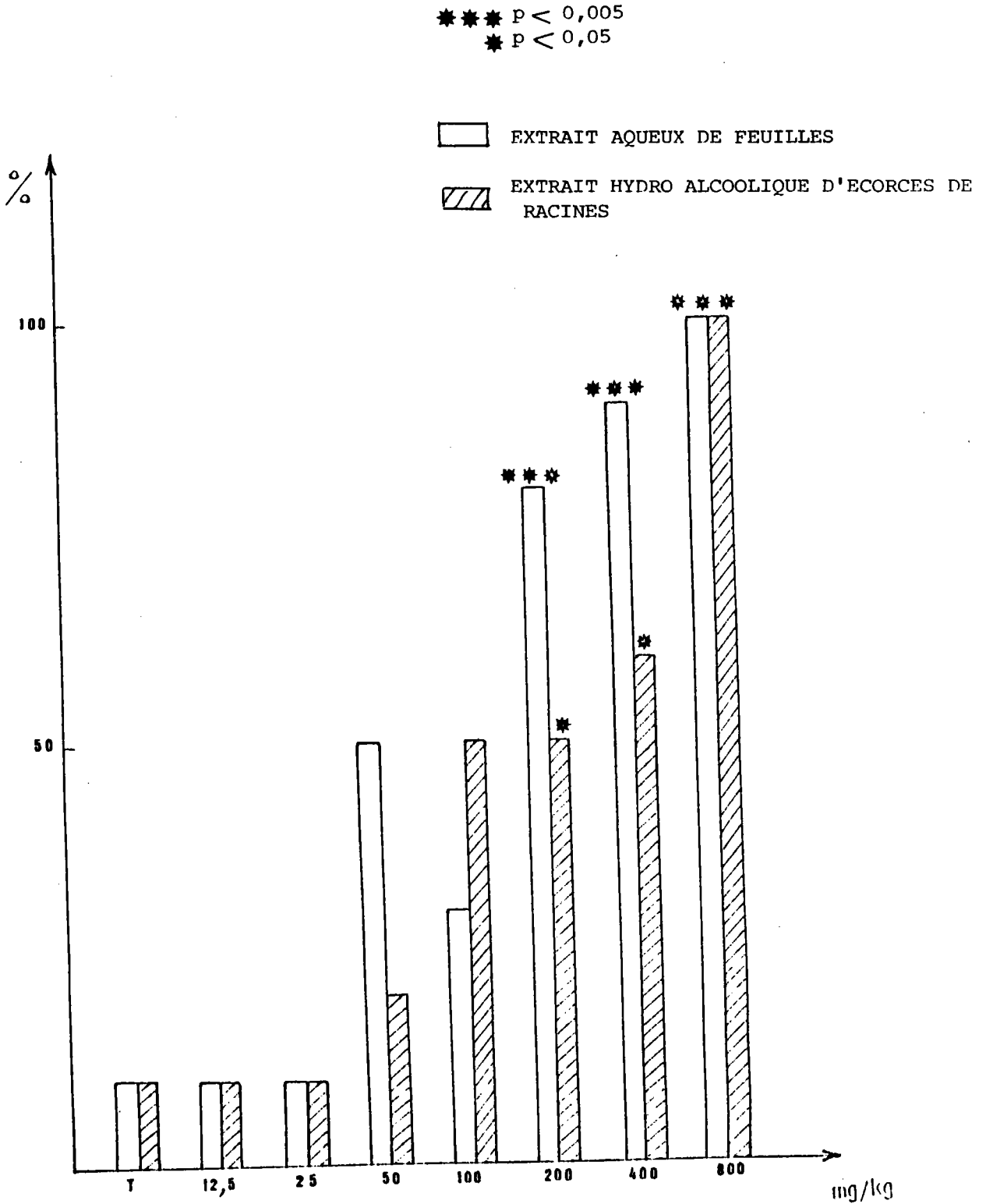
PRODUIT	Nombre de souris	Doses en mg/kg						
		12.5	25	50	100	200	400	800
Extrait aqueux feuilles de <u>X. xanthoxyloïdes</u> % de souris endormies	10	10	10	50	30	80 ***	90 ***	100 ***
Extrait hydro-alcoolique écorce de racines de <u>X. xanthoxyloïdes</u> - % endor.	10	10	10	20	50	60 *	60 *	100 ***
Témoins Na Cl	10	10						
Clorazépate dipotassique 5 mg/kg	10	60 *						
Clorazépate dipotassique 20 mg/kg	10	100 ***						

\*  $p < 0,05$

\*\*  $p < 0,01$

\*\*\*  $p < 0,005$

FIGURE 1 . EFFETS DES EXTRAITS AQUEUX DE FEUILLES ET HYDRO-ALCOOLIQUE D'ECORCES DE RACINES DE X.XANTHOXYLOIDES SUR L'INDUCTION DU SOMMEIL (% D'ENDORMISSEMENT) PAR LE PENTOBARBITAL 25 MG/KG .



Dans le groupe de souris témoins seulement 10 % des souris sont endormies. Les extraits aqueux de feuilles et hydro-alcoolique d'écorces de racines de X. xanthoxyloïdes induisent significativement le sommeil dès la dose de 200 mg/kg (respectivement 80 et 60 %). A 400 mg/kg, l'effet augmente (respectivement 90 et 60 %).

On observe donc une relation dose-effet, pour chacun des 2 extraits : l'effet maximum est atteint à la dose de 800 mg/kg où 100 % des animaux sont endormis.

Le clorazébate dipotassique induit le sommeil : avec les doses de 5 et 20 mg/kg, on obtient respectivement 60 et 100 % de souris endormies.

L'évaluation de la DE 50 donne  $85 \pm 1,5$  mg/kg, pour l'extrait aqueux de feuille et  $162 \pm 3,5$  mg/kg, pour l'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines.

### **6.1.3 Effet potentialisateur du sommeil induit par le pentobarbital**

#### **6.1.3.1 Protocole expérimental**

4 lots de 10 Souris (laboratoires Janvier, Le Genest) reçoivent par voie IP (1 ml par 100 g de masse corporelle) des doses d'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines de 50, 100 et 400 mg/kg, 30 minutes avant l'injection de pentobarbital sodique (Nembutal<sup>R</sup>, Abbott) par voie IP à la dose de 40 mg/kg ; à cette dose le pentobarbital induit un sommeil voisin de 30 minutes. Un lot de 10 souris témoins reçoit une solution de Na Cl 0,9 % dans les mêmes conditions.

Deux paramètres sont alors mesurés : le temps d'endormissement et le temps de sommeil. Le début du sommeil est pris en compte lorsque les souris acceptent la position en décubitus latéral, le temps de réveil lorsque la souris quitte cette position après trois tentatives de remise en position initiale. Le temps d'endormissement est l'intervalle de temps entre l'injection de pentobarbital et l'apparition du sommeil. Le temps de sommeil est l'intervalle de temps entre le début du sommeil et le réveil.

#### **6.1.3.2 Analyses statistiques**

Les résultats présentés dans le tableau 4 correspondent aux moyennes et aux erreurs standards des valeurs obtenues pour chacun des lots de 10 souris, exprimés en secondes pour les temps d'endormissement et les temps de sommeil. Les résultats présentés sur la figure 2 correspondent aux pourcentages d'augmentation du temps de sommeil des animaux traités, comparés aux animaux témoins.

L'homogénéité des variances est vérifiée : tout d'abord par un test de Bartlett, puis les valeurs moyennes sont comparées par le test de comparaison multiple de Newman Keuls, pour les comparaisons deux à deux .

La DE 50 est évaluée grâce à la méthode de Liechtfield et Wilcoxon, (1949)

### 6.1.3.3 Résultats

Ils sont présentés dans le tableau 5 et la figure 2.

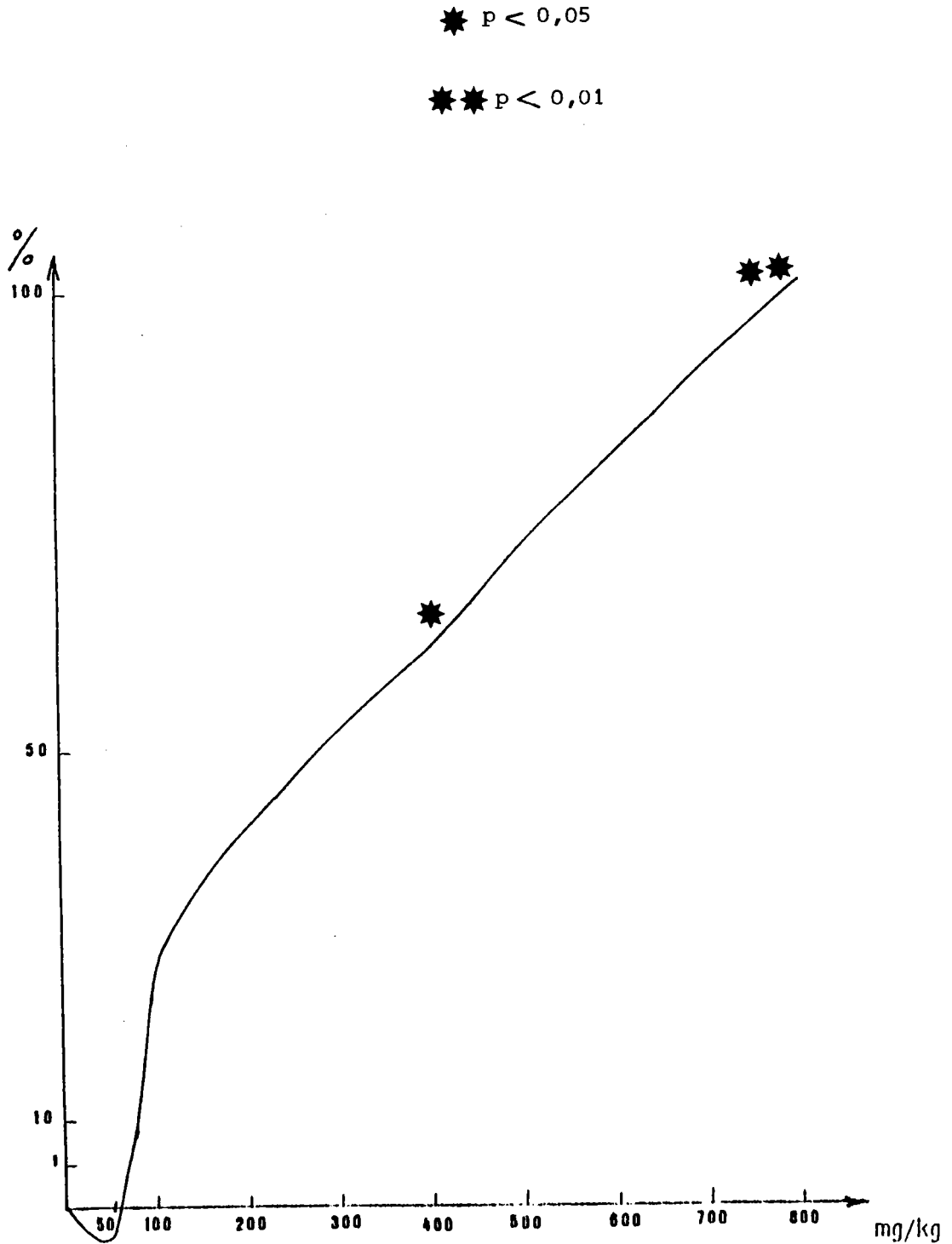
Tableau 5 : effet de l'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines de X. xanthoxyloïdes sur l'hypnose induite par le pentobarbital sodique 40 mg/kg, par voie IP.

Doses en mg/kg	0	50	100	400	800
Nombre d'animaux/lot	10	10	10	10	10
Temps de sommeil (secondes)	3406	3285	4356	5487	6846
E.S.	685	749	640	769	791
Variation par rapport au témoin %	/	- 4	+ 28	+ 61 *	+ 101 **
Temps endormissement (secondes)	228	212	224	209	198
E.S.	21	9	11	7	8
Variation par rapport au témoin %		- 7	- 2	- 8	- 13
Animaux endormis %	90	100	100	100	100

\*  $p < 0,05$

\*\*  $p < 0,01$

FIGURE 2 . EFFETS DE L'EXTRAIT HYDRO-ALCOOLIQUE D'ECORCES DE RACINES DE  
X.XANTHOXYLOIDES SUR LE TEMPS DE SOMMEIL INDUIT PAR LE PENTOBARBITAL SODIQUE  
40 MG/KG (% DE VARIATION PAR RAPPORT AU LOT TEMOIN) .



On remarque que l'extrait de X. xanthoxyloïdes ne modifie pas de façon significative le temps d'endormissement : il est néanmoins très légèrement réduit. Par contre le temps de sommeil est augmenté significativement dès la dose de 400 mg/kg (+ 61 %).

Il existe, d'après la figure 2, une relation dose/effet exprimée en pourcentage de variation, de X. xanthoxyloïdes sur le temps de sommeil induit par le pentobarbital. L'extrait de X. xanthoxyloïdes présente donc une interaction avec le pentobarbital : il y a potentialisation de l'effet du pentobarbital.

Le calcul de la DE 50 donne  $243 \pm 3$  mg/kg pour le temps de sommeil.

Nous allons maintenant préciser le site de l'interaction plante/barbiturique, par l'étude de l'effet de X. xanthoxyloïdes sur le barbital.

#### **6.1.4 Effet sur l'hypnose induite par le barbital**

##### **6.1.4.1 Protocole expérimentale**

Quatre lots de dix souris (Laboratoires Janvier, Le Genest) reçoivent une administration par voie IP des deux extraits aqueux de feuilles et hydro-alcoolique d'écorces de racines, aux doses de 400 et 800 mg/kg (1 ml par 100 g de masse corporelle).

Un lot témoin reçoit du NaCl 0,9 % dans les mêmes conditions.

Les cinq lots reçoivent, 30 minutes après la première injection, une administration par voie IP de barbital sodique (Cooper, Melun) à la dose de 200 mg/kg (1 ml par 100 g de masse corporelle).

Le temps d'endormissement et le temps de sommeil sont alors mesurés selon les critères décrits au 6.1.3.1.

#### 6.1.4.2 Analyses statistiques

Le tableau 6 donne les moyennes et les erreurs standard des temps d'endormissement et de sommeil, exprimés en secondes, pour le lot témoin et les lots traités.

On calcule les pourcentages de variation entre lots traités et lot témoin, pour chaque paramètre. Les valeurs moyennes sont comparées, après vérification de l'homogénéité des variances par le test de Bartlett, à l'aide du test de Newman Keuls.

6.1.4.3 Résultats:

Tableau 6. Effets de X.xanthoxyloïdes sur l'hypnose par le barbital 200 mg/kg, par voie IP.

Extraits	Témoins	Aqueux de feuilles		Hydro-alcoolique d'écorces de racines	
		400	800	400	800
Doses en mg/kg	NaCl 0,9 %	400	800	400	800
Nombre d'animaux par lot	10	10	10	10	10
Temps de sommeil (secondes)	1 241	1 674	3 234 **	2 098 **	2 126 *
E S	327	400	279	402	321
Variation par rapport aux témoins (%)	/	+35	+161 **	+69 *	+71 *
Temps d'endormissement (secondes)	1 154	1 467	1 639	1 489	1 686
E S	258	185	58	182	82
Variation par rapport aux témoins (%)	/	+27	+42	+29	+46
% en endormis	70	90	100	90	100

\*\*  $p < 0,01$  ; \*  $p < 0,05$

On remarque que les deux extraits de X.xanthoxyloïdes potentialisent significativement l'action du barbital : il y a une forte augmentation du temps de sommeil avec l'extrait aqueux de feuilles à 800 mg/kg (+ 161 %).

L'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines a une efficacité identique à 400 et 800 mg/kg (+ 70 %) sur le temps de sommeil. Par contre, on peut observer une tendance à l'allongement des temps d'endormissement avec X.xanthoxyloïdes.

Comme nous l'avons souligné en 6.1.1.1, on peut constater que les moyennes des temps d'endormissement des lots témoins sont de 1 154 secondes avec le barbital, alors qu'ils étaient de 228 secondes avec le pentobarbital : cet effet plus lent du barbital est lié à sa moindre liposolubilité, d'où une traversée de la barrière hémoméningée moins rapide.

### 6.1.5 Discussion

Les résultats obtenus dans les divers tests d'interaction avec les barbituriques confirment les résultats obtenus lors du screening de la plante (1.2.3).

Les extraits de X.xanthoxyloïdes induisent significativement le sommeil après traitement à une dose infra-hypnotique de pentobarbital : on obtient 100 % d'endormissement pour une dose d'extrait de 800 mg/kg (6.1.2.3). De même, le sommeil induit par le pentobarbital est potentialisé, significativement aux doses de 400 et 800 mg/kg (respectivement + 61 et + 101 %) (6.1.3.3).

L'extrait de X.xanthoxyloïdes potentialise aussi l'effet hypnotique du barbital : cette potentialisation est significative aux doses de 400 et 800 mg/kg pour l'extrait hydro-alcoolique de racines (respectivement + 69 et + 71 %), et elle atteint + 161 % pour l'extrait aqueux de feuilles. En fait, les deux extraits aqueux et hydro-alcoolique ont le plus souvent des efficacités voisines. Nous avons vu précédemment que le site d'interaction avec un barbiturique peut se situer au niveau des récepteurs centraux, ou au niveau du catabolisme hépatique du barbiturique, ou aux deux niveaux simultanément (6.1.1). Or le barbital ne subit pas de catabolisme hépatique. L'extrait végétal potentialisant l'effet du barbital, cette action ne peut donc s'exercer qu'au niveau du système nerveux central, au moins en partie.

Au cours d'études antérieures, nous avons rencontré d'autres types d'interaction.

En effet, nous avons démontré qu'une plante, originaire du Yémen, Crepis rueppellii, dont l'activité hépatotrope a été démontrée (LANHERS et coll., 1986 ; FLEURENTIN et coll., 1986), potentialise l'hypnose au pentobarbital sans modifier l'hypnose au barbital. Cette activité différenciée a été expliquée par une action probable au niveau hépatique sur la cinétique de biotransformation du pentobarbital ou sur la perméabilité membranaire des hépatocytes (FLEURENTIN, 1983). Une autre plante pharmacopée traditionnelle du Yémen, Anisotes trisulcus, s'est avérée avoir les mêmes propriétés au niveau d'interaction hépatique.

Pour confirmer ce niveau d'interaction, nous avons affiné les données concernant le site d'action hépatique de l'extrait végétal, grâce à des mesures de clearance à l'érythritol marqué au  $^{14}\text{C}$ , dont l'excrétion est hépatique, sans phénomène de réabsorption. Comme la clearance à l'érythritol augmente avec le flux biliaire sous l'influence de l'extrait végétal, cela signifie que Anisotes trisulcus stimule les mécanismes de sécrétion biliaire directement au niveau hépatocytaire et non à la faveur de phénomènes de perméabilité des canaux biliaires. Il a donc été démontré que Anisotes trisulcus interagit fortement avec le métabolisme hépatique, plus précisément au niveau des hépatocytes, ce qui explique la potentialisation d'un barbiturique à catabolisme hépatique comme le pentobarbital, tandis que l'extrait n'a aucun effet sur le barbital, non métabolisé au niveau hépatique.

Ces expérimentations montrent que divers cas de figure existent concernant les interactions entre extraits végétaux et barbituriques. Le cas des plantes du Yémen est donc très différent de celui de X.xanthoxyloïdes, pour qu'il existe une interaction au niveau central.

Ces deux résultats opposés montrent bien le pouvoir discriminant de ce test par rapport au site d'action d'un extrait lorsque l'on utilise le pentobarbital sodique et le barbital.

Les extraits végétaux mis à part, il existe des substances appartenant à d'autres classes pharmacologiques qui présentent des interactions similaires avec les deux barbituriques : (SIMON et coll., 1982).

- des neuroleptiques (chlorpromazine),
- des antidépresseurs (imipramine),
- des substances agissant sur le système sérotoninergique (L hydroxytryptamine, fenfluramine),
- des substances agissant sur les systèmes noradrénergiques ou dopaminergiques (L DOPA, clonidine),
- des tranquillisants (benzodiazépines).

En effet, l'induction du sommeil chez les animaux traités avec une dose infra-hypnotique est aussi observée avec la benzodiazépine de référence utilisée : le clorazébate dipotassique (6.1.2.3). Il sera nécessaire d'effectuer d'autres tests pour approfondir cette comparaison des propriétés de X.xanthoxyloïdes avec des produits de référence : pour ce qui est des benzodiazépines, on peut comparer leurs actions sédatives et anxiolytiques à celles de X.xanthoxyloïdes.

En effet l'action potentialisatrice de l'effet des barbituriques traduit une activité dépressive du système nerveux central ; dans ces conditions des tests pharmacologiques comportementaux devraient permettre de confirmer cet effet.

## 6.2 Recherche d'une activité comportementale

### 6.2.1 Propriétés sédatives

Il existe d'autres produits qui, comme les extraits de X.xanthoxyloïdes, potentialisent, l'action des barbituriques et ont un effet anesthésique : il s'agit par exemple des drogues sédatives (GOODMAN et coll., 1975).

Une drogue sédative diminue l'activité, modère l'excitation et calme. Ces substances dépriment le système nerveux central et sont donc aussi souvent employées comme antiépileptiques, myorelaxants, anxiolytiques (remarque : les barbituriques peuvent avoir un effet sédatif obtenu avec un quart de la dose hypnotique, soit 12 à 25 mg/kg pour le pentobarbital et 90 à 120 mg/kg pour le barbital).

Pour tester les propriétés sédatives, on peut utiliser divers tests permettant de quantifier l'activité locomotrice des animaux. Cette activité correspond au degré d'éveil cérébral de l'animal et pour l'enregistrer on peut, soit laisser l'animal dans sa cage d'élevage, soit utiliser un dispositif spécifique d'enregistrement : activimètre, test d'exploration d'un milieu nouveau, escalier.

En effet la souris est un animal territorial et elle est donc sensible à de très nombreux facteurs de son environnement comme les odeurs, les repères, la lumière, etc... La plus petite modification de son environnement familial perturbe l'activité de l'animal : (MISSLIN., 1982). Donc les tests utilisés, où l'animal est placé de force dans un milieu totalement nouveau (escalier, ...) vont être des tests générateurs de stress pour l'animal, et donc des tests anxiogènes. Placés dans ces dispositifs spécifiques, les animaux sont confrontés à une situation contraignante : ceci constituera donc une méthode d'expérimentation pour quantifier l'activité de l'animal face à cette situation contraignante. Mais après une période initiale d'exploration avec déplacements, redressements et flairements, les animaux deviennent peu à peu moins actifs et adoptent une position plus statique avec des périodes intermittentes d'observation, l'enceinte d'expérimentation leur est alors devenue familière, il sera donc intéressant de comparer l'activité des animaux face à une situation familière ou contraignante (MEGENS et coll., 1987). Le test d'exploration du milieu nouveau constituera une situation intermédiaire, où on laisse le choix entre milieu nouveau ou familier à l'animal.

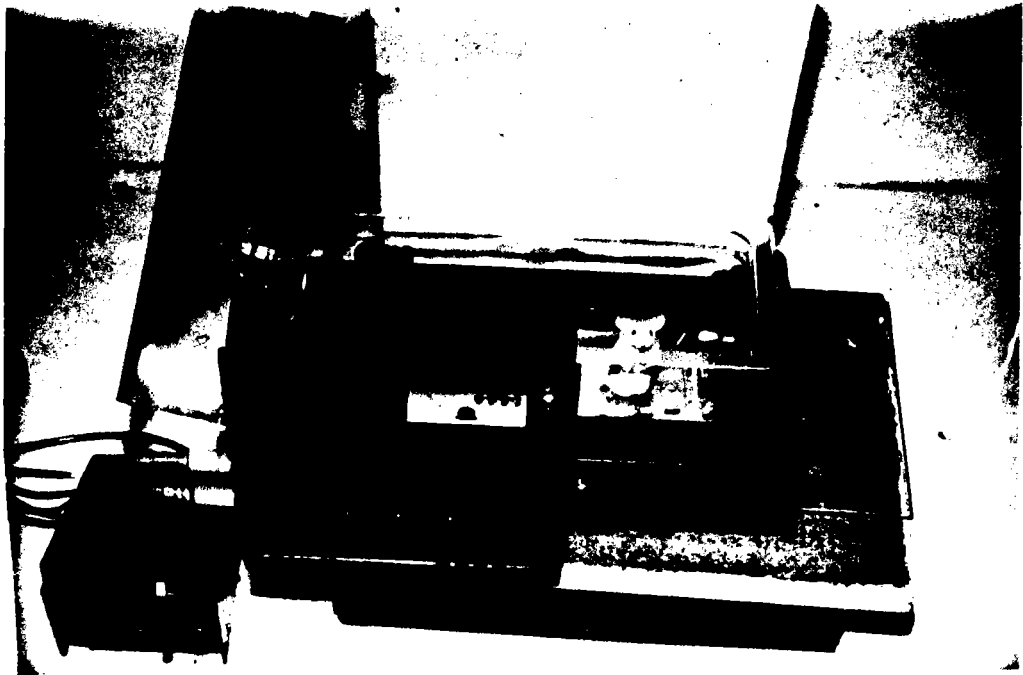
### 6.2.1.1 Test de l'activimètre en situation familière

#### 6.2.1.1.1 Protocole expérimental

Le test est basé sur l'enregistrement de la motilité des animaux à l'aide d'un appareil de conception originale. La cage expérimentale repose sur deux câbles fins reliés par quatre quartz piezzos. Le dispositif d'enregistrement est composé d'un compteur d'impulsions qui quantifie l'activité globale de l'animal. Nous avons vu que les souris, placées dans une situation familière, sont moins actives après la période d'exploration. L'intérêt du système piezzo est d'enregistrer avec précision les petits mouvements statiques de l'animal, caractéristiques de son activité et que d'autres appareils basés sur l'utilisation de cellules photo-électriques ne perçoivent pas (MEGENS et coll., 1987, photographie 8).

Pour ce type d'observation, chaque souris (Laboratoires Césal, Montmédy) est placée 24 heures avant le test dans une cage individuelle (24 X 10,5 X 8,5 cm) contenant une masse de sciure identique pour toutes les cages. La nourriture et l'eau de boisson sont fournies ad libitum. 30 minutes avant le test, on injecte par voie I.P (1 ml par 100 g de masse corporelle) à l'animal d'extrait aqueux de feuilles de X.xanthoxyloïdes aux doses de 50, 200 ou 400 mg/kg, ou une benzodiazépine de référence, à des doses de 1,10 ou 80 mg/kg, le clorazépate dipotassique (Tranxène<sup>R</sup>, Clin. Midy, Montpellier) dissous dans de l'eau distillée ou du NaCl 0,9 %.

PHOTOGRAPHIE 8 . LE TEST DE L'ACTIVIMETRE .



Au moment du test, la cage contenant l'animal est délicatement déplacée sur l'appareil, la souris n'est pas manipulée directement. L'activité globale est enregistrée de minute en minute, pendant 10 minutes. Les redressements de l'animal sont comptabilisés de la même manière.

#### **6.2.1.1.2 Analyses statistiques**

Après analyse de variance réalisée à l'aide du test F, les moyennes des valeurs cumulées de l'activité globale sur 10 minutes des lots traités sont comparées à la valeur moyenne du groupe témoin à l'aide du test "t" de Student. On procède de même pour les redressements.

#### **6.2.1.1.3 Résultats**

Les résultats sont présentés dans les tableaux 7 et 8 et sur la figure 3.

En milieu familial l'activité locomotrice et les redressements sont significativement diminués à la dose de 400 mg/kg (-74 % et -79 %) ; dans les mêmes conditions le clorazépate dipotassique testé aux doses de 10 et 80 mg/kg présente une activité sédatrice significative.

TABLEAU 7

EFFETS DE X.XANTHOXYLOIDES (EXTRAIT AQUEUX FEUILLES)  
SUR LA MOTILITE DE SOURIS PLACEES DANS UNE SITUATION FAMILIERE  
(CUMULS SUR 10 MINUTES)

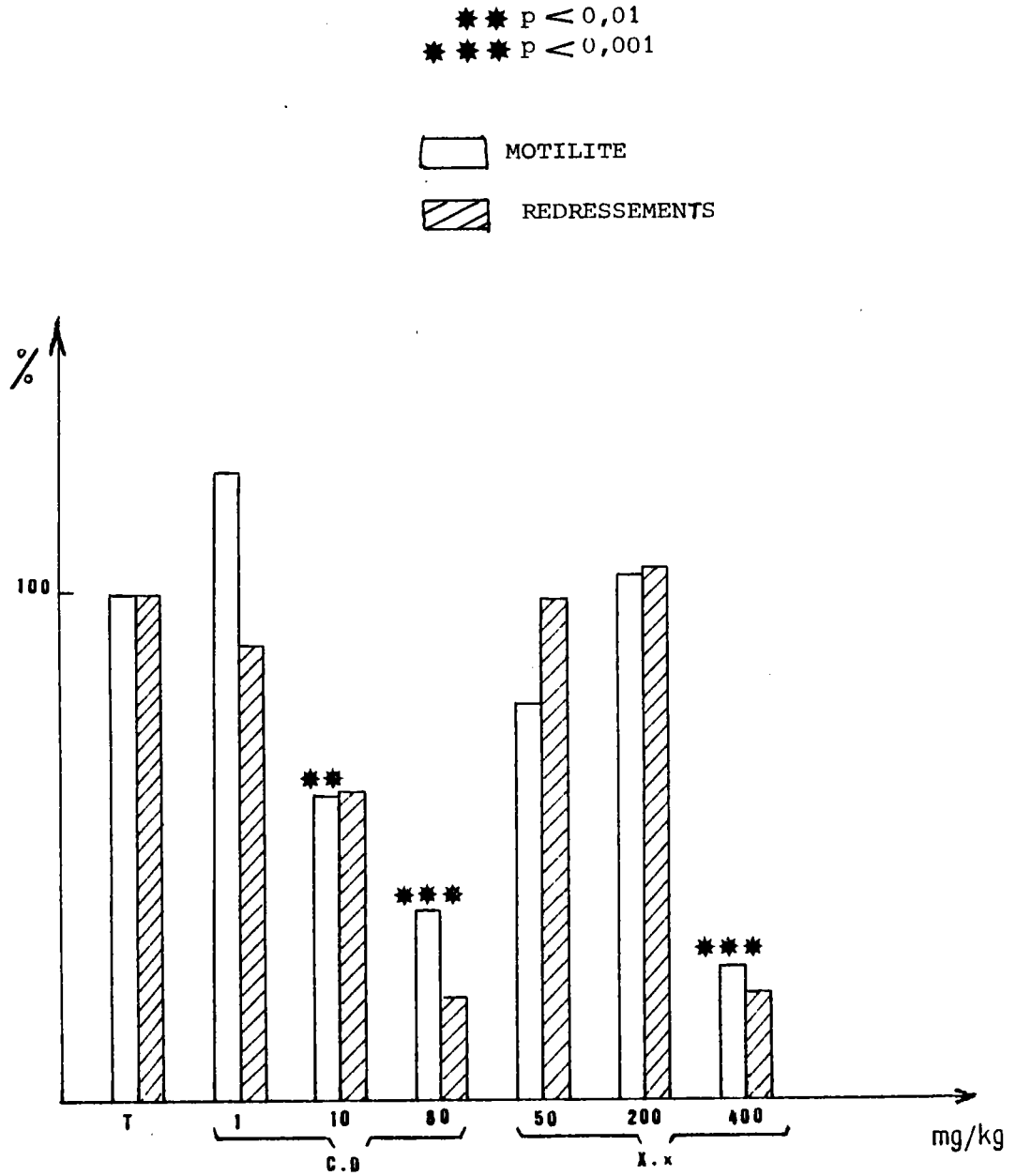
LOTS	TEMOINS NaCl 0,9 % n = 38	Clorazépate dipotassique			<u>X.xanthoxyloïdes</u>		
		1 mg/kg n = 10	10 mg/kg n = 10	80 mg/kg N = 10	50 mg/kg n = 10	200 mg/kg n = 10	400 mg/kg n = 10
Moyenne	1 0944	1 353	667	401	856	1 140	289
E.S.	(146)	(276)	(144)	(89)	(162)	(171)	(94)
% par rapport aux témoins		+ 24	- 39	- 63	- 22	+ 4	- 74
P		NS	< 0,01	< 0,001	NS	NS	< 0,001

TABLEAU 8

EFFETS DE X.XANTHOXYLOIDES (EXTRAIT AQUEUX FEUILLES PAR VOIE I.P)  
SUR LES REDRESSEMENTS DE SOURIS PLACEES DANS UNE SITUATION FAMILIERE  
(CUMULS SUR 10 MINUTES)

LOTS	TEMOINS NaCl 0,9 % n = 38	Clorazépate dipotassique			<u>X.xanthoxyloïdes</u>		
		1 mg/kg n = 10	10 mg/kg n = 10	80 mg/kg n = 10	50 mg/kg n = 10	200 mg/kg n = 10	400 mg/kg n = 10
Moyenne	87	78	52	17	86	91	18
E.S.	(9)	(18)	(12)	(5)	(13)	(10)	(6)
% par rapport aux témoins		-10	-40	-80	-1	+5	-79
P		NS	< 0,01	< 0,001	NS	NS	< 0,001

FIGURE 3 . EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE X.XANTHOXYLOIDES SUR L'ACTIVITE DES SOURIS PLACÉES DANS UN MILIEU FAMILIER (% DE VARIATION PAR RAPPORT AU LOT TEMOIN) : CUMULS SUR 10 MINUTES .



### **6.2.1.2 Test de l'activimètre en situation contraignante**

#### **6.2.1.2.1 Protocole expérimental**

Un extrait aqueux de feuilles de X.xanthoxyloïdes est administré par voie IP (1 ml par 100 g de masse corporelle) 30 minutes avant le test, aux doses de 50, 100, 200, 400, 800 mg/kg à des lots de 10 souris (Laboratoires Césal, Montmédy). Un lot témoin de 10 souris reçoit du NaCl 0,9 % (1 ml par 100 g de masse corporelle). Pour ce type d'expérimentation, 30 minutes après l'administration des produits, l'animal est saisi par la queue, puis déposé dans une cage individuelle (24 X 10,5 X 8,5), sans litière.

L'activité globale de la souris est enregistrée de minute en minute pendant 5 minutes.

#### **6.2.1.2.2 Analyses statistiques**

Après une analyse de variance, les valeurs moyennes de l'activité globale cumulée sur 5 minutes des lots traités sont comparées à la valeur moyenne du lot témoin à l'aide du test "t" de Student.

### 6.2.1.2.3 Résultats

Les résultats sont présentés sur le tableau 9 et sur la figure 4.

On observe une diminution de la motilité des souris induite par l'extrait de X.xanthoxyloïdes. Il y a une relation dose-effet que l'on peut suivre sur la figure 4. La diminution d'activité devient significative à partir de 400 mg/kg. Malgré la dose relativement forte utilisée (800 mg/kg) on n'observe aucune contraction des flancs ni d'étirement particulier, qui pourrait être le symptôme d'un phénomène douloureux.

**TABLEAU 9**

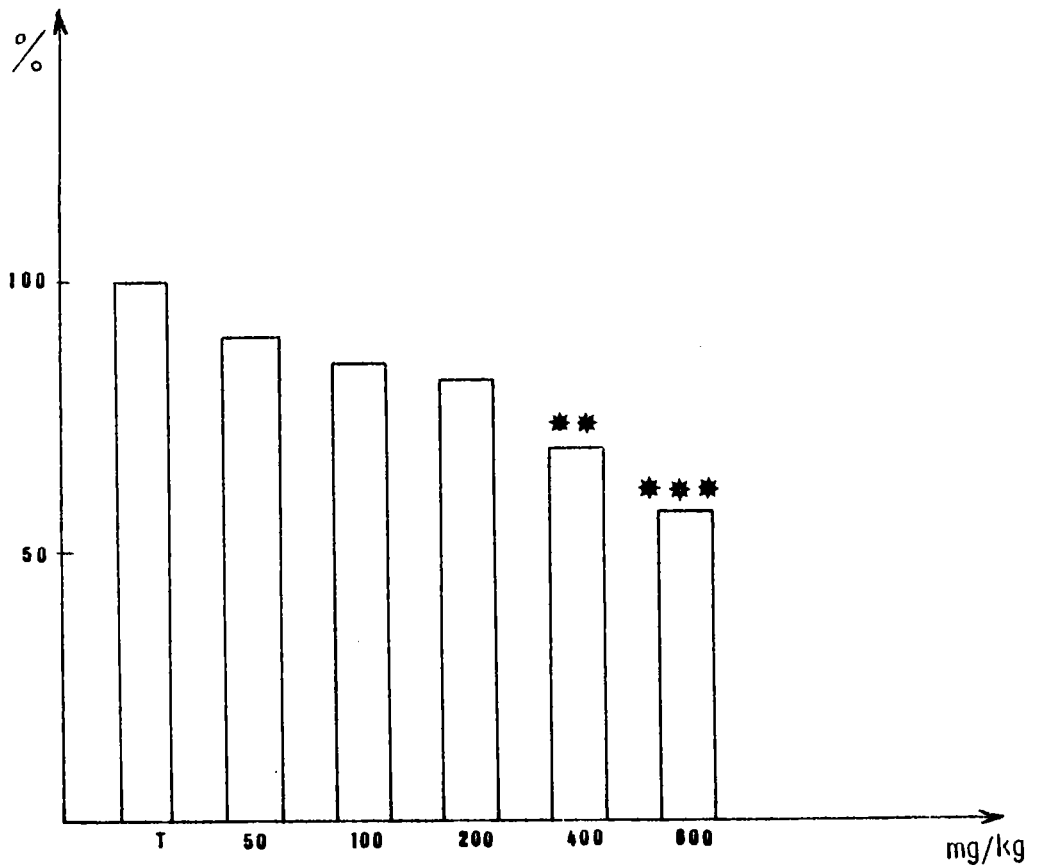
**EFFETS DE X.XANTHOXYLOIDES (EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES)  
SUR LA MOTILITE DE LA SOURIS PLACEE DANS UNE SITUATION CONTRAIGNANTE  
(CUMULS SUR 5 MINUTES)**

LOTS	Témoin NaCl 0,9 ‰	<u>X.xanthoxyloïdes</u> en mg/kg				
		50	100	200	400	800
Nombre d'animaux par lot	50	10	10	10	20	10
Moyenne	1 234	1 111	1 046	1 017	856	703
E.S.	96	140	102	108	99	121
Variation par rapport aux témoins (%)		-10	-15	-18	-31	-43
P		NS	NS	NS	< 0,01	< 0,001

FIGURE 4 . EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE X.XANTHOXYLOIDES  
SUR LA MOTILITE DES SOURIS PLACEES DANS UNE SITUATION CONTRAIGNANTE  
(% DE VARIATION PAR RAPPORT AU LOT TEMOIN) .

\* \*  $p < 0,01$

\* \* \*  $p < 0,001$



### 6.2.1.3 Test de l'exploration du milieu nouveau

#### 6.2.1.3.1 Protocole expérimental

L'appareil est composé d'une cage en PVC (30 X 20 X 20 cm) subdivisée en 6 unités carrées de surface égale, communiquant entre elles par de petites ouvertures. La cage est recouverte de plexiglass et peut être temporairement partagée, dans le sens de la longueur, en deux compartiments égaux au moyen d'une cloison percée de trois ouvertures, chacune d'elles étant munie d'une porte guillotine (photographie 9).

Les animaux (Laboratoire de psychophysiologie, Strasbourg) sont isolés 24 heures avant le test dans l'un des compartiments de l'appareil, que nous désignerons comme le compartiment familier (CF), l'autre restant provisoirement inaccessible. Le CF contient de la sciure et l'animal reçoit de la boisson et de la nourriture à volonté. Approximativement 24 heures plus tard, chaque animal est exposé au compartiment nouveau (CN) par l'escamotage des portes guillottes. Son comportement est alors observé pendant 10 minutes. Au début de chaque période de 10 secondes, indiquée par un top sonore, on note de quel côté de l'appareil se trouve l'animal. Ce paramètre est appelé "préférence néotique".

PHOTOGRAPHIE 9 . LE TEST D'EXPLORATION DU MILIEU NOUVEAU .



Pour enregistrer le paramètre de la préférence néotique, la méthode d'échantillonnage temporel (time sampling) a été utilisée puisque Misslin (1983) a montré qu'il y avait une corrélation entre le temps passé par les animaux dans le compartiment nouveau et le nombre de fois où l'animal est vu toutes les 10 secondes, dans ce compartiment (échantillonnage temporel).

Nous enregistrons également le nombre d'unités totales pénétrées par l'animal, sans distinction des unités franchies dans le compartiment familier et celles franchies dans le nouveau, ce paramètre définissant l'activité locomotrice. Il faut préciser que l'on considère qu'une unité est franchie par l'animal lorsque les quatre pattes ont pénétré dans l'unité suivante.

30 minutes avant le test, on injecte par voie I.P (1ml par 100 g de masse corporelle) l'extrait aqueux de feuilles de X.xanthoxyloïdes dissous dans NaCl 0,9 % aux doses de 25, 50, 200 et 400 mg/kg. Les témoins reçoivent une solution de NaCl 0,9 % dans les mêmes conditions. Chaque dose est testée sur un lot de 10 souris. Pour administrer le produit, l'animal est retiré du compartiment familier. Après l'injection, la souris est replacée immédiatement dans le même compartiment. Misslin (1983) a montré que de telles conditions d'injection n'avaient pas d'effet particulier sur le comportement des souris dans ce test.

### 6.2.1.3.2 Analyses statistiques

L'analyse de variance réalisée à l'aide du test F, suivie du test des comparaisons multiples de Duncan, permet d'estimer les différences de locomotion, entre les groupes de souris traitées et celui des témoins. La préférence néotique enregistrée minute par minute, pour chaque lot, est étudiée par le test des signes. Nous déterminons ainsi le moment à partir duquel les animaux préfèrent le milieu nouveau de façon significative.

### 6.2.1.3.3. Résultats

#### Préférence néotique :

La figure 5 montre que les souris ont tendance à marquer une préférence significative pour le milieu nouveau, sauf les animaux traités avec les doses élevées.

Lorsque l'on considère l'indice de préférence néotique des différents groupes tel qu'il apparaît de minute en minute (figure 6) on observe que les animaux témoins préfèrent le milieu nouveau de façon significative à partir de la deuxième minute. Aucun des lots traités n'a atteint cette performance. En effet, les animaux traités à 25 et 50 mg/kg ne marquent une préférence néotique significative qu'à partir de la 4ème et 7ème minute respectivement. Les animaux traités avec la dose de 400 mg/kg ne manifestent plus de préférence significative pour le milieu nouveau, à aucun moment du test.

FIGURE 6 . EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE X.XANTHOXYLOIDES SUR LA PREFERENCE NEOTIQUE (% D'UNITES NOUVELLES FRANCHIES A CHAQUE MINUTE).

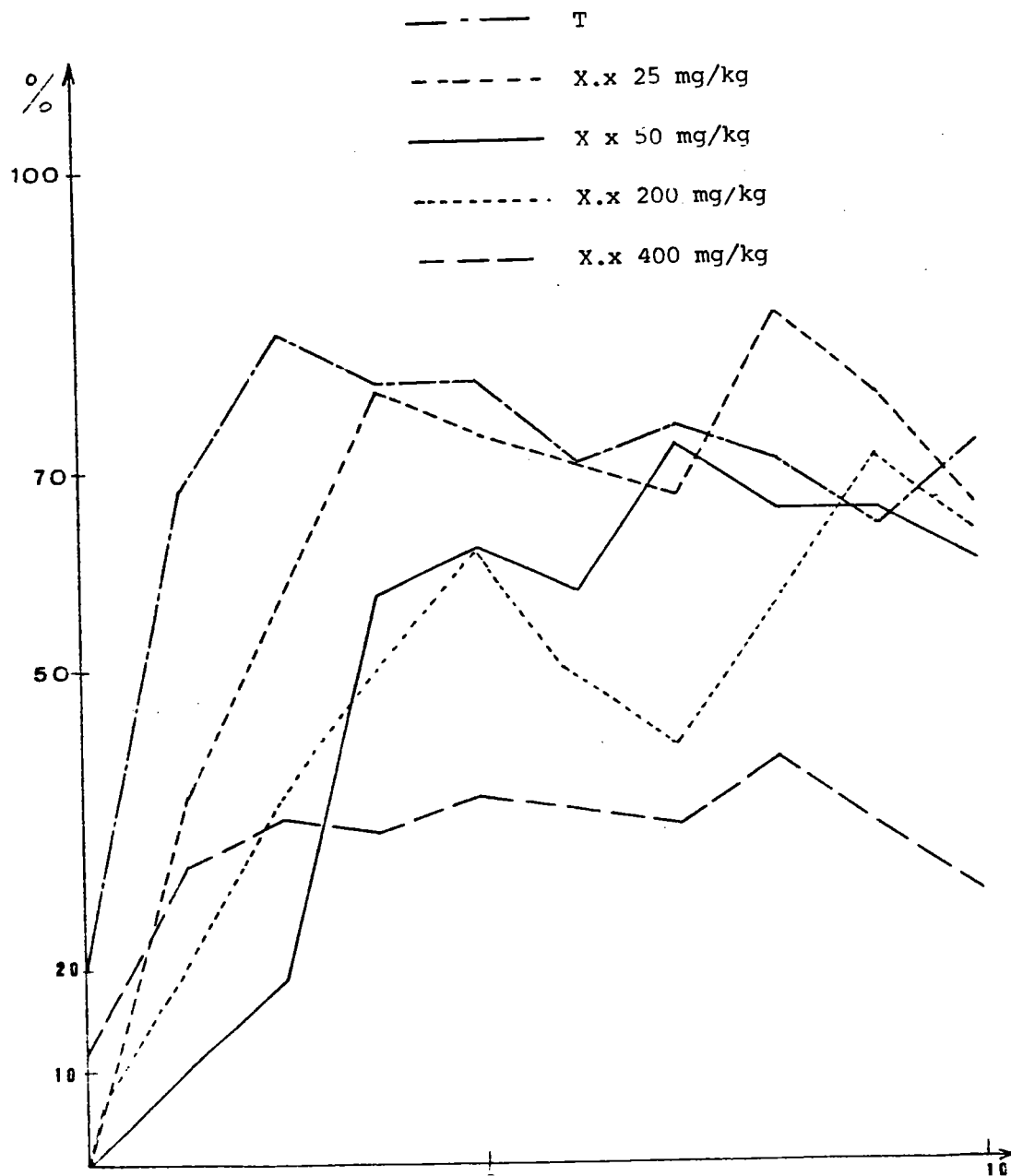


FIGURE 5 . EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE X.XANTHOXYLOIDES SUR LA PREFERENCE NEOTIQUE (% D'UNITES NOUVELLES FRANCHIES, SUR LE NOMBRE TOTAL D'UNITES FRANCHIES) : CUMULS SUR 5 MINUTES .

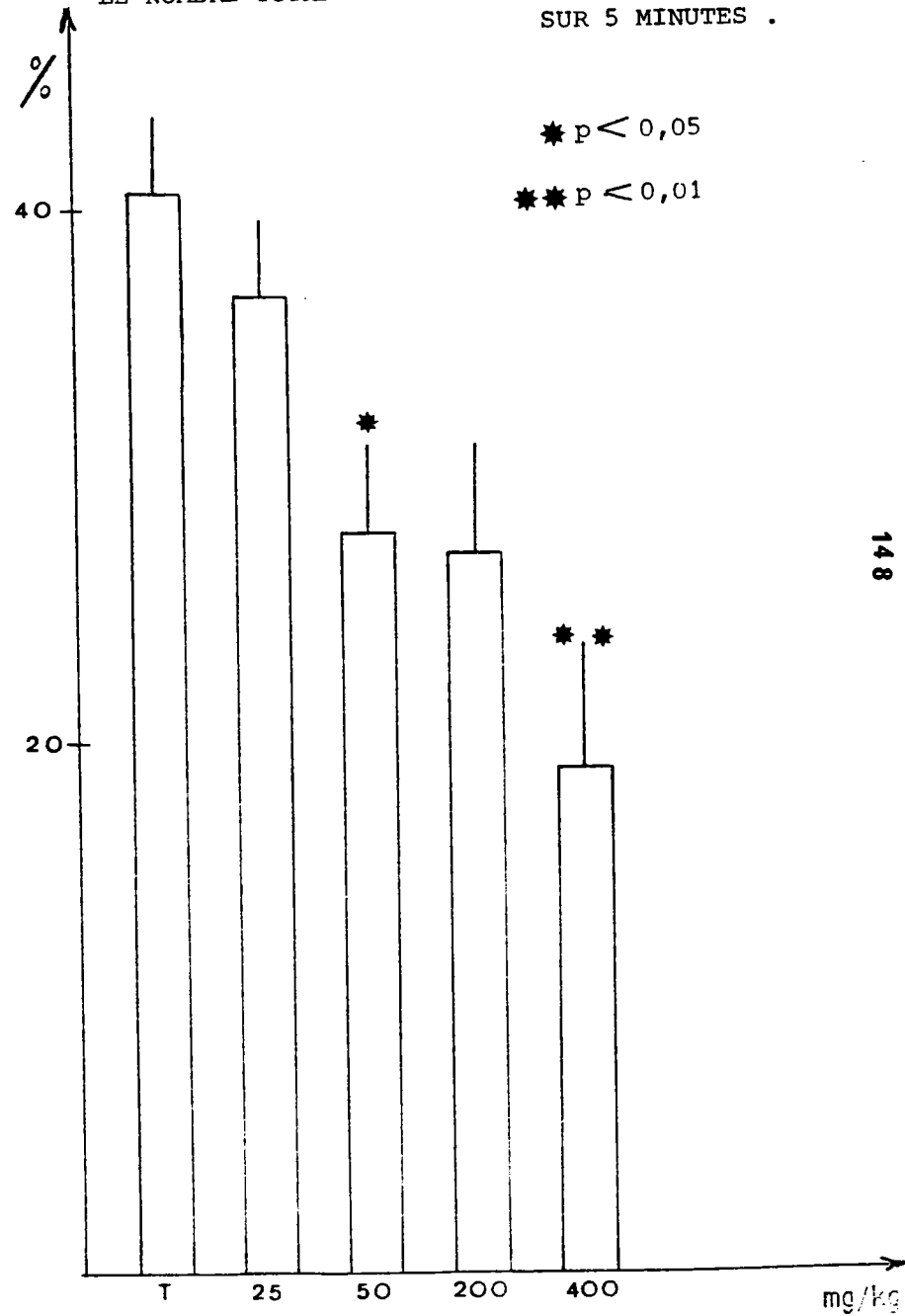
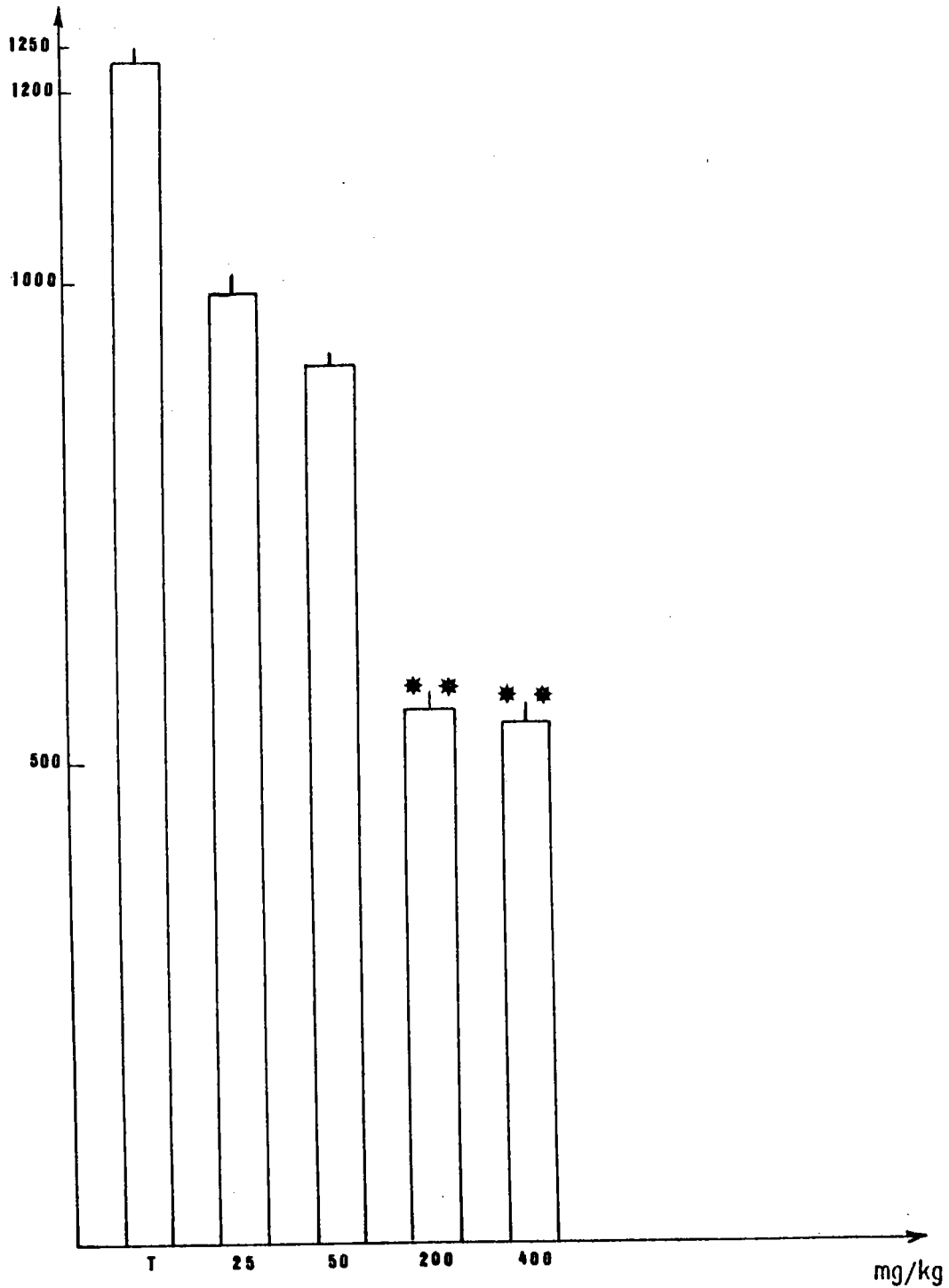


FIGURE 7 . EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE X.XANTHOXYLOIDES SUR L'ACTIVITE LOCOMOTRICE DES SOURIS (NOMBRE D'UNITES FRANCHIES EN 10 MINUTES) DANS LE TEST DU MILIEU NOUVEAU .

\* \*  $p < 0,01$



### Locomotion totale :

Sur la figure 7 on constate que l'activité locomotrice globale, dans les deux compartiments, diminue significativement dès la dose de 200 mg/kg.

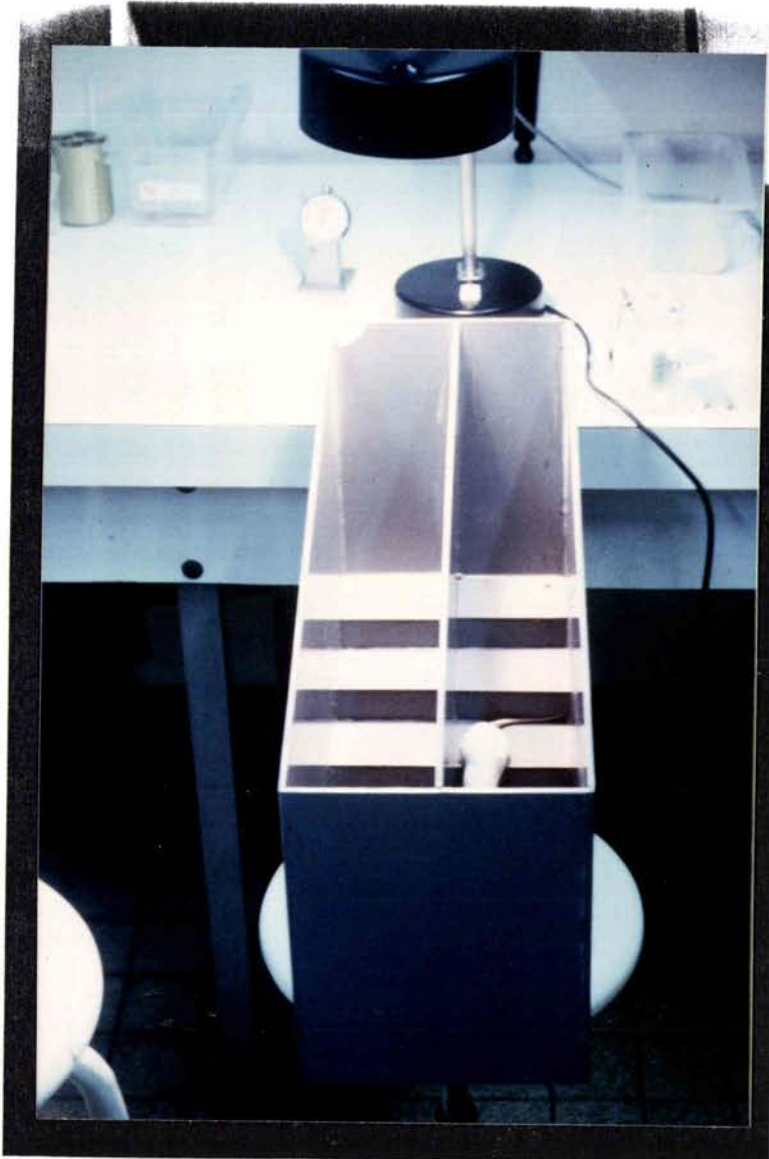
#### **6.2.1.4 Test de l'escalier**

##### **6.2.1.4.1 Protocole expérimental**

Le dispositif expérimental consiste en une enceinte en plexiglass opaque (47 x 10 x 25 cm), contenant un escalier composé de 5 marches de 3 cm de haut, 7 cm de profondeur et 10 cm de large (photographie 10).

La souris (Laboratoires Janvier, Le Genest) est retirée de sa cage d'élevage et déposée en bas de l'escalier, le dos tourné par rapport à celui-ci. L'enceinte est éclairée à l'aide d'une lampe à incandescence blanche. Le nombre de marches montées et le nombre de redressements sont comptabilisés pour chaque minute pendant 5 minutes.

PHOTOGRAPHIE 10 . LE TEST DE L'ESCALIER .



La plante est administrée 30 minutes avant le test, par voie I.P, (1 ml par 100 g de masse corporelle), les doses utilisées sont les suivantes :

- extrait aqueux de feuilles de X.xanthoxyloïdes : 50, 100, 200 et 400 mg/kg,
- extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines de X.xanthoxyloïdes : 50, 200 et 400 mg/kg,
- les lots témoins reçoivent du NaCl 0,9 ‰ par voie IP.

On administre aussi une benzodiazépine de référence, le clorazépate dipotassique (Tranxène<sup>R</sup>, Clin Midy, Montpellier) aux doses de 20, 40 et 80 mg/kg, dissous dans l'eau distillée.

#### **6.2.1.4.2 Analyses statistiques**

La moyenne des marches montées et des redressements de chaque groupe traité est comparée à celle du groupe témoin par le test de Mann Whitney Wilcoxon.

#### **6.2.1.4.3 Résultats**

Les résultats présentés dans les tableaux 10 et 11 ainsi que sur la figure 8 montrent que conformément aux données de la littérature, le clorazépate dipotassique diminue aussi bien le nombre de marches montées que le nombre de redressements.

Les deux extraits aqueux et hydro-alcoolique de X.xanthoxyloïdes par voie IP ne modifient pas significativement les marches montées et les redressements aux doses de 50, 100 et 200 mg/kg. Par contre, les deux extraits diminuent significativement les paramètres à la dose de 400 mg/kg.

Dans l'ensemble, on peut constater que le paramètre "redressement" est un paramètre plus sensible que le paramètre "marches montées" : des variations légères du nombre de marches montées se traduisent généralement par une augmentation ou une diminution plus nettes des redressements. On observe le même phénomène pour une Papavéracée à effets comparables, Eschscholzia californica (ROLLAND, 1988).

FIGURE 8 . EFFETS DES EXTRAITS DE X.XANTHOXYLOIDES ET DU CLORAZEPATE DIPOTASSIQUE SUR

□ LE NOMBRE TOTAL DE MARCHES MONTEES EN 5 MINUTES

▨ LE NOMBRE DE REDRESSEMENTS CUMULES SUR 5 MINUTES DANS LE TEST DE L'ESCALIER .

\*  $p < 0,05$   
 \*\*  $p < 0,01$   
 \*\*\*  $p < 0,001$

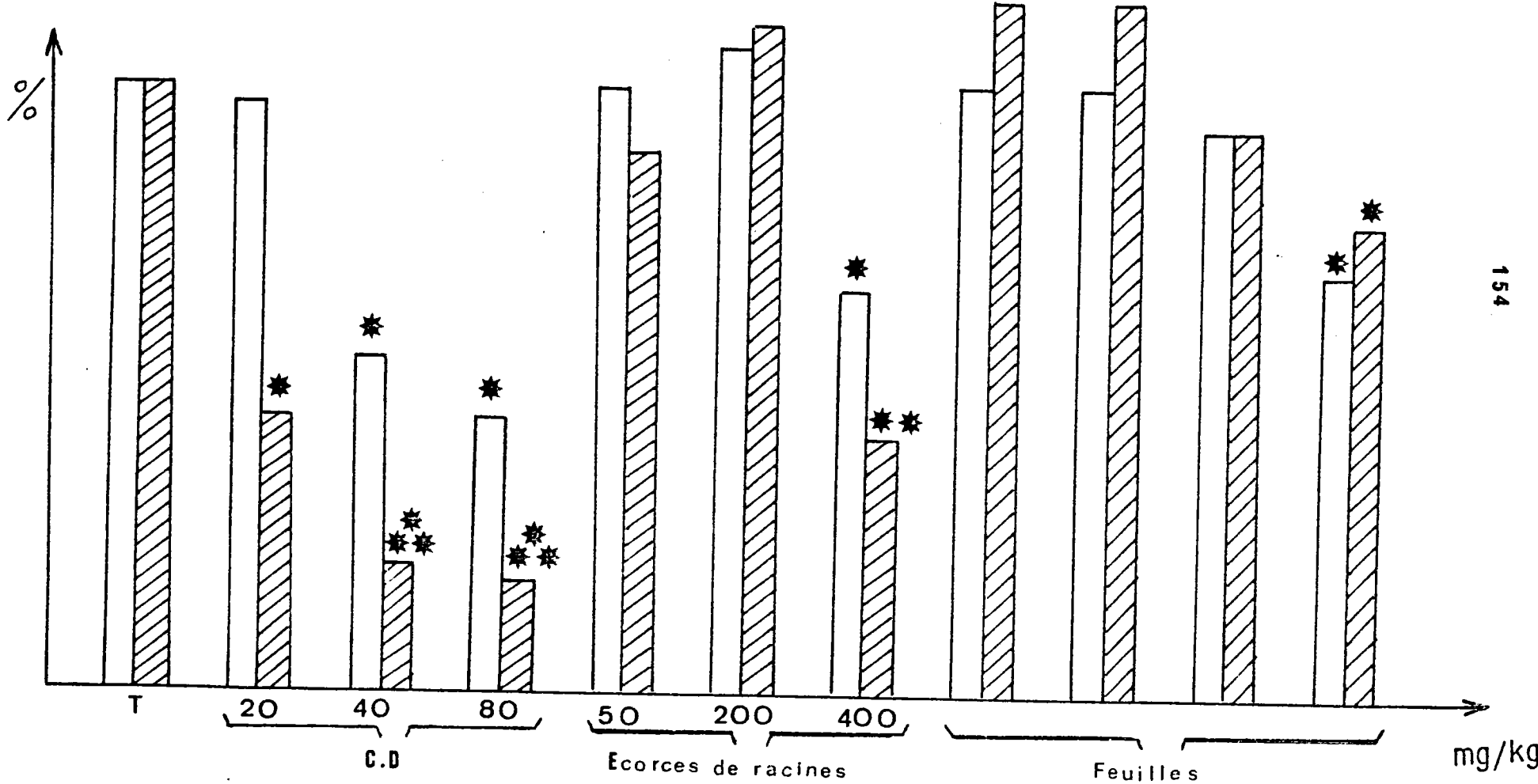


TABLEAU 10

EFFETS DU CLORAZEPATE DIPOTASSIQUE ET DES EXTRAITS DE X.XANTHOXYLOIDES  
SUR LE NOMBRE DE MARCHES MONTEES EN 5 MINUTES DANS LE TEST DE L'ESCALIER

Lots	Clorazépate dipotassique						Extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines de <u>X.xanthoxyloïdes</u>				Extrait aqueux de feuilles de <u>X.xanthoxyloïdes</u>				
	T	20	T	40	T	80	T	50	200	400	T	50	100	200	400
Doses en mg/kg T=NaCl 0,9 %	T	20	T	40	T	80	T	50	200	400	T	50	100	200	400
Nbre d'animaux par lot	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	20	20	20	20	20
Moyenne	40	39	40	22	33	15	37	37	39	24	40	40	40	37	
E.S.	3	11	3	9	4	6	3	3	3	3	3	1	2	2	2
Variation par rapport au lot témoin (%)	-3		-45		-55		/	0	+6	-33	/	0	0	-7	-30
P	NS		< 0,05		< 0,05		/	NS	NS	< 0,02	/	NS	NS	NS	< 0,05

TABLEAU 11

EFFETS DU CLORAZEPATE DIPOTASSIQUE ET DES EXTRAITS DE X.XANTHOXYLOIDESSUR LE NOMBRE DE REDRESSEMENTS CUMULES SUR 5 MINUTES  
DANS LE TEST DE L'ESCALIER

Lots	Clorazépate dipotassique						Extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines de <u>X.xanthoxyloïdes</u>				Extrait aqueux de feuilles de <u>X.xanthoxyloïde</u>			
	T	20	T	40	T	80	T	50	200	400	T	50	100	200
Doses en mg/kg T=NaCl 0,9 %	T	20	T	40	T	80	T	50	200	400	T	50	100	200
Moyenne	35	16	35	8	33	6	33	29	36	19	35	40	40	33
E.S.	2	5	2	3	4	2	4	4	3	3	2	2	4	2
Variation par rapport au lot témoin (%)	-55		-79		-82		/	-11	+10	-42	/	+14	+14	-7
P	< 0,05		< 0,001		< 0,001		/	NS	NS	< 0,01	/	NS	NS	NS

6.2.1.5 Discussion

Les quatre expériences effectuées mettent en évidence une activité sédatrice des extraits de X.xanthoxyloïdes.

Test de l'escalier :

les marches montées et les redressements diminuent significativement dès 400 mg/kg, pour les deux extraits.

Ces effets réducteurs de l'activité des souris correspondent donc à une sédation, pouvant être expliquée par une dépression agissant sur le système nerveux central, réduisant la réactivité des animaux aux stimuli extérieurs (et internes). Cette explication se vérifie lorsqu'on observe que la motilité, les redressements et la locomotion sont diminués dès la dose de 50 mg/kg (respectivement -22 et -10 %) dans les tests de l'activimètre en milieu familier et dans les tests d'exploration du milieu nouveau.

Ces tests sont peu contraignants, donc l'action sédative de la plante apparaît facilement, à des doses assez faibles. Par contre, dans le test de l'activimètre en situation contraignante, l'effet dépressif ne se manifeste qu'à partir de doses plus fortes. Il en est de même dans le test de l'escalier qui est un test générateur de stress ; la diminution de la locomotion n'est apparente qu'à partir de 400 mg/kg. Il faut savoir en effet que le fait d'introduire un petit rongeur comme la souris, de force, dans un milieu nouveau (escalier ou activimètre), représente une situation très sollicitante dans la mesure où cet animal, qui est territorial, subit de ce fait une rupture de la continuité topographique entre le milieu familier de l'animal et ce milieu nouveau. Ceci a pour effet d'activer significativement le système nerveux central de l'animal, ce qui traduit entre autres par une activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien (MISSLIN et coll., 1982).

De ce fait une substance aux propriétés sédatives agira avec plus d'efficacité sur un animal dont le niveau d'activation du système nerveux central sera bas, pour réduire encore l'activité de ce dernier. C'est davantage le cas lorsque l'animal est laissé dans un milieu familier, non stressant.

Cette action sédative et ce mode d'action sont tout à fait comparables à ceux que l'on observe lorsque l'on administre des benzodiazépines à doses élevées à des souris (MISSLIN et coll., 1975 ; MISSLIN et coll., 1976 ; MISSLIN, 1982).

Pour objectiver cette analogie de nos extraits avec les benzodiazépines nous allons donc tester la plante à des doses inférieures, dans des tests générateurs de stress, pour mettre en évidence une éventuelle activité anxiolytique de X.xanthoxyloïdes.

## 6.2.2 Propriétés anxiolytiques

### 6.2.2.1 Introduction

Nous venons de mettre en évidence l'existence de propriétés sédatives de X.xanthoxyloïdes comparables à celles des benzodiazépines. Ces propriétés, ainsi que l'interaction avec les barbituriques, que l'on retrouve chez ces tranquillisants mineurs vont orienter notre travail vers la recherche d'autres propriétés communes, comme les propriétés anxiolytiques.

Les benzodiazépines connaissent actuellement un succès grandissant, grâce à leurs propriétés calmantes: les situations stressantes de la vie moderne conduisent de nombreux sujets à rechercher une substance chimique qui procure une sensation de détente résultant de la diminution de l'anxiété du sujet, ainsi qu'une suppression des inhibitions liées à la situation stressante.

#### Anxiolyse chez l'homme et tests chez l'animal :

Si on admet que l'anxiété est un trouble psychique se traduisant par un sentiment d'insécurité, une crainte diffuse, sans objet réel ou définissable, on conçoit aisément qu'il est difficile de juger de l'apparition d'une telle perturbation chez les animaux de laboratoire. En effet, on ne peut savoir s'il existe, chez les animaux, des états subjectifs comparables à ceux de l'homme. Donc on ne peut parler, chez l'animal, de modèles de l'anxiété humaine (FIELDING et LAL, 1979 ; TREIT, 1984). La seule chose qu'il soit possible de faire, c'est de juger des modifications de comportement induites par l'administration de substances testées.

De fait, l'étude des effets des benzodiazépines sur le comportement animal a montré que ces substances entraînent à fortes doses de la sédation, se traduisant par une dépression de l'ensemble des séquences comportementales propres à une espèce animale donnée (FIELDING et LAL, 1979 ; RAFFAITIN et CUCHE, 1987). Par contre, à des doses non sédatives, les benzodiazépines présentent des effets paradoxaux puisque très souvent, elles augmentent la probabilité d'apparition de certains comportements. Ces effets ne sont paradoxaux qu'en apparence car ils s'expliquent par le fait qu'on ne les observe que lorsque les animaux sont confrontés à des situations qui comportent des aspects aversifs. Par exemple, lorsqu'on introduit de force un petit rongeur (rat, souris) dans une enceinte qu'il ne connaît pas, il aura tendance dans un premier temps à rester immobile ou à se mouvoir lentement dans le milieu inconnu. C'est une réaction normale traduisant l'insécurité dans laquelle l'animal est brusquement plongé. C'est précisément dans ce genre de situation que l'administration de faibles doses de benzodiazépines entraîne une réaction plus ou moins prononcée de l'inhibition comportementale induite par le stress.

En effet, le comportement d'un animal dans un environnement libre implique toutes ses fonctions nerveuses supérieures exprimées largement par le réflexe d'orientation, dont l'un des composants majeurs est le comportement d'exploration (SOKOLOV, 1963). Les benzodiazépines à faibles doses augmentent l'exploration chez les souris (THIEBOT et coll., 1973 ; MISSLIN et coll., 1975). C'est le cas du diazépam aux doses de 0,5 et 2mg/kg (ITOH et coll., 1968).

Les modifications comportementales prises en compte peuvent être:

- la réaction d'exploration d'un endroit inhabituel ;
- la peur vis à vis de l'expérimentateur ou de tout autre sujet ;
- le désir de fuite ;
- la défécation émotionnelle.

On peut aussi mettre l'animal dans une situation conflictuelle (test du conflit conditionné de Geller) (GELLER et SEIFTER, 1960). Dans un premier temps, on dresse l'animal à obtenir une récompense en accomplissant un geste. Lorsque l'apprentissage est bon et que l'animal ne fait plus d'erreurs, on rend le problème insoluble en associant une punition (choc électrique) à l'obtention de la récompense. L'animal adopte alors un comportement fixé, stéréotypé, il peut présenter des accès de colère, etc... Si l'on administre un anxiolytique, l'animal ne fait plus de fixation, il semble "analyser la situation" et prendre des risques calculés : à l'affolement succède une suite d'essais systématiques (MILLER, 1961 ; HANSON et STONE, 1964). Les propriétés désinhibitrices des anxiolytiques ont donc réduit l'intensité du conflit. Ceci a été démontré pour 3 benzodiazépines (chlordiazépoxyde, diazépam, oxazépam) et pour le pentobarbital.

Crawley et Goodwin (1980) ont imaginé d'utiliser une situation de conflit spontané chez la souris. Ces auteurs, s'appuyant sur la tendance de la souris à préférer des endroits sombres à des endroits éclairés, ont placé 2 cages côte à côte, l'une fortement éclairée, l'autre obscurcie. Ils introduisent la souris dans la cage sombre et enregistrent le nombre de transitions que l'animal effectue entre les 2 cages. En effet, les animaux marquent une nette préférence pour la cage sombre. Cependant, ils font de temps en temps des incursions dans la cage éclairée pour retourner ensuite dans la cage obscure. On peut donc supposer que les animaux sont placés dans une situation conflictuelle dans laquelle la tendance à préférer la cage sombre s'oppose à celle "d'explorer" le milieu nouveau. On constate que les benzodiazépines ont tendance à augmenter le nombre des transitions entre les 2 cages ; ce que les auteurs interprètent comme un effet "anti-conflit". Misslin (communication personnelle) a modifié cet appareil que nous décrirons ultérieurement.

Il a montré que les tranquillisants ont tendance à augmenter le temps passé par les souris dans la cage éclairée. Contrairement à Crawley et Goodwin, Misslin considère que les incursions dans la cage éclairée ne représentent pas vraiment des conduites d'exploration, mais des tentatives de fuite. En effet, il a montré que lorsqu'on place de force une souris dans une enceinte inconnue, ce n'est pas tant la nouveauté de la situation qui agit sur l'état motivationnel de l'animal que la façon contraignante avec laquelle il est confronté au nouveau (il ne peut, alors, choisir librement son approche du milieu nouveau. Cette situation déclenche des conduites qui représentent des tentatives d'échappement (locomotion, redressements) (1984, 1986).

Grâce à ces différents tests, on a considéré ces effets désinhibiteurs chez l'animal comme analogues de ce qu'il est convenu d'appeler, chez l'homme, les propriétés anxiolytiques ou tranquillisantes de ces molécules, et de nombreux auteurs utilisent le qualificatif d'anxiolytique (par commodité) pour l'appliquer à l'action désinhibitrice des benzodiazépines sur le comportement animal. Mais il doit être clairement précisé que, dans ce cas, le terme d'anxiolytique ne désigne pas un processus mental, mais a une valeur opératoire visant à qualifier des modifications induites par les benzodiazépines au niveau purement comportemental.

#### Les benzodiazépines et leur mode d'action :

Elles affectent de nombreux systèmes de neurotransmetteurs et neuromodulateurs (catécholamines, sérotonine, GABA, glycine, acétylcholine) mais apparemment de façon plutôt indirecte. Relier tel effet des benzodiazépines à telle interaction avec un quelconque neurotransmetteur reste difficile, malgré des travaux approfondis de Garratini et coll. (1973) et de Costa et Greengard (1975).

Les benzodiazépines ont plusieurs effets sur le métabolisme de la sérotonine dans le cerveau :

- elles diminuent la synthèse et le turn over de la 5 hydroxytryptamine ;
- elles inhibent la libération de l'acide 5 hydroxy 3 indolylacétique ;
- elles peuvent augmenter la concentration cérébrale de 5 HT. Ainsi, la réduction de l'activité sérotoninergique pourrait être à la base de l'activité anxiolytique des benzodiazépines : en effet, des antagonistes de la 5 HT entraînent, comme les antagonistes des <sup>récepteurs des</sup> benzodiazépines, une diminution de la résistance aux situations de conflit ;
- les benzodiazépines pourraient aussi exercer leurs effets sur le métabolisme de la 5 HT via une action sur le système du GABA (WANG et AGHAJANIAN, 1977). Elles semblent moduler l'augmentation de la perméabilité au Cl commandée par le GABA, grâce à des récepteurs aux benzodiazépines localisés sur un canal ionophore-récepteur GABA-récepteur benzo-canal Cl (OLSEN, 1981, 1982). Les mécanismes GABAergiques sont facilités dans les neurones de la zona reticulata de la substance noire, région du cerveau la plus riche en GABA (GERARDY, 1982). Ceci entraîne des propriétés anxiolytiques, anti-convulsivantes et sédatives (JENSEN, 1984) car l'excitabilité neuronale diminue alors. Tous les effets précédents découleraient de cette action, sauf les effets anti-conflit et anti-convulsivants (FIELDING et LAL, 1979 ; WEBER et coll., 1985) ;
- les benzodiazépines diminuent le turn over de la norépinéphrine (TAYLOR et LAVERTY, 1969) ;

- il y a souvent, avec les benzodiazépines, diminution de l'excitabilité du système limbique (régions hippocampiques et amygdaliennes) (RAFFAITIN et CUCHE, 1983).

En conséquence de ces interactions, on observe donc des effets désinhibiteurs des benzodiazépines dans divers tests anxiogènes. Nous allons comparer l'action de X.xanthoxyloïdes à celui des benzodiazépines dans ces divers tests.

#### **6.2.2.2 Test de l'activimètre en situation contraignante**

##### **6.2.2.2.1 Protocole expérimental**

Un extrait aqueux de feuilles de X.xanthoxyloïdes est administré par voie I.P (1 ml par 100 g de masse corporelle) 30 minutes avant le test, aux doses faibles de 12,5 et 25 mg/kg à des lots de 10 souris (Laboratoires Césal, Montmédy).

Un lot témoin de 10 souris reçoit du NaCl 0,9 % (1 ml par 100 g de masse corporelle).

Le protocole est le même que celui utilisé pour les doses plus fortes de X.xanthoxyloïdes (6.2.1.2) et on comptabilise la motilité des souris après 5 minutes.

#### 6.2.2.2.2 Analyses statistiques

Après analyse de variance, les valeurs moyennes de l'activité globale cumulée sur 5 minutes des lots traités sont comparées à la valeur moyenne du lot témoin à l'aide du test "t" de Student.

#### 6.2.2.2.3 Résultats

Les résultats sont présentés sur le tableau 12. On constate donc que l'extrait de X.xanthoxyloïdes induit une augmentation de la motilité des souris placées en situation contraignante, donc anxiogène, ceci nous permet déjà de suggérer une action anxiolytique de la plante à faibles doses. Nous allons confirmer ces propriétés par deux autres tests.

Tab 12 : Effets de l'extrait aqueux de feuilles de *X.xanthoxyloïdes* sur la motilité de souris placées dans une situation contraignante (cumuls sur 5 minutes).

Lots	Témoin NaCl 0,9 %	<u>X.xanthoxyloïdes</u> en mg/kg	
		12,5	25
Nombre d'animaux par lot	10	10	10
Moyenne	593	692	770
E.S.	49	63	78
Variation par rapport aux témoins (%)	/	+17	+30
P	/	< 0,01	< 0,001

### 6.2.2.3 Test de l'escalier

#### 6.2.2.3.1 Protocole expérimental

Le test est réalisé dans les mêmes conditions qu'avec les doses plus fortes de X.xanthoxyloïdes, on comptabilise le nombre de marches montées et le nombre de redressements des souris (Laboratoires Janvier, Le Genest) pendant 5 minutes. 30 minutes avant le test, on injecte par voie I.P, les produits à raison de 1 ml par 100 g de masse corporelle:

- 3 lots de 10 souris reçoivent la benzodiazépine de référence, le clorazébate dipotassique (Tranxène<sup>R</sup>, Clin Midy, Montpellier) aux doses de 1,5 et 10 mg/kg dissous dans l'eau distillée ;.
- 1 lot de 10 souris reçoit l'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines de X.xanthoxyloïdes à 25 mg/kg ;
- 3 lots de 10 souris reçoivent l'extrait aqueux de feuilles de X.xanthoxyloïdes aux doses de 6,25 ; 12,5 et 25 mg/kg ;
- les lots témoins reçoivent du NaCl 0,9 % dans les mêmes conditions.

#### 6.2.2.3.2 Analyses statistiques

La moyenne des marches montées et des redressements de chaque groupe traité est comparée à celle du groupe témoin par le test de Mann-Whitney-Wilcoxon.

### 6.2.2.3.3 Résultats

Ils sont présentés sur les tableaux 13 et 14.

Conformément aux données classiquement observées, le clorazépate dipotassique augmente l'activité des souris aux doses de 1,5 et 10 mg/kg. Dès 10 mg/kg, on observe une diminution de l'effet anxiolytique qui va, comme on l'a vu auparavant (6.2.1.4.3) s'inverser à plus forte dose pour devenir sédatif.

Avec l'extrait aqueux de feuilles de X.xanthoxyloïdes, on n'observe aucun effet significatif. Par contre, l'extrait hydroalcoolique d'écorces de racines augmente significativement les marches montées : + 34 % à 25 mg/kg

Tab 13 : Effets du clorazébate dipotassique et des extraits de X.xanthoxyloïdes sur le nombre de marches montées en 5 minutes dans le test de l'escalier.

LOTS	Clorazébate dipotassique						Extrait hydro-alcoolique d'écorces de racine		Extrait aqueux de feuilles de <u>X.xanthoxyloïdes</u>					
	T	1	T	5	T	10	T	25	T	6,25	T	12,5	T	25
Doses en mg/kg T=NaCl 0,9 %	T	1	T	5	T	10	T	25	T	6,25	T	12,5	T	25
Nombre d'animaux par lot	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Moyenne	43	55	38	77	43	60	37	49	38	36	38	34	40	39
E.S.	3	4	3	5	3	7	3	2	3	3	3	3	3	2
Variation par rapport au lot témoin (%)	+28		+103		+40		+34		-5		-11		-1	
P	<0,01		<0,001		<0,05		<0,05		NS		NS		NS	

Tab 14 : Effets du clorazépate dipotassique et des extraits de X.xanthoxyloïdes sur le nombre de redressements cumulés sur 5 minutes dans le test de l'escalier.

LOTS	Clorazépate dipotassique						Extrait hydro-alcoolique d'écorces de racine		Extrait aqueux de feuilles de <u>X.xanthoxyloïdes</u>					
	T	1	T	5	T	10	T	25	T	6,25	T	12,5	T	20
Doses en mg/kg T=NaCl 0,9 %														
Moyenne	35	57	37	49	35	46	33	42	37	38	37	35	35	35
E.S.	3	3	3	3	3	4	4	4	3	6	3	4	2	2
Variation par rapport au lot témoin (%)	+63		+32		+31		+29		+3		-5		+3	
P	<0,001		<0,001		<0,05		NS		NS		NS		NS	

L'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines de X.xanthoxyloïdes induit lui, une augmentation significative des marches montées de 34 % et des redressements de 29 %. Nous allons confirmer cet effet à l'aide d'un 3ème test.

#### 6.2.2.4 Test de l'enceinte claire obscure

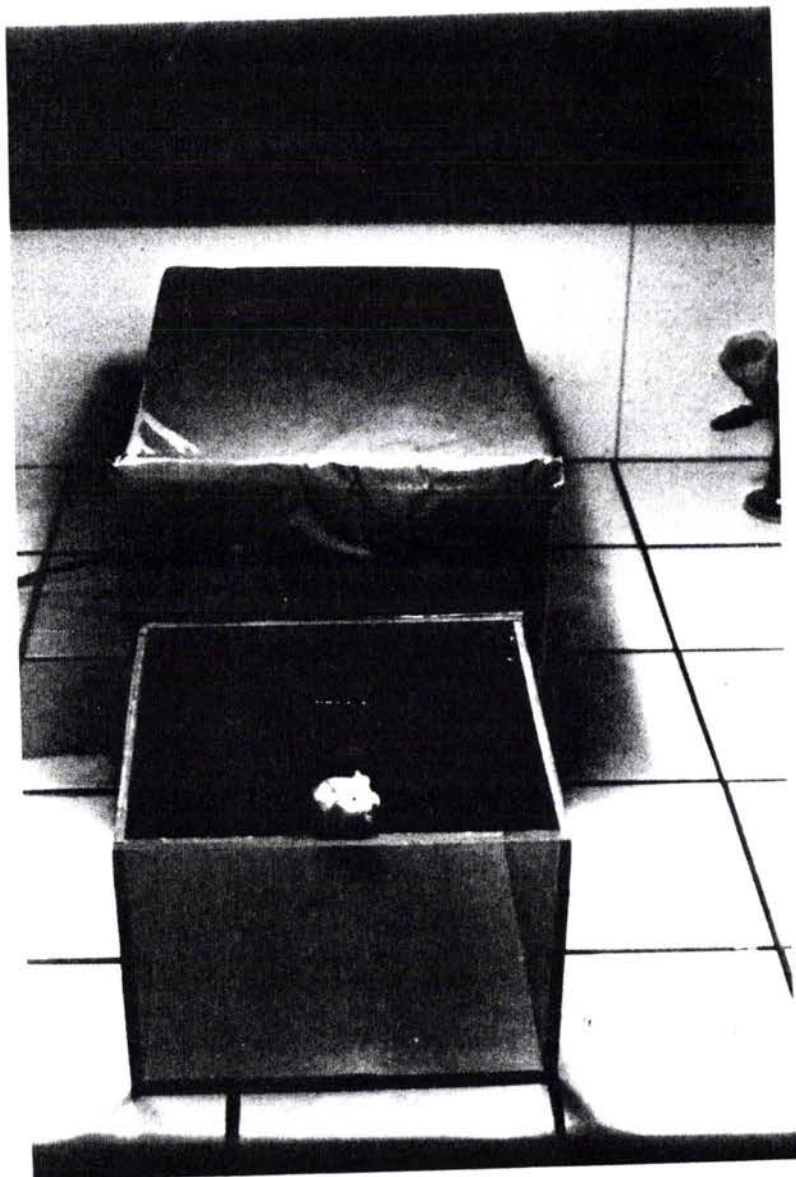
##### 6.2.2.4.1 Protocole expérimental

Le test est inspiré de la technique de Crawley et Goodwin (1980). L'appareil est constitué de deux cages en plexiglass (20 X 20 X 20 cm) reliées entre elles par un court tunnel. A la base de chaque cage, sur l'une des faces, se trouve une ouverture permettant à l'animal de passer d'une cage à l'autre. L'une des cages est fortement éclairée par une lampe à incandescence blanche, tandis que l'autre est rendue obscure au moyen d'un cache (photographie 11).

- 6 lots de 10 souris (Laboratoires Janvier, Le Genest) reçoivent, 30 minutes avant le test, une injection par voie I.P d'un des deux extraits aqueux de feuilles ou hydro-alcoolique d'écorces de racines de X.xanthoxyloïdes aux doses de 12,5 ; 25 et 50 mg/kg.
- Un lot de 10 souris reçoit du NaCl 0,9 % dans les mêmes conditions.

Au début du test, l'animal est retiré de sa cage d'élevage et placé dans le compartiment éclairé. Le test dure 5 minutes et l'on enregistre le temps passé par chaque animal dans la cage claire, ainsi que le nombre de passages d'une cage à l'autre (transitions) le nombre de redressements et le temps indexé (temps passé dans la cage claire / nombre de transitions).

PHOTOGRAPHIE 11 . LE TEST DE L'ENCEINTE CLAIRE OBSCURE .



#### **6.2.2.4.2 Analyses statistiques**

L'homogénéité des variances est vérifiée par le test de Bartlett. Les performances des lots traités et des lots témoins sont comparés globalement à l'aide du test "F" de l'analyse de variance et si les résultats différent de façon significative, ils sont comparés deux à deux à l'aide du test de Newman Keuls.

#### **6.2.2.4.3 Résultats**

Ils sont présentés sur les tableaux 15, 16, 17 et 18. Le temps passé dans la cage claire est augmenté à toutes les doses, mais de façon significative seulement à 25 mg/kg (extrait aqueux de feuilles).

Le nombre de transitions a tendance à diminuer, à toutes les doses. Quant aux redressements, ils suivent cette même tendance.

Le temps indexé est nettement augmenté, de façon significative à 25 mg/kg (extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines).

Tab 15 : Effets des extraits de X.xanthoxyloïdes sur le temps passé par les souris dans la cage claire, dans le test de l'enceinte claire obscure.

LOTS	NaCl 0,9%	Extrait hydro- alcoolique d'écorces de racines			Extrait aqueux de feuilles		
		12,5	25	50	12,5	25	50
Doses en mg/kg		12,5	25	50	12,5	25	50
Nombre d'ani- maux par lot	10	10	10	10	10	10	10
Moyenne	101	112	140	124	122	151	124
E.S.	13	13	18	8	11	16	9
Variation par rapport au lot témoin (%)	/	+11	+39	+23	+21	+50	+22
P	/	NS	NS	NS	NS	0,05	NS

Tab.16 : Effets des extraits de X.xanthoxyloïdes sur le nombre de transitions effectuées par les souris dans le test de l'enceinte claire obscure.

LOTS	NaCl 0,9%	Extrait hydro- alcoolique d'écorces de racines			Extrait aqueux de feuilles		
		12,5	25	50	12,5	25	50
Doses en mg/kg		12,5	25	50	12,5	25	50
Nombre d'ani- maux par lot	10	10	10	10	10	10	10
Moyenne	9	8	7	8	9	8	8
E.S.	1	1	0,7	0,6	2	1	1
Variation par rapport au lot témoin (%)		-11	-22	-11	-4	-7	-11
P		NS	NS	NS	NS	NS	NS

Tab 17 : Effets des extraits de X.xanthoxyloïdes sur le nombre de redressements des souris dans le test de l'enceinte claire obscure.

LOTS	NaCl 0,9%	Extrait hydro- alcoolique d'écorces de racines			Extrait aqueux de feuilles		
		12,5	25	50	12,5	25	50
Doses en mg/kg		12,5	25	50	12,5	25	50
Nombre d'ani- maux par lot	10	10	10	10	10	10	10
Moyenne	18	13	13	13	14,5	16	14
E.S.	3	0,3	2	1,6	2	2	2
Variation par rapport au lot témoin (%)		-28	-28	-28	-19	-11	-22
P		NS	NS	NS	NS	NS	NS

Tab 18 : Effets des extraits de X.xanthoxyloïdes sur le temps indexé dans le test de l'enceinte claire obscure.

LOTS	NaCl 0,9%	Extrait hydro- alcoolique d'écorces de racines			Extrait aqueux de feuilles		
		12,5	25	50	12,5	25	50
Doses en mg/kg		12,5	25	50	12,5	25	50
Nombre d'ani- maux par lot	10	10	10	10	10	10	10
Moyenne	11	17	29	16	16	21	16
E.S.	1	3	12	2	1	4	1
Variation par rapport au lot témoin (%)		+54	+164	+45	+45	+91	+45
P		NS	<0,05	NS	NS	<0,05	NS

#### 6.2.2.5 Discussion

Nous avons vu en introduction qu'une souris placée de force dans une enceinte inconnue subissait des réactions de stress qui se traduisent, entre autres, par une inhibition du comportement que les benzodiazépines, à faible dose, restreignent.

Les données de la littérature sont confirmées (MISSLIN et coll., 1975) : dans le test anxiogène (test de l'escalier) où nous avons utilisé la benzodiazépine de référence (clorazébate dipotassique), l'inhibition du comportement de la souris en situation anxiogène est fortement réduite, aussi bien pour ce qui est des marches montées que les redressements ; ces deux paramètres sont significativement augmentés (respectivement + 103 % et + 32 % à 5 mg/kg). Donc le clorazébate dipotassique, à faible dose, stimule la réactivité émotionnelle des souris en situation stressante : on peut admettre qu'il s'agit là de propriétés "anxiolytiques".

Les extraits de X.xanthoxyloïdes présentent, dans l'ensemble, des résultats comparables à ceux du clorazépate dipotassique, avec des augmentations des paramètres similaires pour des doses pratiquement doublées. Placées en situation contraignante, les souris voient leur activité augmentée significativement après traitement avec l'extrait végétal (+ 30 % à 25 mg/kg). Il en est de même pour le test de l'escalier où l'augmentation significative des marches montées traduit bien la diminution d'une inhibition du comportement dans une situation aversive ou stressante (+ 34 % pour les marches et + 29 % pour les redressements à 25 mg/kg). Enfin, dans le test de l'enceinte claire-obscur, la durée du séjour dans la cage claire est augmentée significativement (+ 50 % à 25 mg/kg), ce qui, d'après les travaux de Crawley et coll. (1980), va de pair avec une "désinhibition" : en effet, des souris témoins, dans ce test, avaient une préférence pour la cage obscure.

On remarque quelques variations parmi les extraits utilisés : l'extrait aqueux de feuilles est moins actif dans le test de l'escalier, tandis que l'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines est moins actif dans le test de l'enceinte claire-obscur. Néanmoins, de façon globale, l'augmentation des paramètres comportementaux dans les divers tests anxiogènes permet de suggérer une tendance à un effet anxiolytique des extraits de X.xanthoxyloïdes.

Par ailleurs, les résultats obtenus en 6.2.1 confirment l'existence de propriétés sédatives de X.xanthoxyloïdes : à forte dose, les extraits végétaux diminuent les divers paramètres comportementaux. Ainsi peut-on constater que X.xanthoxyloïdes réunit 2 effets s'apparentant étroitement à ceux que les tranquillisants mineurs classiques, les benzodiazépines, exercent sur le comportement animal : sédation à forte dose, désinhibition comportementale à faible dose (QUOCK et coll., 1987).

Remarque : Dans le test de l'escalier, les effets des benzodiazépines connus dans la littérature sont retrouvés pour l'extrait végétal (6.2.1.4.3) :

- à fortes doses, sédatives, on constate que les redressements sont plus sensiblement diminués que les marches montées ;
- à faibles doses, "anxiolytique", c'est le paramètre "marches montées" qui subit le plus de variations (6.2.2.3.3).

Ces variations caractéristiques des benzodiazépines se retrouvent pour X.xanthoxyloïdes, ce qui confirme encore les propriétés comparables de ces 2 composés. Pour approfondir cette comparaison, nous allons tester l'effet d'un antagoniste des benzodiazépines sur l'extrait végétal : s'il y a interaction, ceci précisera encore notre profil pharmacologique de X.xanthoxyloïdes.

### 6.2.3 Etude de l'interaction entre X.xanthoxyloïdes et un antagoniste des benzodiazépines.

#### 6.2.3.1 Protocole expérimental

Les animaux utilisés proviennent du laboratoire de psychophysiologie de Strasbourg.

L'antagoniste utilisé est le RO.15.1788, qui agit par blocage des sites récepteurs des benzodiazépines. Il antagonise ainsi à forte dose, certains effets comportementaux des benzodiazépines ou de l'alcool (FILE et coll., 1986 ; BELZUNG et coll., 1987).

On va donc observer, dans un test comportemental, l'effet de X.xanthoxyloïdes seul, comparé à l'effet de X.xanthoxyloïdes associé au RO.15.1788, pour déceler une éventuelle interaction entre les deux substances, ce qui permettrait de supposer que l'extrait étudié agit au niveau des récepteurs des benzodiazépines.

Une demi heure avant le test, des lots de dix souris reçoivent les différents produits à tester, par voie IP :

- extrait aqueux de feuilles de X.xanthoxyloïdes, à la dose de 400 mg/kg,
- extrait aqueux de feuilles de X.xanthoxyloïdes 400 mg/kg associé au RO.15.1788 (laboratoires Hoffman - Laroche, Bâle, Suisse) à la dose de 10 mg/kg,

- midazolam (benzodiazépine de référence) à la dose de de 2 mg/kg,
- midazolam 2 mg/kg associé au RO.15.1788 à la dose de 10 mg/kg,
- RO.15.1788 à la dose de 10 mg/kg,
- NaCl 0,9 %.

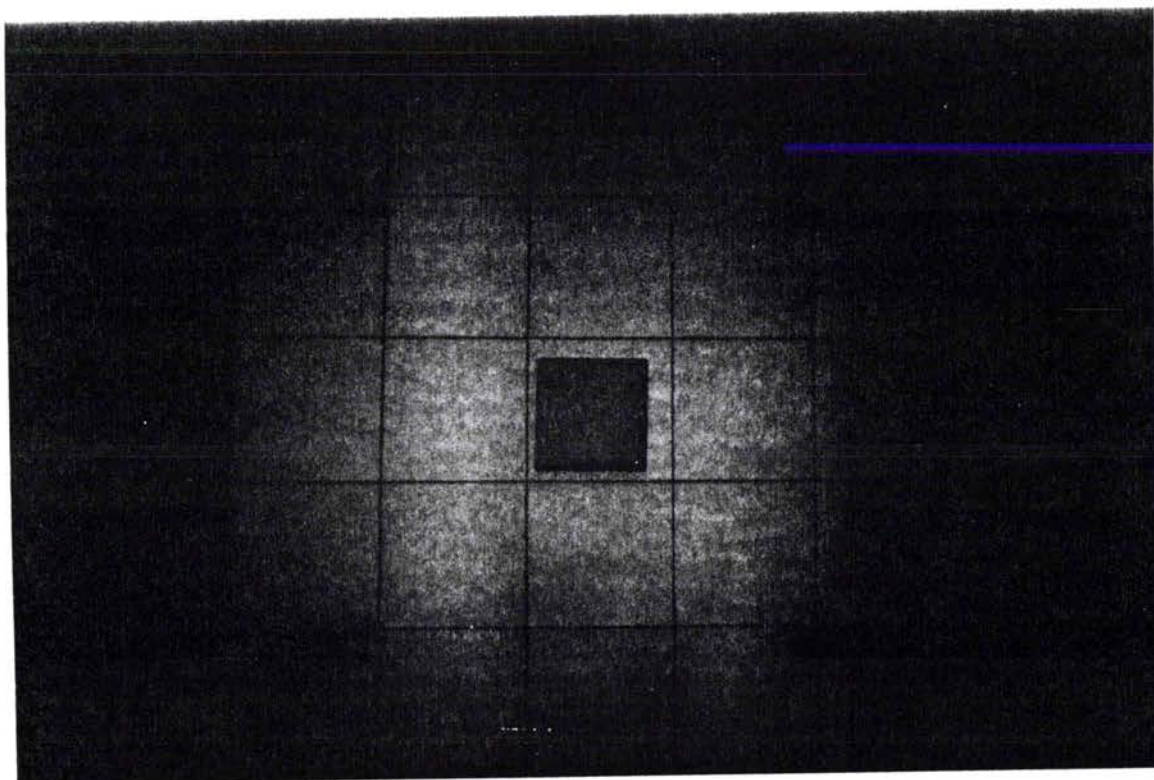
Les souris sont placées de force dans l'open-field modifié 30 minutes après l'injection. Ce test a longtemps été considéré comme test de "situation libre" depuis son invention par Hall (1934) car on pensait que cet appareil permettait de faire apparaître chez l'animal d'importantes réactions "émotionnelles". Or la situation dans laquelle l'animal est placé, est entièrement nouvelle pour lui, sans aucune possibilité de refuge dans un endroit familier.

Le test perturbe donc fortement le comportement exploratoire de l'animal.

Il s'agit d'une enceinte carrée (50 X 40 cm) dans laquelle sont placés quatre objets de forme parallélépipédique. Ces colonnettes (2 X 2 X 6 cm) sont disposées de façon symétrique sur le plancher qui est divisé en 25 carrés de 10 cm de côté.

Au centre de l'appareil se trouve une plate-forme carrée (L = P = 8,5 cm, h = 2,5 cm) sur laquelle les souris peuvent grimper. L'open-field est éclairé par une ampoule (100 watts) disposée en dessous du plancher constitué par une plaque de verre translucide. (photographie 12)

PHOTOGRAPHIE 12 . LE TEST DE L'OPEN-FIELD .



Au début du test, l'animal est retiré de sa cage d'élevage et placé dans l'open-field. Chaque sujet est testé en une seule séance de 5 minutes.

On enregistre le nombre de carrés traversés (ce qui définit aussi l'activité locomotrice), ainsi que les redressements effectués :

- soit contre les parois de l'appareil,
- soit contre les colonnettes,
- soit contre la plate forme.

#### **6.2.3.2 Analyses statistiques**

L'homogénéité des variances est vérifiée par le test de Bartlett.

Les performances des animaux sont testées à l'aide de l'analyse de variance, suivie du test de comparaisons multiples de Newman - Keuls.

### 6.2.3.3 Résultats

Ils sont présentés sur les figures 9 et 10.

- La benzodiazépine de référence, le midazolam, diminue significativement la locomotion et le nombre de redressements dans le test de l'open-field. La dose utilisée, qui est de 2 mg/kg, est donc bien une dose sédatrice.

Quand le midazolam est associé au RO.15.1788, les deux paramètres ne sont plus significativement diminués.

Par contre, il y a une différence significative entre les valeurs des deux paramètres après traitement au midazolam et ceux après traitement au midazolam + RO, donc l'antagonisme du RO.15.1788 vis à vis du midazolam est très net, ce qui confirme les données récentes de la littérature (FILE et coll., 1986 ; BELZUNG et coll., 1987).

- Le RO.15.1788, injecté seul, augmente significativement les redressements et a tendance à augmenter la locomotion. Ceci est en contradiction avec les résultats de Richards et Möhler (1984) selon lesquels le RO.15.1788 n'aurait pas d'effet pharmacologique propre.

- La figure 9 et le tableau 19 présentent les résultats concernant X.xanthoxyloïdes. On observe

Figure 9 : Influence du R0. 15. 1788 vis-à-vis des effets de l'écorce de racines de X. xanthoxyloïdes (extrait hydro-alcoolique) dans l'open-field. En abscisses figurent les doses testées ; en ordonnées sont reportés les valeurs moyennes de chaque paramètre.

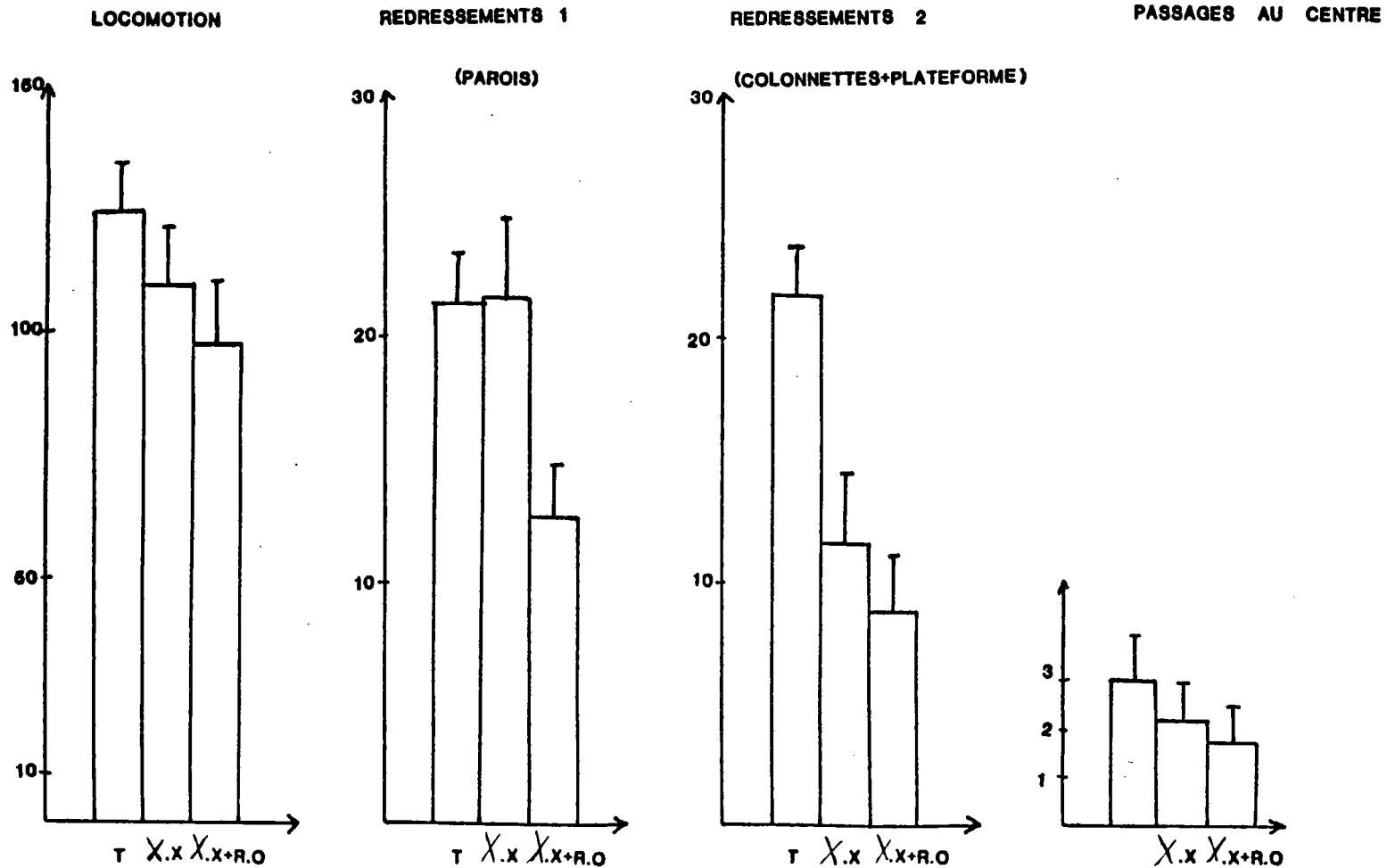


FIGURE 10 . EFFETS DU MIDAZOLAM ADMINISTRE SEUL OU COMBINE AVEC LE RO 15.1788  
SUR L'ACTIVITE DES SOURIS PLACEES EN OPEN-FIELD .

\*\* p < 0,01 MID/TEMOIN

\* p < 0,05 RO/TEMOIN

\*\* p < 0,01 MID/MID + RO

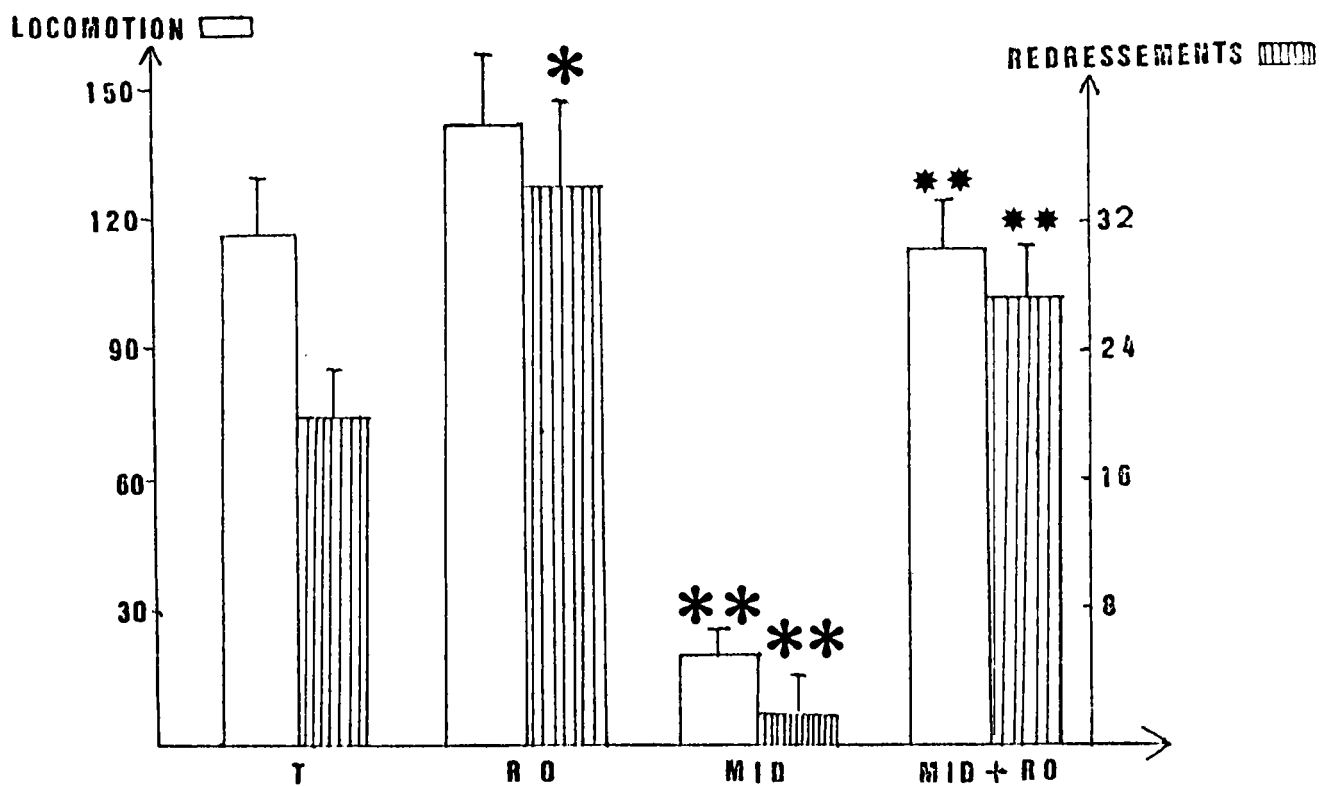


Tableau 19 : Influence du RO.15.1788 sur les effets des feuilles de X.xanthoxyloïdes (extrait aqueux) : test de l'open-field modifié.

Témoins NaCl 0,9 ‰

Paramètre	Locomotion	Redressements 1	Redressements 2 (colonnettes + plate forme)	Passage au centre
Moyenne	125	21	22	3
E.S.	10	2	2	1

X.xanthoxyloïdes 400 mg/kg

Paramètre	Locomotion	Redressements 1 (parois)	Redressements 2 (colonnettes + plate forme)	Passage au centre
Moyenne	110	22	12	2
E.S.	11	3	3	1
% par rapport aux témoins	- 12	+ 1	- 47	- 27
P	NS	NS	< 0,05	NS

Tableau 19 (suite) :

X.xanthoxyloïdes 400 mg/kg + RO.15.1788 10 mg/kg

Paramètre	Locomotion	Redressements 1 (parois)	Redressements 2 (colonnettes + plate forme)	Passage au centre
Moyenne	98	13	9	2
E.S.	13	2	3	1
% par rap- port aux témoins	- 22	- 41	- 60	- 43
X.x P : + /T RO	NS	NS	< 0,05	NS
X.x P : + /X.x RO	NS	NS	NS	NS

une diminution significative des redressements (-47%) avec X.xanthoxyloïdes 400mg/kg. Ceci est tout à fait en accord avec les effets sédatifs observés dans les divers tests comportementaux: la dépression du système nerveux central due à X.xanthoxyloïdes entraîne une diminution de l'activité exploratrice, et donc des redressements . Mais cette diminution n'est pas antagonisée par le RO 15.1788: elle reste significative(-60%) quand les souris reçoivent X.xanthoxyloïdes + RO 15.1788. Pour les autres paramètres (locomotion, passages au centre, redressements contre les parois), on note une diminution due à X.xanthoxyloïdes bien que non significative : donc tous les paramètres suivent la même tendance, et cette tendance n'est jamais antagonisée par le RO 15.1788 : il n'y a jamais de différence significative entre les lots traités avec X.xanthoxyloïdes et ceux traités avec X.xanthoxyloïdes + RO 15-1788 (tableau 19) .

Donc il n'existe pas d'interaction visible entre X.xanthoxyloïdes et l'antagoniste des benzodiazépines, le RO 15.1788 . Mais d'après certains auteurs, le RO 15.1788 pourrait ne pas modifier les paramètres comportementaux des animaux traités avec les benzodiazépines . C'est ce que nous avons constaté ici .

Donc dans l'état actuel de nos connaissances, nous ne pouvons pas donner de précisions sur le site d'action de X.xanthoxyloïdes par rapport à celui des benzodiazépines . Pour compléter l'étude des effets

comportementaux de X.xanthoxyloïdes, il est nécessaire de préciser la cinétique d'action de la plante, ainsi que les voies d'administration par lesquelles ses effets se manifestent .

#### **6.2.4 Etude de la cinétique d'action de la plante à l'aide du test de l'escalier.**

##### **6.2.4.1 Protocole expérimental**

Le dispositif est semblable à celui utilisé en 6.2.1.4 mais on injecte en IP les extraits hydro-alcoolique d'écorces de racines et aqueux de feuilles 15 minutes, 30 minutes, 1 heure, 2 heures, 4 heures ou 6 heures avant le test, à la dose de 800 mg/kg. Au lot témoin, on injecte du NaCl 0,9 ‰, 30 minutes avant le test.

On comptabilise toujours le nombre de marches montées et le nombre de redressements pour chaque minute pendant 5 minutes.

##### **6.2.4.2 Analyses statistiques**

La moyenne des marches montées et des redressements de chaque groupe traité est comparée à celle du groupe témoin par le test de Mann - Whitney - Wilcoxon.

### 6.2.4.3 Résultats

Ils sont présentés dans les tableaux 20 et 21.

- L'extrait aqueux de feuilles induit une diminution du nombre de marches montées et des redressements respectivement de 47 et 52 %, significative dès 15 minutes après l'injection.

Cette diminution restera significative encore 6 heures après l'injection (respectivement - 37 et - 36 %), ce qui montre donc que cet extrait a une action durable.

Néanmoins, l'effet maximal sur les 2 paramètres est observé 30 minutes après l'injection (respectivement - 63 et - 76 %).

Ceci confirme donc le choix de nos protocoles expérimentaux où les tests sont effectués 30 minutes après les injections IP.

- Les effets de l'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines sont moins nets dans ce test.

Néanmoins, on observe une diminution significative du nombre de marches montées 6 heures après l'injection (- 21 %), ce qui montre ici encore que l'effet de l'extrait persiste durablement après l'injection.



Tableau 21 : Effets des extraits de X.xanthoxyloïdes injectés à des temps variables, avant le test de l'escalier, sur le nombre de redressements cumulés sur 5 Minutes.

LOTS	NaCl 0,9 %	extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines						extrait aqueux de feuilles					
		15 mn	30 mn	1 h	2 h	4 h	6 h	15 mn	30 mn	1 h	2 h	4 h	6 h
Temps d'injection avant le test	30 mn												
Moyenne	33	31	40	30	37	27	38	16	8	21	12	20	21
E.S.	3	3	2	2	2	5	4	3	2	3	2	4	2
Variation par rapport au lot témoin (%)	/	- 6	+ 21	- 9	+ 12	- 18	+ 15	- 52	- 76	- 36	- 64	- 39	- 36
P	/	NS	< 0,05	NS	NS	< 0,05	NS	< 0,01	< 0,01	< 0,05	< 0,01	< 0,05	< 0,05

### 6.2.5 Etude de l'activité de la plante par voies orale et sous cutanée.

#### 6.2.5.1 Protocole expérimental

L'efficacité des extraits sur le comportement ayant été mise en évidence après injection IP, il est nécessaire de rechercher si une activité persiste quand les extraits sont administrés per os.

Pour ceci, 1 heure avant les tests, on administre les extraits aqueux de feuilles ou hydro-alcoolique d'écorces de racines, par gavage.

Les tests utilisés sont :

- l'interaction avec le pentobarbital sodique à dose infra-hypnotique (25 mg/kg),
- l'activimètre en situation familière,
- l'activimètre en situation contraignante,
- le test de l'escalier.

Les injections sous cutanées se feront 20 minutes, 30 minutes ou 1 heure avant le test, pour déterminer le temps de latence de l'extrait par cette voie d'injection.

Les conditions de mise en oeuvre des tests sont les même que celles décrites dans les chapitres précédents.

### 6.2.5.2 Analyses statistiques

On effectue les mêmes analyses que lors des tests effectués avec des injections IP.

### 6.2.5.3 Résultats

- le tableau 22 donne les résultats du test d'interaction avec le pentobarbital.

Les 2 extraits sont actifs et potentialisent significativement l'action du pentobarbital, quand ils sont administrés par voie orale.

Tableau 22 : Effet inducteur du sommeil après traitement à une dose infra-hypnotique de pentobarbital sodique : effets des extraits aqueux de feuilles et hydro-alcoolique d'écorces de racines de X.xanthoxyloïdes par voie PO.

Produit	Dose en mg/kg	Nombre de souris par lot	% d'endormissement	P
Extrait aqueux de feuilles	800	10	60	< 0,05
	1 600	10	60	< 0,05
Extrait hydro alcoolique d'écorces de racines	1 000	10	70	< 0,01
NaCl 0,9 %		10	10	/

- la figure 11 donne l'activité des souris dans le test de l'activimètre en situation contraignante, après gavage avec l'extrait aqueux de feuilles de X.xanthoxyloïdes aux doses de 800 et 1 600 mg/kg.

Les extraits ont été dilués dans l'excipient CS 1944 à 20 % pour essayer d'augmenter leur efficacité.

Malgré cela, les extraits n'ont pas d'effet significatif quand ils sont administrés par voie orale dans ces tests.

- la figure 12 représente la motilité et les redressements des souris, en situation familière, traitées avec l'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines administré par voie orale.

Les extraits sont dilués dans le même excipient, on observe une diminution de la motilité (- 32 %) et des redressements (- 43 %) à la dose de 1 000 mg/kg.

FIGURE 12 . EFFETS DE L'EXTRAIT HYDRO-ALCOOLIQUE D'ECORCES DE RACINES DE X.XANTHOXYLOIDES SUR L'ACTIVITE DES SOURIS DANS UN MILIEU FAMILIER (ACTIVIMETRE)

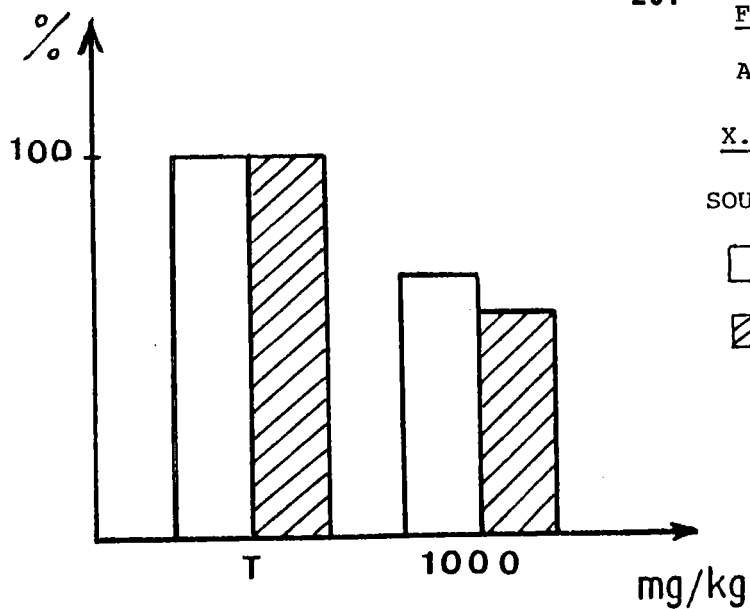
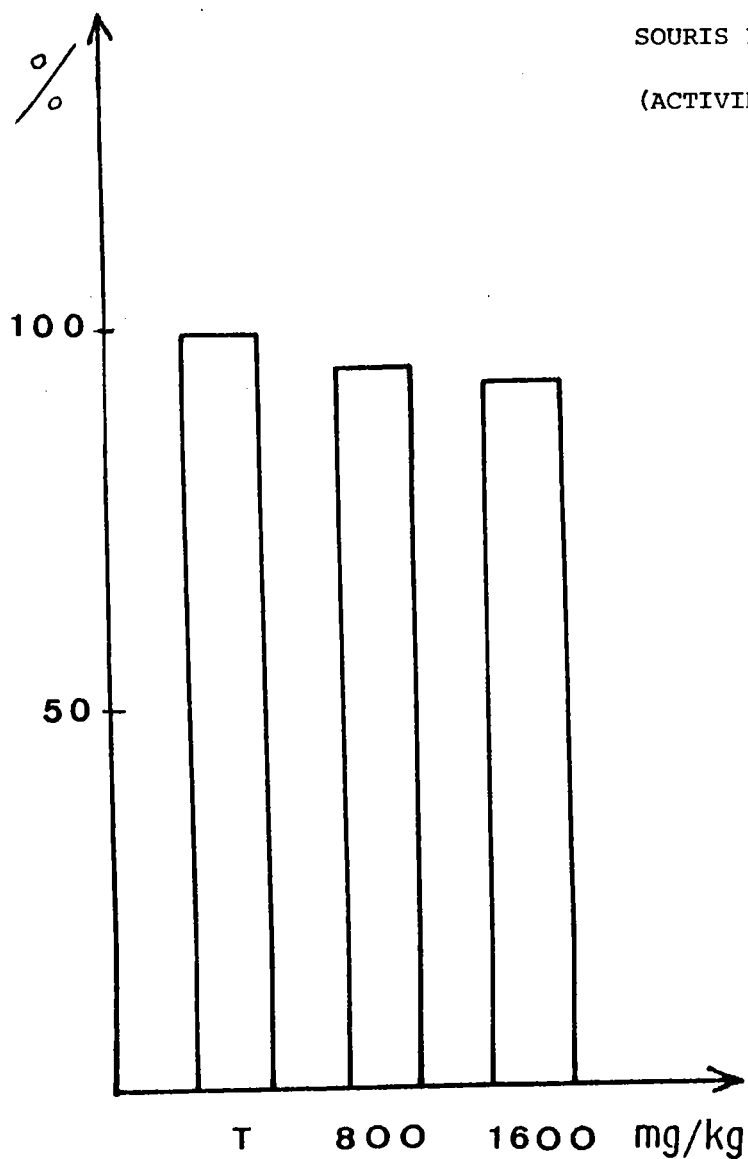


FIGURE 11 . EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE FEUILLES DE X.XANTHOXYLOIDES SUR L'ACTIVITE DES SOURIS PLACES DANS UNE SITUATION CONTRAIGNANTE (ACTIVIMETRE) : VOIE PER OS



- les tableaux 23 et 24 représentent le nombre de marches montées et de redressements dans le test de l'escalier.

Les deux extraits aqueux de feuilles et hydro-alcoolique d'écorces de racines n'induisent pas de modification significative de ces paramètres quand ils sont administrés per os.

- Voie SC :

Les résultats sont présentés dans le tableau 25.

Tableau 23 : Effets des extraits de X.xanthoxyloïdes sur le nombre de marches montées en 5 minutes dans le test de l'escalier (voie PO).

LOTS	Témoins NaCl 0,9 %	Extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines 1 000 mg/kg	Extrait aqueux de feuilles 1 000 mg/kg
Nombre d'animaux par lot	10	10	10
Moyenne	36	43	39
E.S.	2	4	3
Variation par rapport au lot témoin (%)	/	+ 18	+ 8
P	/	NS	NS

Tableau 24 : Effets des extraits de X.xanthoxyloïdes sur le nombre de redressements cumulés sur 5 minutes dans le test de l'escalier (voie PO).

LOTS	Témoins NaCl 0,9 %	Extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines 1 000 mg/kg	Extrait aqueux de feuilles 1 000 mg/kg
Moyenne	39	39	41
E.S.	3	4	5
Variation par rapport au lot témoin (%)	/	+ 1	+ 5
P	/	NS	NS

Tableau 25 : Effet inducteur du sommeil après traitement à une dose infra-hypnotique de pentobarbital sodique : effet de l'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines de X.xanthoxyloïdes par voie PO.

Produit	Temps d'injection avant le pentobarbital	Nombre de souris par lot	% d'endormissement	P
NaCl 0,9 %	30 mn	10	0	/
Extrait hydro- alcoolique d'écorces de racines 800 mg/kg	20 mn	10	0	NS
	30 mn	10	20	NS
	1 h	10	0	NS

Il n'y a donc pas d'effet significatif par voie sous cutanée sur l'hypnose induite par le pentobarbital.

En conclusion, nous pouvons dire que l'activité de l'extrait administré per os, existe encore : elle est tout à fait nette dans le test d'interaction avec le pentobarbital.

Dans les autres tests, les effets sont estompés.

Parmi les substances potentialisant l'action des barbituriques, ayant des effets sédatifs et/ou anxiolytiques, on peut citer les neuroleptiques. En effet, les neuroleptiques potentialisent les dépresseurs centraux : alcool (BRODIE et coll., 1955), hypnotiques (BUCHÉL et coll., 1960 ; BOISSIER et coll., 1966 ; ABSIL et coll., 1966), les analgésiques, anesthésiques généraux et hypotenseurs.

L'augmentation de l'effet hypnotique doit être considérée comme potentialisation vraie, car on ne peut la rapporter à un retard de catabolisme.

Cette potentialisation est plus marquée pour les dérivés phénothiaziniques que pour les dérivés de la butyrophénone (BOISMARE et coll., 1967). Il serait donc intéressant de vérifier si notre extrait, potentialisant les hypnotiques, n'a pas un effet neuroleptique.

### 6.3 Recherche d'un effet neuroleptique

#### 6.3.1 Introduction

Les neuroleptiques font partie des sédatifs (psycholeptiques). Ils sont caractérisés par leurs effets thérapeutiques dans les psychoses, troubles mentaux majeurs qui s'opposent aux névroses, et par des effets secondaires neurologiques très spéciaux (FABRE, 1975).

Historiquement, c'est avec un neuroleptique, la chlorpromazine, que débute la psycho-pharmacologie moderne : pour la première fois, un médicament administré de façon méthodique était capable d'influer efficacement sur le cours des psychoses aiguës et même chroniques.

#### Action des neuroleptiques :

Chez l'homme, ces substances produisent de puissantes actions sédatives et antipsychotiques : réduction de l'excitation, de l'agitation, des productions délirantes et hallucinatoires (1re étude par DELAY et coll., 1952). Parallèlement, on observe un effet désinhibiteur. Les effets secondaires se situent aux niveaux psychomoteur, extrapyramidal et neuro-végétatif. Les neuroleptiques facilitent l'habituation (ou l'indifférence ?), abolissent les réflexes conditionnés et l'autostimulation (COURVOISIER, 1953 ; HEYMAN, 1987).

On peut appeler neuroleptique tout produit possédant les cinq caractéristiques suivantes :

- création d'un état d'indifférence psychomotrice, qui les différencie de l'effet des sédatifs classiques, sédation,
- diminution de l'agressivité et de l'agitation,
- action réductrice des psychoses aiguës et chroniques,
- production d'effets secondaires neurologiques et végétatifs,
- action sous corticale prédominante.

Remarque : Grâce aux neuroleptiques, on peut avoir une activité symptomatique, peut être une action sur le noyau psychotique, mais on ne "guérit" pas les psychoses chroniques.

D'après l'observation des ces effets, des tests pharmacologiques ont été mis au point :

- réduction de l'activité locomotrice et exploratrice des animaux (ITOH et coll., 1968),
- production de catalepsie animale,
- action anti-émétique qui serait liée à l'action antipsychotique,
- action antagoniste de l'amphétamine (réduction de la toxicité de groupe et des stéréotypies) ; tests les mieux corrélés à l'activité antipsychotique chez l'homme,

- actions végétatives analogues à celles observées chez l'homme.

Parmi les neuroleptiques, certains ont une action sédatrice dominante (réserpine, chlorpromazine) et d'autres, à l'inverse, une action désinhibitrice dominante (triflupéridol, thiopropérazine), (FABRE, 1975).

#### Mode d'action

- effets antipsychotiques : Tous les neuroleptiques ont un effet antidopaminergique. Les neuroleptiques pourraient agir en modifiant le comportement des catécholamines (GOODRICH, 1982).

La chlorpromazine et la réserpine inhibent la recapture de la noradrénaline et de la 5 hydroxytryptamine par le cortex cérébral.

Par un mécanisme d'inhibition compétitive, l'halopéridol et la chlorpromazine bloquent les récepteurs dopaminergiques de la base cérébrale (noyau caudé, corps strié, etc...).

On admet que le système limbique joue un rôle majeur dans la genèse des perturbations émotionnelles.

les substances capables de stimuler directement ou indirectement les récepteurs dopaminergiques sont aussi capables, à des degrés divers, d'induire chez l'homme des réactions proches de certains comportements psychotiques ou de réactiver des psychoses (amphétamine, apomorphine, lévodopa...).

La dopamine entraîne une activation de l'adénylcyclase limbique, activation qui est inhibée par les phénothiazines et d'autres classes de psychotropes, ce qui expliquerait l'action antipsychotique des neuroleptiques (au niveau du système limbique) et leur aptitude à provoquer des troubles extrapyramidaux (blocage des récepteurs dopaminergiques au niveau du noyau caudé entraînant un syndrome pseudoparkinsonien), (AYD, 1961).

Les substances qui appartiennent à une même série chimique où existent des neuroleptiques et qui n'ont pas de propriétés antidopaminergiques n'ont pas non plus de propriétés antipsychotiques.

- l'effet sédatif des neuroleptiques est peut être lié à des propriétés adrénolytiques centrales.
- l'effet hypothermisant est particulièrement important pour la chlorpromazine. Le point d'impact est vraisemblablement hypothalamique.
- l'effet anti-émétisant a pour centre l'arée postrema. On peut rapprocher de cet effet l'action favorable dans le hoquet.

- les neuroleptiques inhibent la libération d'un certain nombre de facteurs hypothalamiques, entraînant des effets endocriniens (impuissance, aménorrhée, galactorrhée). Cette action a pour origine un effet au niveau de la voie tubéro-infundibulaire.
- on ne peut actuellement affirmer si l'effet analgésique a vraiment lieu sur la douleur ou s'il s'agit d'une intégration différente par le patient des phénomènes douloureux.
- de nombreux neuroleptiques exercent des effets antihistaminiques. Souvent, les neuroleptiques sédatifs ont plutôt des effets sur le système neurovégétatif (hypotension orthostatique), les antipsychotiques sur le système pyramidal.

Le blocage des récepteurs post synaptiques au niveau de la voie nigronéostriatale (impliquée dans la motricité involontaire) est responsable du syndrome extrapyramidal provoqué par les neuroleptiques (catalepsie chez l'animal).

Nous essaierons donc de mettre en évidence un éventuel effet antidopaminergique de X.xanthoxyloïdes par 2 protocoles différents :

- la recherche d'un effet cataleptique représentera les effets secondaires extrapyramidaux sur la voie nigronéostriatale.
- l'antagonisme d'une substance stimulant les récepteurs

dopaminergiques, comme l'amphétamine, sera vérifié grâce à 2

tests :

- toxicité de groupe,
- stéréotypies.

### Métabolisme

Après ingestion, les neuroleptiques sont résorbés principalement au niveau de l'intestin grêle, sous forme non ionisée par un mécanisme passif, de 70 à 90 % de la dose administrée est résorbée.

La vitesse de résorption dépend de la liposolubilité de la molécule.

Par voie PO, chez le sujet à jeun, les concentrations plasmatiques maximales sont observées 2 à 3 heures après ingestion de phénothiazines, et 4 à 6 heures après ingestion d'halopéridol.

Par voie intramusculaire en solution aqueuse, la résorption se fait en 3 heures.

Dans le sang, les neuroleptiques se trouvent soit libres ou liés aux protéines plasmatiques, soit dans les hématies (surtout albumine et lipoprotéines).

% de fixation : 85 % pour la chlorpromazine.

La fraction érythrocytaire des neuroleptiques est pratiquement égale à la fraction plasmatique totale.

Ce sont les tissus les plus vascularisés qui reçoivent la plus grande partie de la dose administrée : coeur, poumons, foie, reins, cerveau.

La fixation tissulaire des neuroleptiques se caractérise par sa très grande stabilité.

- les transformations métaboliques des neuroleptiques se réalisent principalement au niveau du foie.
- les métabolites sont éliminés dans les urines et les selles où l'on retrouve répartie en 2 parts égales la dose administrée, mais cette élimination est lente et prolongée.

Neuroleptiques d'action prolongée : un des progrès les plus intéressants des dix dernières années (fluphénazine) : le traitement est ainsi moins toxique, ils sont obtenus en transformant les substances en esters d'acides gras en solution huileuse. Ceci explique le syndrome extrapyramidal et les troubles endocriniens (BOISSIER et TILLEMENT, 1973).

### 6.3.2 Recherche d'un effet cataleptique et hypothermique de l'extrait de X.xanthoxyloïdes .

#### 6.3.2.1 Protocoles expérimentaux

Deux lots de dix rats reçoivent une injection de X.xanthoxyloïdes par voie IP aux doses de 200 et 800 mg/kg (1 ml/100 g de masse corporelle) 30 minutes avant le test.

Un lot témoin reçoit par voie IP du NaCl 0,09 % et un autre lot reçoit un neuroleptique de référence, la chlorpromazine (Largactil<sup>R</sup>, Ciba-Geigy, Bâle, Suisse) à une dose voisine de la DE 50 (20 mg/kg) dissoute dans l'eau distillée dans les mêmes conditions :

Action hypothermisante : - la température rectale est mesurée par une sonde thermique de précision (0,1° ) couplée à un galvanomètre, avant l'injection de X.xanthoxyloïdes, 20 minutes après, puis toutes les heures pendant 7 heures. (FABRE, 1975)

Une dernière prise de température est réalisée 24 heures après la première injection.

- l'appréciation de la catalepsie est réalisée après chaque prise de température selon 5 méthodes effectuées dans l'ordre suivant :

#### Action cataleptique : a) croisement des pattes homolatérales

La catalepsie est considérée comme positive lorsque l'animal accepte et conserve le croisement de ses pattes antérieures avec ses pattes postérieures homolatérales sans distinction de temps.

b) méthode du pilier

La catalepsie est positive si le rat accepte de conserver une de ses pattes antérieures sur un pilier de 3 cm de hauteur pendant 10 secondes.

c) méthode du Bouddha

Si le rat est en catalepsie, il doit accepter une position assise sur le train postérieur avec le tronc légèrement vouté.

d) méthode des 4 bouchons

Si la catalepsie est positive, le rat doit accepter une position telle que ses quatre pattes reposent sur 4 bouchons de 25 mm de hauteur et 32 mm de diamètre, placés aux 4 coins d'un rectangle de 85 mm de largeur et 135 mm de longueur.

e) méthode des barres asymétriques

Deux tiges métalliques sont fixées entre 2 piliers à 3 cm de hauteur et entre 2 piliers à 11 cm de hauteur. Les deux tiges sont alors distantes de 14 cm.

Un rat en état de catalepsie peut rester immobile pendant au moins 10 secondes avec ses pattes antérieures reposant sur la tige la plus haute et avec ses pattes postérieures reposant sur l'autre tige.

### 6.3.2.2 Analyses statistiques

Les pourcentages d'animaux traités présentant un effet positif aux divers tests sont comparés à ceux des animaux témoins à l'aide du test du  $\chi^2$ . Les moyennes des températures des animaux traités sont comparées à celles des animaux témoins au moyen du test "t" de Student après vérification de l'homogénéité des variances.

### 6.3.2.3 Résultats

Les résultats sont présentés sur les tableaux 26 et 27 et la courbe 13.

- le neuroleptique de référence, la chlorpromazine entraîne une hypothermie de 10,60 % à 11,28 % entre 2 et 5 heures.

Cette hypothermie est maximale 3 heures après l'injection (- 11,77 %).

Par contre l'extrait de X.xanthoxyloïdes n'a aucun effet hypothermique significatif, quel que soit le temps écoulé après l'injection.

- la chlorpromazine entraîne des catalepsies dès 30 minutes après l'injection (1/4). La valeur maximale (4/4) est atteinte 5 heures après l'injection et se maintient encore 7 heures après l'injection.

X.xanthoxyloïdes n'a aucun effet cataleptique.

Tableau 26 : Effets hypothermiques comparés de l'extrait de X.xanthoxyloïdes et de chlorpromazine.

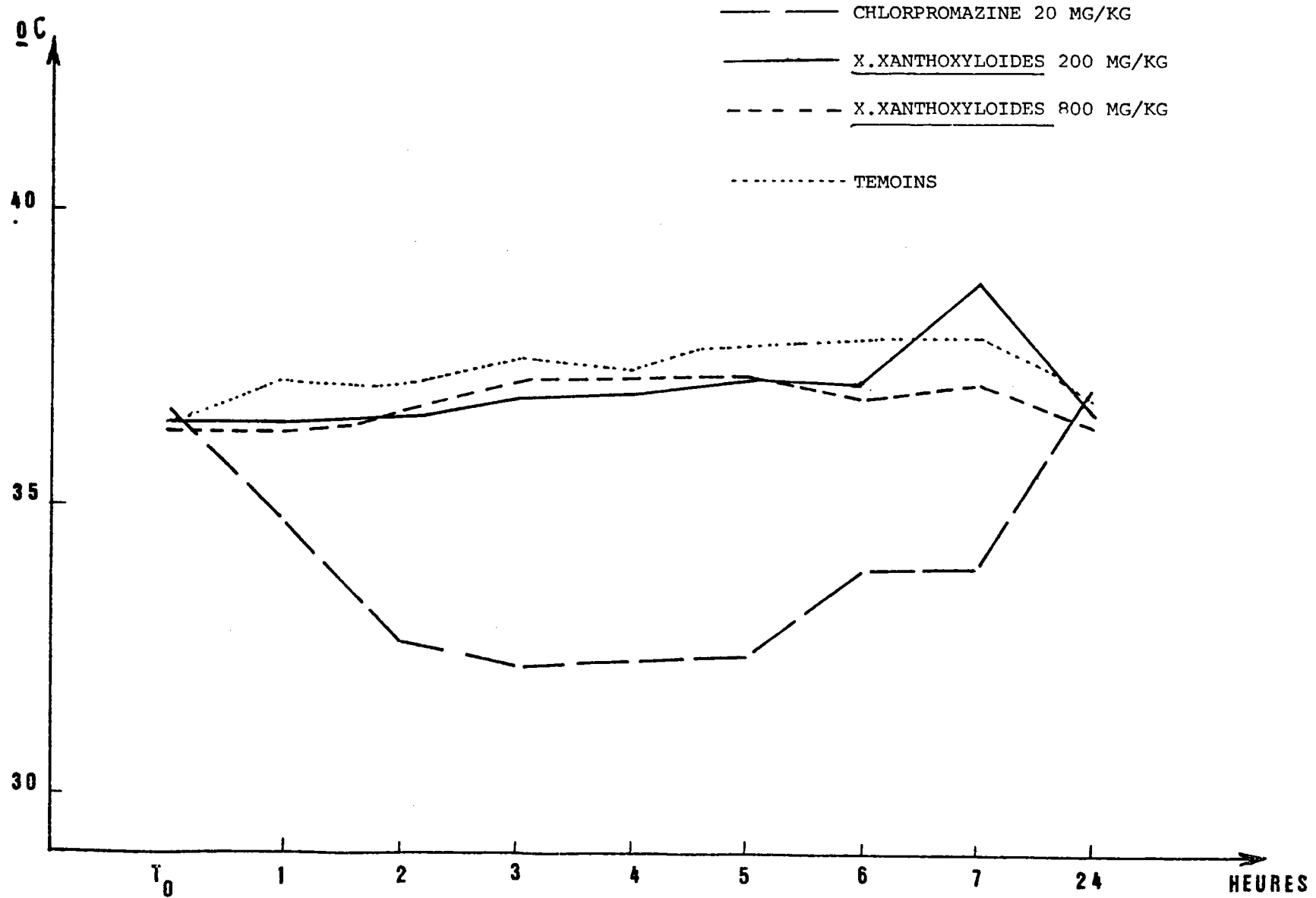
		t	30 mn / 1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	24 h	
Chlorpromazine	température moyenne (°C)	36,5	34,7	32,7	32,2	32,3	32,4	33,8	33,9	37,0	
	E.S.	0,5	0,3	0,8	0,9	0,9	0,5	1,5	0,7	0,3	
	variation/t <sub>0</sub> (%)		- 5 **	- 11 ***	- 12 ***	- 12 ***	- 11 ***	- 7 **	- 7 ***	+ 1	
Extrait de <u>X. antho- xyloïdes</u>	200 mg/kg	température moyenne (°C)	36,4	36,4	36,5	36,8	36,9	37,1	37,1	37,9	36,6
		E.S.	0,3	0,5	0,1	0,6	0,3	0,3	0,3	0,6	0,4
		variation/t <sub>0</sub> (%)		0	0	+ 1	+ 1	+ 2	+ 2	+ 4	0
	800 mg/kg	température moyenne (°C)	36,5	36,3	36,6	37,1	37,2	37,1	36,8	37,1	36,4
		E.S.	0,4	0,7	0,1	0,5	0,5	0,7	0,8	0,9	0,7
		variation/t <sub>0</sub> (%)		0	0	+ 2	+ 2	+ 2	+ 1	+ 2	0
NaCl 0,9 %	température moyenne (°C)	36,4	36,3	36,4	37,1	37	37,5	37,3	37,7	36,4	
	E.S.	0,7	0,4	0,5	0,3	0,4	0,7	0,1	0,4	0,7	
	variation/t <sub>0</sub> (%)		0	0	+ 2	+ 2	+ 3	+ 2	+ 4	0	

\*\* p < 0,01  
\*\*\* p < 0,001.

Tableau 27 : Effet cataleptique de la chlorpromazine 20 mg/kg.

temps	0	30 mn	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	24 h
croisement pattes homolatérales	/	3/4	4	4	4	3	2	1	1	/
patte antérieure sur pilier de 3 cm	/	4/4	4	4	4	4	4	4	4	/
position Bouddha	/	4/4	4	4	4	4	4	3	3	/
4 bouchons	/	4/4	4	4	4	4	4	4	3	/
barres asymétriques	/	1/4	1	3	3	4	3	2	4	/

FIGURE 13 . EFFETS DE LA CHLORPROMAZINE ET DE L'EXTRAIT HYDRO-ALCOOLIQUE D'ECORCES  
DE RACINES DE X.XANTHOXYLOIDES SUR LA TEMPERATURE CORPORELLE DU RAT .



### 6.3.3 Recherche d'une interaction de X.xanthoxyloïdes avec l'amphétamine.

#### 6.3.3.1 Introduction

L'amphétamine appartient à la classe pharmacologique des psychoanaleptiques, ce sont des substances élevant le niveau de vigilance, d'où une stimulation du psychisme. Il faut donc les distinguer des antidépresseurs qui, eux, stimulent l'humeur.

Les noo-analeptiques amphétaminiques ont une action privilégiée sur le système nerveux central, le système cardiovasculaire (récepteurs adrénergiques alpha et bêta, élévation de la tension artérielle, relâchement du muscle bronchique, contractibilité accrue de la vessie).

Cette action est en rapport étroit avec les fonctions cérébrales des amines biogènes. L'amphétamine libère les catécholamines des vésicules neuronales. Elle inhibe la recaptation des catécholamines libérées du neurone présynaptique et, enfin, a un effet inhibiteur sur la mono amine oxydase intraneuronale.

- les faisceaux noradrénergiques les plus importants prennent naissance dans le tronc cérébral et leurs axones remontent via le faisceau frontal médian jusqu'à l'hypothalamus et au système limbique.

Ils sont en relation avec le système de récompense ou de renforcement de l'autostimulation.

- Il existe trois faisceaux dopaminergiques importants
  - . le faisceau nigrostrié est impliqué dans la coordination motrice.
  - . le noyau arqué de l'hypothalamus et de l'éminence médiane est nécessaire à la production des hormones trophiques de l'hypophyse.
  - . le 3ième faisceau a ses origines dans le tronc cérébral et se prolonge jusqu'au tubercule olfactif et au noyau accumbens. Il longe les régions cérébrales impliquées dans la régulation de l'humeur.

L'amphétamine, en raison des fonctions de ces systèmes catécholaminergiques, peut agir de deux façons :

- action sur les neurones noradrénergiques : alerte.
- action sur les neurones dopaminergiques :
  - . sur la stimulation de la motricité et sa coordination (faisceau nigrostrié) (SAMANIN et coll., 1972 ; COSTA et coll., 1973).
  - . sur l'humeur : 3ième faisceau, stimulation avec stéréotypies (LAPIERRE et coll., 1979).

L'amphétamine possède 2 isomères :

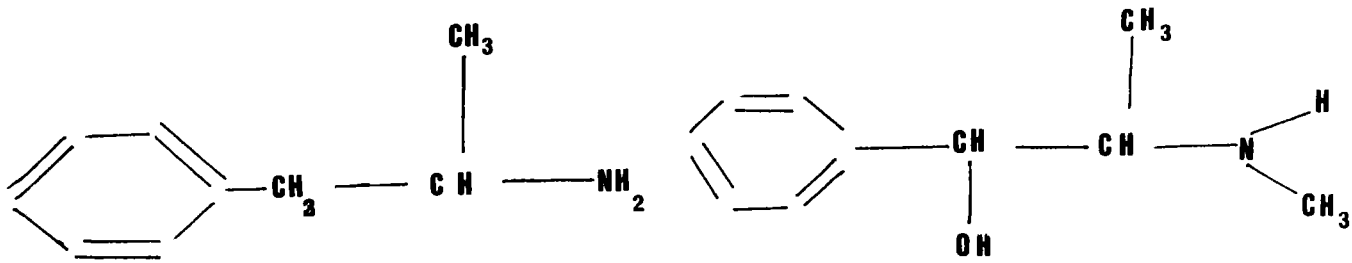
- dexamphétamine,
- lévamphétamine.

La dexamphétamine est dix fois plus puissante que la lévamphétamine sur les récepteurs noradrénergiques, au niveau du système nerveux central.

Pour les récepteurs dopaminergiques, les 2 isomères ont une activité équivalente.

Les amphétamines inhibent la fonction des enzymes microsomiales hépatiques. Ceci a des répercussions sur le catabolisme hépatique des autres médicaments éliminés par le foie.

L'amphétamine et ses dérivés sont bien absorbés par voie orale et produisent leurs effets entre 20 et 30 minutes plus tard.



amphétamine

éphédrine

La méthamphétamine, à faible dose, diminue l'exploration dans le test du milieu nouveau (MISSLIN et coll., 1981, 1983).

#### Surdosage :

La stimulation locomotrice due aux amphétamines serait due à la libération de noradrénaline cérébrale tandis que les désordres de la pensée et le comportement stéréotypé seraient dépendants de la médiation dopaminergique.

Nous avons vu (6.3.1) que les neuroleptiques, antidopaminergiques, peuvent antagoniser les effets des agonistes dopaminergiques, comme l'amphétamine (MISSLIN et coll., 1984).

Par contre, des substances à action stimulante, qui libèrent des catécholamines, et certaines substances anticholinergiques, serotoninergiques ou antidépressives peuvent potentialiser les stéréotypies induites par l'amphétamine.

Les barbituriques peuvent augmenter l'agressivité des sujets traités à l'amphétamine, mais diminuent aussi l'effet stimulant de l'amphétamine.

Les effets de IMAO sont accentués par l'administration d'amphétamines ou de leurs dérivés (augmentation des effets hypertenseurs de ces médicaments).

Les benzodiazépines potentialisent également les stéréotypies induites par l'amphétamine (BABBINI et coll., 1971 ; TREIT, 1985).

Nous allons donc vérifier si X.xanthoxyloïdes antagonise ou potentialise l'effet de l'amphétamine, et ceci grâce à deux tests.

Nous testerons ainsi une éventuelle action dopaminergique de

X.xanthoxyloïdes :

- la toxicité de groupe induite par l'amphétamine :

L'amphétamine provoque, à des doses infraléthales, une toxicité importante chez les souris groupées, toxicité évaluée par le pourcentage de mortalité des animaux (BOISSIER et coll., 1971).

De ce fait, les substances antidopaminergiques, comme les neuroleptiques, ont un effet protecteur.

Par contre, les thymoanaleptiques, stimulant les récepteurs dopaminergiques, vont potentialiser les effets toxiques de l'amphétamine.

- les stéréotypies induites par le tartrate d'amphétamine :

L'amphétamine, à la dose de 5 ou 10 mg/kg, entraîne l'apparition chez le rat de mouvements anormaux et répétitifs appelés stéréotypies, dûs à une stimulation directe ou indirecte des récepteurs dopaminergiques centraux (SAMANIN et coll., 1977).

Le rat présente des mouvements rapides de la tête (hochements, déplacements latéraux et en triangle, reniflements), de la sphère buccale (rongements, morsures des grilles, machonnements de la litière et léchage), et des pattes antérieures.

A plus fortes doses, ce comportement s'accompagne d'une hypersalivation. Les neuroleptiques et les parasympathomimétiques inhibent ces stéréotypies.

Les antidépresseurs et les benzodiazépines potentialisent ces effets (BABBIBI et coll., 1971 ; BOISSIER et coll., 1971 ; TREIT, 1985 ; RAMBERT et coll., 1986).

### 6.3.3.2 Protocoles expérimentaux

Recherche d'un effet X.xanthoxyloïdes sur la toxicité de groupe induite par le tartrate d'amphétamine.

La technique a été choisie d'après les méthodes de BOISSIER et coll., (1972) et de GOURET et coll., (1973).

Un premier lot de 10 souris (Janvier, Le Genest) chacune isolée dans une cage standard en macrolon (24 X 11 X 10 cm) à une température de 24° C + ou - 1° C, reçoit par voie IP, 30 minutes avant l'injection de tartrate d'amphétamine dissous dans l'eau distillée (Maxiton<sup>R</sup>, Delagrangé, France) (40 mg/kg ; 1 ml par 100 g de masse corporelle) une solution de NaCl 0,9 %.

Ce lot témoin nous permet de vérifier que la dose d'amphétamine utilisée n'est pas toxique pour les animaux isolés.

Quatre autres lots de 10 souris sont alors constitués et les 10 animaux d'un même lot sont maintenus groupés dans une même cage standard en macrolon (24 X 11 X 10 cm) à la température de 4° C + ou - 1° C. deux lots traités reçoivent par voie IP, 30 minutes avant l'injection de tartrate d'amphétamine (Maxiton<sup>R</sup>, Delagrangé, France) (40 mg/kg ; 1 ml par 100 g de masse corporelle, voie IP) l'extrait de X.xanthoxyloïdes aux doses de 400 mg/kg et 1600 mg/kg (1 ml par 100 g de masse corporelle).

Un lot témoin reçoit une solution de NaCl 0,9 %. Et un lot reçoit un neuroleptique de référence la chlorpromazine (Largactil<sup>R</sup>, Spécia), (20 mg/kg ; 1 ml par 100 g de masse corporelle) dissoute dans l'eau distillée dans les mêmes conditions.

La mortalité est relevée 4 heures après l'injection d'amphétamine.

Recherche d'un effet de X.xanthoxyloïdes sur les stéréotypes induites par le tartrate d'amphétamine.

Pour ce test nous nous sommes inspirés des techniques mises au point par HALLIWELL et coll., (1964) ; BOISSIER et coll., (1971) ; SIMON et CHERMAT., (1972) ; SIMON et BOISSIER., (1974) ; WORMS et coll., (1986). Par une étude préliminaire, nous avons déterminé la dose de tartrate d'amphétamine efficace, 5 mg/kg.

Deux lots de quatre rats reçoivent l'extrait de X.xanthoxyloïdes par voie IP aux doses de 200 et 800 mg/kg (1 ml par 100 g de masse corporelle) 30 minutes avant l'injection de tartrate d'amphétamine (Maxiton<sup>R</sup>, Delagrangé, France) dissous dans de l'eau distillée par voie IP à la dose de 5 mg/kg (1 ml par 100 g de masse corporelle). Un lot témoin de quatre rats reçoit du NaCl 0,9 % dans les mêmes conditions.

Et, pour vérifier l'effet inhibiteur des stéréotypes d'un neuroleptique, un lot de quatre rats reçoit de la chlorpromazine (Largactil<sup>R</sup>, Spécia) dissoute dans de l'eau distillée aux doses de 20 mg/kg et 5 mg/kg.

Après injection de tartrate d'amphétamine, les animaux sont placés en cage individuelle et les observations sont relevées toutes les 10 minutes pendant 210 minutes.

On utilise la cotation de SIMON (SIMON et coll., 1972, 1974), on attribue les coefficients suivants :

- 0 pour l'absence de tout mouvement stéréotypé et anormal.
- 1 lorsque l'on peut observer de rares mouvements stéréotypés ou un reniflement presque continu, la tête du rat étant dirigée vers le haut.
- 2 lorsque l'on peut observer des reniflements intenses avec mouvements saccadés et rapides de la tête, parfois interrompus par de courtes phases de mâchonnement.
- 3 lorsque l'on peut observer des mouvements stéréotypés intenses (mâchonnements, léchage) souvent accompagnés de mouvements répétés des pattes antérieures contre la paroi.

#### **6.3.3.3 Analyses statistiques**

Pour la toxicité de groupe induite par le tartrate d'amphétamine, les pourcentages de mortalité des lots traités sont comparés aux pourcentages de mortalité du lot témoin au moyen du test du  $\chi^2$ .

Pour les stéréotypes induites par le tartrate d'amphétamine, la valeur cumulée sur 210 mn des indices de stéréotypie de chacun des lots traités est comparée à celle du lot témoin au moyen du test non paramétrique de Mann Whitney.

#### 6.3.3.4 Résultats

##### Recherche d'un effet de X.xanthoxyloïdes sur la toxicité de groupe induite par le tartrate d'amphétamine chez la souris

Les résultats sont présentés dans le tableau 28. Quand les animaux sont isolés dans les cages, le tartrate d'amphétamine 40 mg/kg n'entraîne que 20 % de mortalité. Il existe donc une certaine toxicité du tartrate d'amphétamine par voie I P. Par contre, on trouve, pour la même dose, 100 % de mortalité si les souris sont groupées par 10 dans la même cage.

Le prétraitement par X.xanthoxyloïdes ne modifie pas la toxicité de groupe à l'amphétamine, alors qu'avec un prétraitement de chlorpromazine (neuroleptique de référence), la mortalité chute à 20 % et rejoint ainsi celle obtenue avec isolement des animaux.

X.xanthoxyloïdes n'antagonise donc pas la toxicité de groupe induite par l'amphétamine.

##### Recherche d'un effet de X.xanthoxyloïdes sur les stéréotypes induites par le tartrate d'amphétamine

Le tableau 29 représente la valeur cumulée sur 210 mn des indices de stéréotypie relevés pour l'ensemble des quatre rats, ceci pour chacun des trois lots traités et pour le lot témoin.

La chlorpromazine antagonise les stéréotypies induites par le tartrate d'amphétamine, ce qui confirme les données de la littérature (SIMON et coll., 1972, 1974) à 20 mg/kg elle les antagonise entièrement, à 5mg/kg elle les réduit à 33 %.

Tableau 28 : Effet de X.xanthoxyloïdes sur la toxicité de groupe induite par le tartrate d'amphétamine.

	Nbre de souris	Prétraitement 30 mn avant l'amphétamine	Mortalité %
Animaux isolés	10	NaCl 0,9 %	20
Animaux groupés	10	NaCl 0,9 %	100 ***
	10	Chlorpromazine 20 mg/kg	20
	10	<u>X.xanthoxyloïdes</u> 400 mg/kg	100 ***
	10	<u>X.xanthoxyloïdes</u> 1600 mg/kg	100 ***

\*\*\*  $p < 0,001$ .

Tableau 29 : Effets de X.xanthoxyloïdes sur les stéréotypes induites par le tartrate d'amphétamine.

Prétraitement 30 mn avant l'amphétamine	Stéréotypies cumulées	% des témoins
NaCl 0,9 %	99	/
Chlorpromazine 5 mg/kg	33	33
Chlorpromazine 20 mg/kg	0	0
<u>X.xanthoxyloïdes</u> 200 mg/kg	167	169 *
<u>X.xanthoxyloïdes</u> 800 mg/kg	205	207 *

La figure 14 représente les indices de stéréotypie relevés toutes les 10 minutes pendant 210 minutes.

On peut ainsi suivre l'évolution de l'effet de l'amphétamine :

- chez les rats témoins, l'effet de l'amphétamine se manifeste dès la 10<sup>ème</sup> minute (6). Il est maximal à la 70<sup>ème</sup> minute (12) et disparaît à la 150<sup>ème</sup> minute (0).
- avec la chlorpromazine, l'effet de l'amphétamine est un peu retardé, il ne se manifeste qu'après 40 minutes. Il est maximal toujours à la 70<sup>ème</sup> minute mais n'atteint que la valeur 4, puis l'effet de l'amphétamine disparaît à la 160<sup>ème</sup> minute.

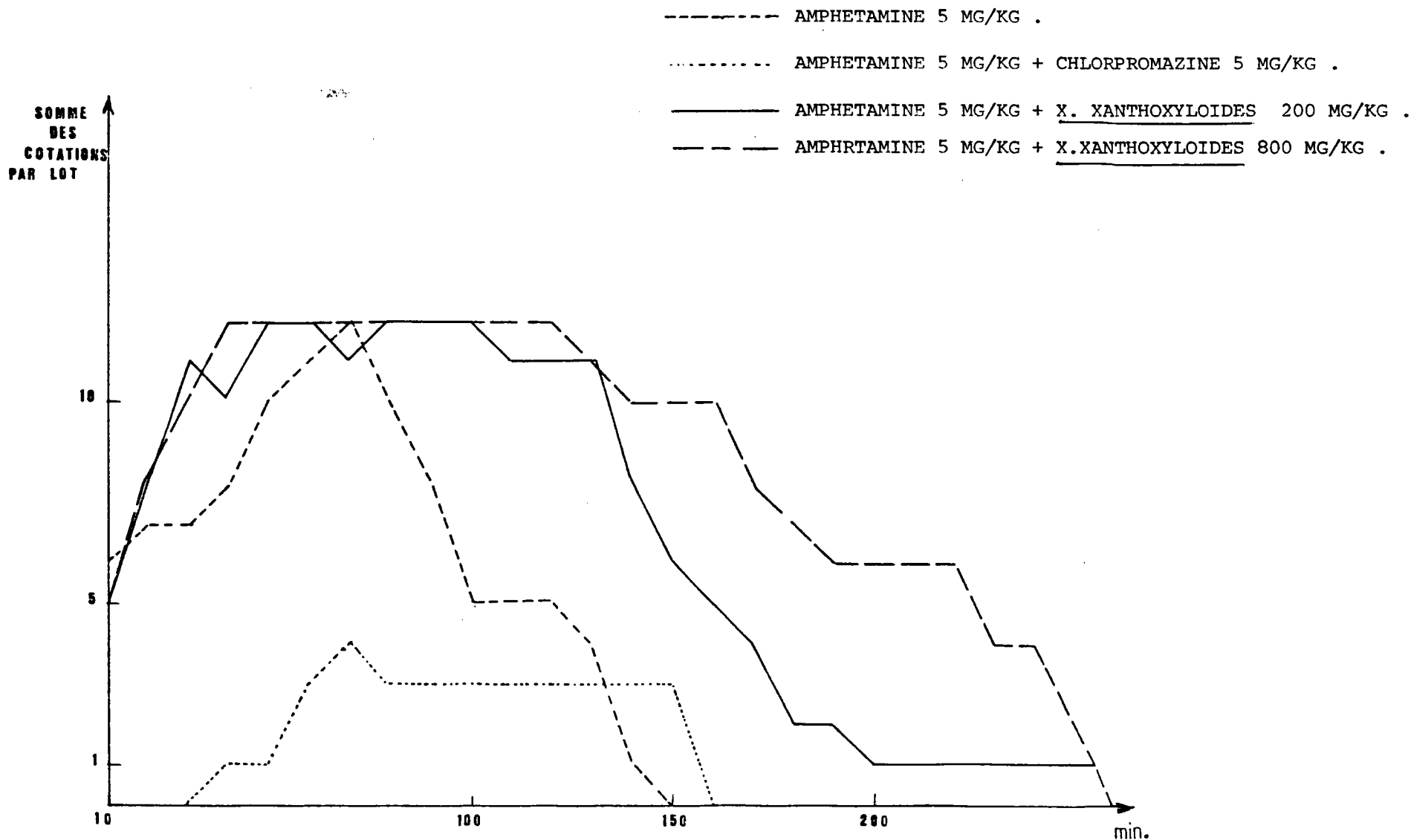
Le prétraitement par X.xanthoxyloïdes, aux deux doses, accentue les stéréotypies dès la 20<sup>ème</sup> minute.

A 200 mg/kg, les stéréotypies sont maximales entre 50 et 100 minutes, et ne disparaissent qu'à 290 minutes.

A 800 mg/kg, les stéréotypies sont maximales entre 40 et 120 minutes, et disparaissent à 260 minutes.

On constate donc qu'avec X.xanthoxyloïdes, l'effet de l'amphétamine est à la fois amplifié et prolongé (Témoins : arrêt des stéréotypies à 150 minutes), contrairement à l'action de la chlorpromazine.

FIGURE 14 . EFFETS DE LA CHLORPROMAZINE ET DE L'EXTRAIT HYDRO -ALCOOLIQUE D'ECORCES DE RACINES DE  
X.XANTHOXYLOIDES SUR LES STEREOTYPIES INDUITES PAR L'AMPHETAMINE (RECHERCHE D'EFFET NEUROLEPTIQUE) .



## 6.3.4 Discussion

Nous venons de voir (6.3.2.3) que X.xanthoxyloïdes n'a aucun effet hypothermique ou cataleptique qui serait caractéristique d'une activité neuroleptique.

Nos expérimentations confirment les données de la littérature selon lesquelles la chlorpromazine, neuroleptique de référence testé, a bien des effets hypothermiques et cataleptiques, à la dose de 20 mg/kg utilisée ici.

De même, on retrouve les propriétés d'antagoniste des effets de l'amphétamine pour la chlorpromazine à 20 mg/kg, les paramètres retrouvent les valeurs obtenues avec les lots témoins (SIMON et Coll., 1972, 1974).

Par contre nous avons mis en évidence une nouvelle propriété de X.xanthoxyloïdes, à savoir la potentialisation des effets de l'amphétamine, en particulier dans le test des stéréotypies induites par l'amphétamine, où on obtient avec X.xanthoxyloïdes aux doses de 200 et 800 mg/kg, respectivement 169 et 207 % de la valeur du lot témoin.

Cette potentialisation des effets de l'amphétamine, comme nous l'avons dit en 6.3.3.1, existe pour diverses substances à action stimulante, qui libèrent des catécholamines et certaines substances anticholinergiques, bloqueurs  $\beta$  adrénergiques, sérotoninergiques, antidépresseurs ou benzodiazépines (BABBINI et Coll., 1971 ; BOISSIER et Coll., 1971 ; GARRATINI et Coll., 1973 ; FIELDING et LAL, 1979 ; TREIT, 1984 ; RAMBERT et Coll., 1986.)

Donc cette propriété de X.xanthoxyloïdes confirme nos hypothèses précédentes: nous trouvons ici encore une propriété commune avec les benzodiazépines. Néanmoins une vérification s'impose car cette propriété vis à vis de l'amphétamine pourrait aussi être caractéristique d'un

antidépresseur: nous allons donc rechercher un éventuel effet antidépresseur de X.xanthoxyloïdes. En effet, certains anti-dépresseurs (comme la doxépine) ont, comme X.xanthoxyloïdes, des propriétés anxiolytiques (HOLLISTER, 1976 ; ASHTON et coll., 1976.)

## 6.4 Recherche d'un effet anti-dépresseur

### 6.4.1 Introduction

Les antidépresseurs, ou thymo-analéptiques qui font partie des psycho analéptiques, sont des médicaments capables d'améliorer les états dépressifs d'origine endogène, et donc d'agir sur l'ensemble du syndrome dépressif. Donc ne sont pas inclus dans ce groupe les benzodiazépines anxiolytiques et les amphétamines, morphiniques et hypnotiques.

Il existe deux grands groupes d'antidépresseurs d'efficacité assez voisine, à côté de la thérapie par électrochocs :

- les dérivés de structure tricyclique, encore appelés imipraminiques.

Le premier étudié fut l'imipramine.

- les inhibiteurs de la mono-amino oxydase (IMAO), encore appelés thymérotiques. Le prototype est l'iproniazide.

Ils s'opposent presque symétriquement aux neuroleptiques dans leurs propriétés pharmacodynamiques et cliniques.

Ils se distinguent des autres stimulants par leur action analéptique quasi spécifique sur la régulation de l'humeur ou thymorégulation.

Il faut noter que la plupart des antidépresseurs connus n'entraînent aucun effet psychique caractéristique chez les sujets sains. On observe tout au plus en général un effet sédatif (FABRE, 1975).

**Effets :**

Chez l'animal, les antidépresseurs imipraminiques et inhibiteurs de la monoamine oxydase ont des effets voisins :

- ils modifient peu l'action motrice, certains à forte dose ayant une légère action sédatif ;
- ils potentialisent les hypnotiques ;
- ils s'opposent aux effets entraînés par la réserpine (sédation profonde, hypothermie, ptose palpébrale) (BOISSIER et coll., 1971) ;
- ils antagonisent la catalepsie provoquée par les neuroleptiques et ont une action anti-parkinsonienne sur l'akinésie ;
- ils potentialisent les stéréotypés dues à l'amphétamine (BOISSIER et coll., 1971) ;
- ils sont anti-convulsivants (sauf imipramine à très fortes doses) ; ils entraînent parfois des tremblements ou une dysarthrie.

Les tests que nous avons déjà effectués nous permettent de dire que X.xanthoxyloïdes possède déjà, avec les antidépresseurs, les propriétés communes suivantes :

- action sédatrice ((II) 2.1),
- potentialisation des barbituriques ((II) 1),
- potentialisation des stéréotypes dues à l'amphétamine ((II) 3.3)

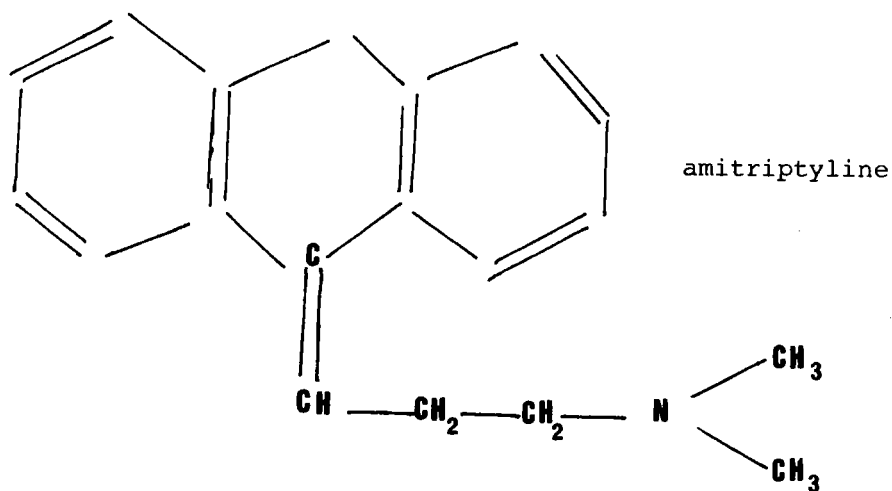
#### Pharmacocinétique :

Il y a diffusion passive des antidépresseurs tricycliques au niveau de l'intestin grêle, en moins d'une heure, de façon quasi complète.

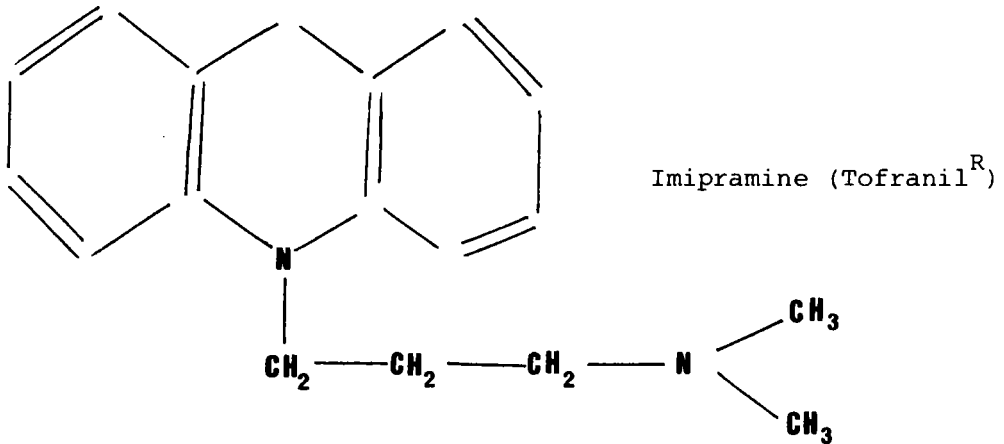
Les fixations sur les protéines plasmatiques (surtout l'albumine) est quantitativement importante. Tous les antidépresseurs ont une très grande affinité tissulaire, surtout au niveau des organes à débit sanguin élevé : coeur, foie, cerveau, reins et poumons.

Les composés sont transformés par les enzymes des microsomes hépatiques.

Les neuroleptiques inhiberaient partiellement ces transformations alors que le phénobarbital pourrait dans certaines conditions les stimuler.



L'élimination est essentiellement urinaire (95 à 99,5 %).  
Tous les IMAO semblent bien résorbés par le tube digestif, mais les données concernant leur métabolisme sont rares.

Propriétés des antidépresseurs imipraminiques :

- Ils y a diminution du seuil convulsivant et il y a une action anticholinergique centrale, responsable de troubles (atropiniques) comme sècheresse de la bouche, tachycardie, ...
- A doses faibles, l'imipramine se comporte comme un sympathomimétique indirect : il y a potentialisation des effets de la noradrénaline et de la stimulation des nerfs sympathiques, grâce à une inhibition par l'imipramine du recaptage des catécholamines.
- A doses fortes, l'imipramine exerce à la périphérie une action adrénolytique par blocage des récepteurs alpha.

- l'imipramine exerce aussi des effets parasympathiques par blocage des récepteurs, cette action expliquant les effets secondaires "atropiniques" (sècheresse de la bouche, tachycardie,...).
- A fortes doses, l'imipramine exerce des effets toxiques sur le coeur.
- Les antidépresseurs imipraminiques s'opposent à l'hypothermie et aux tremblements dûs à l'oxotrémorine. De plus, ils n'inhibent pas la monoamine oxydase. L'imipramine inhibe l'hypothermie due à l'apomorphine (MENON et coll., 1984).

Les différents agents tricycliques sont divisés en deux groupes :

- les antidépresseurs non (ou peu) sédatifs ; imipramine, clomipramine et désipramine ;
- les antidépresseurs sédatifs, dont le type est l'amitriptyline, avec la triméprimine et les dibenzépines.

Les différents tricycliques, et en particulier l'amitriptyline, semblent être des antagonistes sélectifs des récepteurs M2 muscariniques, associés à l'adénylate cyclase dans les membranes du corps strié (NOMIRA et coll., 1987).

**Propriétés des IMAO :**

Comme les dérivés tricycliques, ils redressent l'humeur dépressive, mais après un délai de 15 jours à 3 semaines.

- Ils ont peu d'effet pendant cette période d'induction à l'inverse des tricycliques qui sont souvent sédatifs.
- A la différence des tricycliques, les IMAO n'ont pas d'effet anticholinergique et ont une action inhibitrice de la monoamine oxydase. Par cette action, ils potentialisent les effets du 5-hydroxytryptophane et entraînent une accumulation des catécholamines et de sérotonine.
- Les IMAO ne sont pas sympathomimétiques, mais sympatholytiques. Les IMAO inhibent aussi le système oxydatif de détoxification hépatique de nombreux médicaments.

Les IMAO peuvent entraîner une hypotension orthostatique, excitation, euphorie ou insomnie.

**Interactions :**

- Avec les antidépresseurs imipraminiques, on observe une augmentation des effets hypertenseurs des catécholamines, s'expliquant par l'inhibition de leur captage à la terminaison des fibres sympathiques.
- Les imipraminiques s'opposent à l'effet antihypertenseur de certaines substances (guanéthidine, alphasétyldopa. Le mécanisme est le même que celui décrit précédemment car ces substances, pour agir, doivent pénétrer dans la terminaison des fibres sympathiques.
- L'association à des substances possédant des effets anticholinergiques (neuroleptiques, antiparkinsoniens, ...) augmente les effets atropiniques et peut entraîner la survenue d'un délire.
- Certains neuroleptiques phénothiaziniques potentialisent les effets des imipraminiques (entre autre, hypotension orthostatique) (FABRE, 1975).
- Les benzodiazépines ne modifieraient pas le métabolisme des antidépresseurs.
- L'association IMAO + imipraminiques est formellement contre-indiquée.

- Toutes les substances capables de stimuler les récepteurs alpha-adrénergiques, de façon directe comme les amines pressives ou indirecte comme les amphétaminiques et les anorexigènes, voient leur effet hypertenseur potentialisé par les IMAO.
- Les effets centraux et périphériques de la lévodopa semblent aussi potentialisés par les IMAO.
- L'association IMAO + réserpine peut entraîner des crises hypertensives.
- En raison de leur inhibition du système enzymatique hépatique, les IMAO ne doivent pas être associés aux barbituriques.

A partir de ces données sur les modes d'action des antidépresseurs, nous avons choisi 2 tests pour objectiver un éventuel effet antidépresseur de X.xanthoxyloïdes.

- Influence sur l'hypothermie, le ptosis et l'akinésie induits par la réserpine.
- Influence sur l'hypothermie, la salivation et les tremblements induits par l'oxotrémorine.

## 6.4.2. Recherche d'un effet de X.xanthoxyloïdes sur l'hypothermie, le ptosis et l'akinésie induits par la réserpine

### 6.4.2.1. Introduction

La réserpine, alcaloïde de Rauwolfia serpentina, a des propriétés sédatives antipsychotiques et désinhibitrices (chez l'homme, dans la schizophrénie).

Son action est lente : effet maximal 24 heures après l'injection, et 17 heures pour l'hypothermie.

Elle a aussi une action hypothermisante, dûe à l'induction de la libération des monoamines : en effet on observe la même hypothermie en injectant de la norépinéphrine et de la 5.H.T. à des souris (BRITAIN et coll., 1967 ; FELDBERG et coll., 1967).

Pourtant on a démontré (BAKER et coll., 1979) qu'il y a une diminution significative de de la 5.H.T. cérébrale après taitement à la réserpine, ce qui semble contredire les données précédentes.

En fait, la réserpine accélère le métabolisme de la 5.H.T., ce qui signifie que la 5.H.T. cérébrale peut diminuer alors qu'au niveau des synapses elle est en quantité accrue.

La réserpine peut provoquer des amnésies (PALFAI, 1983). Le test à la réserpine est un modèle pharmacologique intéressant pour mettre en évidence un effet antidépresseur (BOISSIER et coll., 1971, 1972 ; GOURET et coll., 1973 ; BOURIN et coll., 1981 ; WORMS et coll., 1986 ; PORSOLT et coll., 1987).

Le but est de mettre en évidence un effet antagoniste de trois symptômes induits par le neuroleptique qu'est la réserpine. Ces trois symptômes mettent en oeuvre trois modes d'action différents (BOURIN et coll., 1983 ; RAMBERT et coll., 1986).

- L'antagonisme de l'hypothermie met en évidence les propriétés  $\beta$  mimétiques directes ou indirectes liées à l'action des antidépresseurs (stimulation des récepteurs  $\beta$  adrénergiques) (maprotiline, salbutanol).
- L'antagonisme du ptosis est typique des composés stimulant les récepteurs, alpha-adrénergiques ou sérotoninergiques. C'est parfois le cas avec les antidépresseurs (clomipramine, 5.hydroxytryptophane, imipramine).
- L'antagonisme de l'akinésie montre une action dopaminergique directe ou indirecte, liée à l'effet psychostimulant de certains déprimeurs (apomorphine).

#### 6.4.2.2. Protocole expérimental

Il est inspiré de la technique de BOURIN et coll. (1983).

Des lots de 10 souris (laboratoires JANVIER, le Genest) reçoivent une injection d'extrait de X.xanthoxyloïdes par voie IP aux doses de 200 et 800 mg/kg (1 ml par 100 g de masse corporelle), 4 heures après (=  $t_0$ ) l'administration de réserpine (SERPASIL<sup>R</sup>, Ciba Geigy, Bâle, Suisse) par voie IP à la dose de 2,5 mg/kg (1 ml par 100 g de masse corporelle).

Un lot témoin reçoit de NaCl 0,9 % et un lot de référence reçoit de l'amitryptilline (ALDRICH) à la dose de 12 mg/kg IP dans les mêmes conditions (GOURET et coll., 1973).

- La température rectale est mesurée par une sonde thermique de précision (0,1 °C) couplée à un galvanomètre avant l'injection de réserpine ( $t_{-4}$ ) avant l'injection de la plante ( $t_0$ ) puis 270 minutes et 360 minutes après l'injection de réserpine ( $t_{30}$  et  $t_2$  h).

- Le ptosis est évalué 270 et 360 minutes après l'injection de réserpine, selon la cotation de RUBIN et coll. (1957).

- 0 : occlusion des paupières nulle ;
- 1 : occlusion des paupières au  $\frac{1}{4}$  ;
- 2 : occlusion des paupières au  $\frac{1}{2}$  ;
- 3 : occlusion des paupières aux  $\frac{3}{4}$  ;
- 4 : occlusion totale des paupières.

- L'akinésie est également évaluée 270 et 360 minutes après l'administration de la réserpine. L'évaluation est déterminée en tout ou rien, en considérant le paramètre comme positif (présence d'akinésie) si l'animal est prostré dans sa cage et s'il ne se déplace pas d'une distance au moins égale à la longueur de son corps, ou comme négatif (absence d'akinésie) dans le cas contraire.

#### 6.4.2.3. Problèmes méthodologiques

Après les premiers essais, il s'est avéré que les résultats différaient selon que la souris était manipulée ou non lors des observations.

Donc nous présenterons une première série de résultats où aucune manipulation n'a été effectuée lors des observations, puis une autre série où le ptosis et l'akinésie sont relevés sans toucher l'animal, puis où les mêmes relevés sont effectués environ 15 secondes après l'avoir saisi par la queue.

#### 6.4.2.4. Analyses statistiques

On vérifie l'homogénéité des variances à l'aide du test de BARTLETT.

Les comparaisons entre les lots traités et le lot témoin sont effectuées par le test de NEWMAN et KEULS pour les relevés de températures, par le test de MANN WHITNEY-WILCOXON pour le ptosis et par le test de  $\chi^2$  modifié pour l'akinésie.

#### 6.4.2.5 Résultats

##### - Hypothermie induite par la réserpine

Les mesures de températures sont présentées dans le tableau 30.

L'extrait de X.xanthoxyloïdes (hydro alcoolique d'écorces de racines), comme on l'a vu précédemment (6.3.2.3), n'induit aucune hypothermie significative.

Par contre, la réserpine induit une hypothermie significative dès 4 heures après l'injection, et qui se maintient encore 6 heures après. On observe les mêmes effets avec l'association réserpine-imipramine ou amitriptyline. Ces produits n'antagonisent pas l'hypothermie induite par la réserpine. De même, les extraits de X.xanthoxyloïdes n'antagonisent pas non plus cette hypothermie : il n'y a pas de différence significative, aux différents temps de mesure, entre les températures du lot traité à la réserpine et celle des autres lots.

TABLEAU 30

**EFFETS DE L'IMIPRAMINE, DE L'AMITRIPTYLINE ET DES EXTRAITS DE X.XANTHOXYLOIDES  
SUR L'HYPOTHERMIE INDUITE PAR LA RESERPINE**

TEMPS D'INJECTION	PRODUITS		TEMPS D'OBSERVATION			
			t <sub>-4</sub>	t <sub>0</sub>	t <sub>30 mn</sub>	t <sub>2 h</sub>
à t <sub>0</sub>	X.xanthoxyloïdes 800 mg/kg	TEMPERATURE MOYENNE (°C)	37,2	37,0	36,8	37,1
		E.S.	0,6	0,5	0,2	0,5
à t <sub>-4</sub>	réserpine	TEMPERATURE MOYENNE (°C)	37,0	32,0	31,2	30,2
à t <sub>0</sub>	/	E.S.	1,2	1,4	1,4	1,5
à t <sub>-4</sub>	réserpine	TEMPERATURE MOYENNE (°C)	36,7	32,6	33,3	32,9
à t <sub>0</sub>	imipramine	E.S.	0,5	1,0	1,0	0,8
à t <sub>-4</sub>	réserpine	TEMPERATURE MOYENNE (°C)	37,5	31,8	32,0	31,6
à t <sub>0</sub>	amitriptyline	E.S.	1,0	1,8	1,8	1,6

TABLEAU 30 (suite)

TEMPS D'INJECTION	PRODUITS		TEMPS D'OBSERVATION			
			$t_{-4}$	$t_0$	$t_{30 \text{ mn}}$	$t_{2 \text{ h}}$
à $t_{-4}$	réserpine	TEMPERATURE MOYENNE (°C)	37,1 <i>NS</i>	32,7 <i>NS</i>	30,5 <i>NS</i>	29,0 <i>NS</i>
à $t_0$	X.xanthoxyloïdes 200 mg/kg (écor- ces de racines)	E.S.	0,7	1,0	1,5	1,6
à $t_{-4}$	réserpine	TEMPERATURE MOYENNE (°C)	36,8 <i>NS</i>	31,6 <i>NS</i>	31,1 <i>NS</i>	30,5 <i>NS</i>
à $t_0$	X.xanthoxyloïdes 800 mg/kg (écor- ces de racines)	E.S.	0,9	1,6	1,4	1,7
à $t_{-4}$	réserpine	TEMPERATURE MOYENNE (°C)	37,5 <i>NS</i>	31,6 <i>NS</i>	30,4 <i>NS</i>	29,9 <i>NS</i>
à $t_0$	X.xanthoxyloïdes 200 mg/kg (feuilles)	E.S.	1,1	1,3	1,0	1,8
à $t_{-4}$	réserpine	TEMPERATURE MOYENNE (°C)	37,2 <i>NS</i>	31,8 <i>NS</i>	30,2 <i>NS</i>	29,3 <i>NS</i>
à $t_0$	X.xanthoxyloïdes 800 mg/kg (feuilles)	E.S.	1,2	0,9	1,0	1,8

- Ptosis et akinésie induits par la réserpine

Les résultats des deux expériences sont présentés dans les tableaux 31 et 32.

La réserpine induit, dès 30 mn après injection, l'apparition de ptosis (de 7,6 à 8) et d'akinésie (10) qui vont augmenter (respectivement 8 et 10 après 2 heures).

Ptosis :

Les neuroleptiques de référence utilisés, l'imipramine et l'amitriptyline, ont un effet inhibiteur du ptosis : dans la première expérience, après 30 mn, il n'est que de 6,4 avec l'imipramine et de 6,6 avec l'amitriptyline.

L'amitriptyline semble avoir un effet plus durable que l'imipramine (les ptosis, après 2 heures, sont respectivement de 6,7 et de 7,8).

Ces résultats se retrouvent dans la deuxième expérience.

Pour les extraits de X.xanthoxyloïdes, on note une diminution significative du ptosis à 30 mn, avec des doses d'extraits de 800 mg/kg. Mais les extraits ont un effet assez bref puisque 2 heures après l'injection, la diminution du ptosis n'est plus significative. Une autre plante testée, Euphorbia hirta, a un effet plus durable à la dose de 400 mg/kg (il persiste pendant 2 heures), mais n'a aucun effet sur l'akinésie. Les intensités des effets avec E. hirta sont comparables à celles des effets obtenus avec X. xanthoxyloïdes.

TABLEAU 31

**EFFETS DE L'IMIPRAMINE, DE L'AMITRYPTILINE ET DES EXTRAITS DE X.XANTHOXYLOIDES  
SUR LE PTOSIS ET L'AKINESIE INDUITS PAR LA RESERPINE : PREMIERE EXPERIENCE**

TEMPS D'INJECTION	PRODUITS	PTOSIS				AKINESIE	
		à t <sub>30 mn</sub>		à t <sub>2 h</sub>		à t <sub>30 mn</sub>	à t <sub>2 h</sub>
		MOYENNE	E.S.	MOYENNE	E.S.		
à t <sub>0</sub>	X.xanthoxyloïdes 800 mg/kg	0	0	0	0	0	0
à t <sub>-4</sub> à t <sub>0</sub>	réserpine /	7,9	0,3	8	0	10	10
à t <sub>-4</sub> à t <sub>0</sub>	réserpine imipramine	6,4 **	0,8	7,8	0,6	9	8
à t <sub>-4</sub> à t <sub>0</sub>	réserpine amitriptyline	6,6 **	1,2	6,7	1,3 **	10	10

.../...

TABLEAU 31 (suite)

TEMPS D'INJECTION	PRODUITS	PTOSIS				AKINESIE	
		à 30 mn		à t <sub>2</sub> h		à t <sub>30</sub> mn	à t <sub>2</sub> h
		MOYENNE.	E.S.	MOYENNE	E.S.		
à t <sub>-4</sub>  à t <sub>0</sub>	réserpine  écorces de racines 200 mg/kg	7,7	0,5	7,8	0,4	10	10
à t <sub>-4</sub>  à t <sub>0</sub>	réserpine  écorces de racines 800 mg/kg	7 *	0,8	7,7	0,5	10	9
à t <sub>-4</sub>  à t <sub>0</sub>	réserpine  feuilles 200mg/kg	7,5	0,9	7,8	0,4	10	10
à t <sub>-4</sub>  à t <sub>0</sub>	réserpine  feuilles 800 mg/kg	7,2 *	0,8	8	0	10	10

TABLEAU 32

EFFETS DE DE L'IMIPRAMINE, DE L'AMITRIPTYLINE ET DES EXTRAITS DE X.XANTHOXYLOIDES  
SUR LE PTOSIS ET L'AKINESIE INDUITS PAR LA RESERPINE : 2ème EXPERIENCE

\*  $p < 0,05$   
\*\*  $p < 0,01$

TEMPS D'INJECTION	PRODUITS	PTOSIS				AKINESIE	
		à $t_{30 \text{ mn}}$		à $t_{2 \text{ h}}$		à $t_{30 \text{ mn}}$	à $t_{2 \text{ h}}$
		MOYENNE	E.S.	MOYENNE	E.S.		
à $t_{-4}$	réserpine sans préhension	8	0	8	0	10	10
	avec préhension	7,6	0,8	7,7	0,7	10	10
à $t_{-4}$	réserpine SP	6,3 **	1	6,6 **	1,3	9	8
à $t_0$	imipramine AP	4,1 **	1,8	5,9 **	2,2	5 *	5 *
à $t_{-4}$	réserpine SP	5,7 **	2,1	6,7 **	1	10	9
à $t_0$	amitriptyline AP	4,9 **	1,2	5,9 **	1	5 *	5*
à $t_{-4}$	réserpine SP	7,6	1	6,8	2,3	10	9
à $t_0$	écorces de ra- cines AP 200 mg/kg	7,1	0,9	6,9	1	9	9
à $t_{-4}$	réserpine SP	7,1	1	7,2	2,2	8	10
à $t_0$	écorces de ra- cines AP 800 mg/kg	6,7	1,3	7	1,1	7	6 *

Akinésie :

Dans la première expérience, on ne note aucune modification de l'akinésie. C'est ici qu'apparaît l'intérêt d'avoir fait une deuxième expérience où on effectuait une préhension de l'animal avant de mesurer à nouveau les paramètres : ceci modifie en effet l'akinésie et cette fois on observe une diminution de l'akinésie, après préhension, dans les lots traités avec l'imipramine et l'amitriptyline (on passe de 9 et 10 à 5).

De même, on note une diminution de l'akinésie pour X.xanthoxyloïdes à 800 mg/kg : cette diminution observée dès 30 mn devient significative à 2 heures.

Grâce à cette deuxième expérience, nous avons montré qu'une préhension de l'animal avant la mesure des paramètres permet de révéler une diminution de l'akinésie qui ne serait pas apparue sans cette stimulation de l'animal que constitue le fait de le saisir par la queue. Il est important de noter que cette préhension de l'animal ne modifie en rien les valeurs de l'akinésie pour le lot traité à la réserpine. Donc X.xanthoxyloïdes induit, à la dose de 800 mg/kg, une diminution du ptosis et de l'akinésie.

Pour confirmer l'éventuelle présence d'effet antidépresseur de l'extrait de X.xanthoxyloïdes, nous avons choisi d'étendre notre étude en essayant de mettre en évidence un effet cholinergique, au moyen d'un test couramment utilisé dans la recherche d'un effet antidépresseur : le test d'inhibition des effets périphériques et centraux de l'oxotrémorine.

**6.4.3 Recherche de l'influence de X.xanthoxyloïdes sur l'hypothermie, la salivation, les larmoiements et les tremblements induits par l'oxotrémorine .**

**6.4.3.1 Introduction**

L'oxotrémorine est une substance cholinergique centrale, agoniste des récepteurs muscariniques, qui induit des symptômes périphériques comme les tremblements, la salivation, les larmoiements et un symptôme central : l'hypothermie (NORDGREN, 1987).

Des antidépresseurs peuvent antagoniser les symptômes cholinergiques de l'oxotrémorine (SCHMITT et coll., 1966 ; GOURET et coll., 1973 ; BOISSIER et coll., 1971 ; NORDGREN et coll., 1987 ; WORMS et coll., 1987).

**6.4.3.2 Protocole expérimental**

la technique est inspirée de la méthode de Spencer (1966) (RAMBERT et coll., 1986).

Des lots de 6 souris (laboratoires Janvier, Le Genest) reçoivent une injection de X.xanthoxyloïdes par voie IP aux doses de 200 et 800 mg/kg (1 ml par 100 g de masse corporelle), 30 minutes avant l'injection par voie IP d'oxotrémorine (Sigma) à la dose de 0,5 mg/kg (1ml par 100 g de masse corporelle). Un lot de référence reçoit une solution d'imipramine (Tofranil<sup>R</sup>, Ciba-Geigy) par voie IP à la dose de 5 mg/kg (1 ml par 100 g de masse corporelle) dans les mêmes conditions. Un lot témoin reçoit du NaCl 0,9 %.

La température rectale est mesurée par sonde thermique de précision (0,1 °C) couplée à un galvanomètre, avant l'injection de X.xanthoxyloïdes (- 30 minutes), avant l'injection d'oxotrémorine (0 minute) puis 30, 60 et 120 minutes après.

Les tremblements et la salivation sont observés avant chaque mesure de la température rectale, des coefficients de 0 à 3 sont attribués à chaque souris en fonction de l'amplitude des symptômes :

- 0 pour l'absence de salivation, tremblement ou larmoiement,
- 3 pour un état pathologique important,
- 1 et 2 pour des états intermédiaires.

#### 6.4.3.3 Analyses statistiques

Les lots traités sont comparés au lot témoin (après vérification de l'homogénéité des variances), à l'aide du test "t" de Student pour les mesures de températures.

Pour la comparaison des tremblements, larmoiements et salivation, on utilise le test de Mann Whitney.

#### 6.4.3.4 Résultats

Ils sont présentés dans les tableaux 33 et 34.

- Hypothermie :

Avec le lot témoin (NaCl 0,9 % puis oxotrémorine 30 minutes après), on observe une hypothermie 30 minutes après l'injection d'oxotrémorine : on passe de 37°5 à 32°1.

Cette hypothermie est encore nette 2 heures après l'injection d'oxotrémorine.

L'injection préalable d'imipramine antagonise cette hypothermie due à l'oxotrémorine : 30 minutes après l'injection d'oxotrémorine, on observe que la température est passée de 37°5 à 35°2 : il y a une différence significative avec le lot témoin oxotrémorine, différence qui existe encore à 120 minutes. Donc ceci confirme les données de la littérature : l'imipramine a bien une action inhibitrice de l'hypothermie induite par l'oxotrémorine.

Par contre les injections de X.xanthoxyloïdes 200 mg/kg ou 400 mg/kg n'induisent aucune réduction significative de l'hypothermie due à l'oxotrémorine.

**TABLEAU 33**  
**EFFETS DE L'IMIPRAMINE ET DE X.XANTHOXYLOIDES**  
**SUR LES TREMBLEMENTS, LES LARMOIEMENTS ET LA SALIVATION**  
**INDUITS PAR L'OXOTREMORINE**

\* p < 0,05  
 \*\* p < 0,01

LOTS		30 mn			60 mn			120 mn		
		T	L	S	T	L	S	T	L	S
TEMOINS NaCl 0,9 ‰	MOYENNES	3	2,7	2,7	2,7	3	2,2	1,5	2	1,3
	E.S.	0	0,2	0,2	0,2	0	0,2	0,2	0,4	0,2
imipramine 5 mg/kg	MOYENNES	1,7	1,3	1,3	1	1,7	0,8	0	0,7	0,3
	E.S.	0,2	0,3	1,2	0,3	0,3	0,2	0	0,2	0,2
	%/TEMOINS	-43 **	-52 *	-52	-63 **	-43	-64 *	-100 **	-65 *	-77 *
<u>X.xanthoxyloides</u> 200 mg/kg	MOYENNES	2,5	2,7	2	2,2	2,5	1,5	0,8	1	0,7
	E.S.	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,3
	%/TEMOINS	-17	0	-26	-19	-17	-32	-47	-50	-46
<u>X.xanthoxyloides</u> 800 mg/kg	MOYENNES	2,8	2,7	2,7	2	2,5	1,7	0,8	1,5	1
	E.S.	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3	0,4	0,3
	%/TEMOINS	-7	0	0	-26	-17	-23	-47	-25	-23

TABLEAU 34

EFFETS DE L'IMIPRAMINE ET DE X.XANTHOXYLOIDES  
SUR L'HYPOTHERMIE INDUITE PAR L'OXOTREMORINE

LOTS		- 30 mn	0 mn	30 mn	60 mn	120 mn
TEMOINS	MOYENNES	37°9	37°5	32°1	30°2	30°1
NaCl 0,9 %	E.S.	0,2	0,2	0,4	0,7	0,9
imipramine	MOYENNES	38°	37°5	35°2 <sup>***</sup>	32°6	34°5
5 mg/kg	E.S.	0,3	0,4	0,2	0,5	0,4
X.xanthoxyloïdes	MOYENNES	37°7	37°1	32°3	30°9	32°1
200 mg/kg	E.S.	0,3	0,4	0,4	0,5	1,0
X.xanthoxyloïdes	MOYENNES	38°1	37°9	32°3	30°4	32°5
800 mg/kg	E.S.	0,1	0,4	0,4	0,4	1

\*\*\*  $p < 0,001$

- Le lot traité par l'oxotrémorine manifeste des tremblements, salivation et larmoiements dès 30 minutes après l'injection. L'effet de l'oxotrémorine est encore visible 2 heures après l'injection.

- L'imipramine 5 mg/kg inhibe significativement les effets de l'oxotrémorine, en moyenne de 50 %.

L'effet de l'imipramine apparaît dès 30 minutes après son injection, il est maximal 2 heures après l'injection (- 100 % pour les tremblements).

- L'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines de X.xanthoxyloïdes inhibe aussi légèrement, mais non significativement les effets de l'oxotrémorine, et l'effet est tardif : pour la salivation et les larmoiements, la diminution n'est sensible que 1 heure après l'injection de la plante.

L'effet augmente jusqu'à 2 heures après l'injection pour atteindre une diminution moyenne de 50 % (dose de 200 mg/kg).

Il est à noter qu'on n'observe pas une relation dose-effet pour l'effet de l'extrait de X.xanthoxyloïdes : l'effet inhibiteur de l'oxotrémorine semble un peu plus faible à 800 mg/kg qu'à 200 mg/kg.

Une autre plante testée, Euphorbia hirta, présente les mêmes effets à 400 mg/kg : on obtient une tendance similaire à la réduction des paramètres (pourcentages de variation très voisins).

#### 6.4.4 Discussion

Nous avons donc observé que X.xanthoxyloïdes diminue significativement le ptosis et l'akinésie induits par la réserpine. L'extrait végétal inhibe aussi légèrement les effets de l'oxotrémorine comme les tremblements, la salivation et les larmoiements, alors qu'il reste sans effet sur l'hypothermie. On peut donc dire que X.xanthoxyloïdes aurait un effet antidépresseur léger.

Nous savons que tremblements, salivation et larmoiements sont des symptômes caractéristiques d'une action périphérique, alors que l'hypothermie résulte d'une action centrale de l'oxotrémorine. Donc l'interaction entre l'oxotrémorine et X.xanthoxyloïdes se ferait plutôt à un niveau périphérique.

L'antagonisme du ptosis caractérise des composés stimulant les récepteurs a adrénérgiques ou sérotoninergiques. Quant à l'antagonisme de l'akinésie, il serait dû à une action dopaminergique. On peut donc penser que X.xanthoxyloïdes aurait quelques effets sur ces divers récepteurs. L'ensemble de ces interactions confèrerait donc à l'extrait végétal un certain effet antidépresseur. Or certaines benzodiazépines, comme le diazépam, possèdent des propriétés analogues : le diazépam peut antagoniser les tremblements induits par l'oxotrémorine sans modifier la salivation ou l'hypothermie, et ceci en modulant la réceptivité des récepteurs muscariniques (NORDGREN, 1987).

Donc ce léger effet antidépresseur de X.xanthoxyloïdes est encore un point commun avec le profil pharmacologique des tranquillisants mineurs : notre démarche expérimentale nous a donc conduits à mettre en évidence plusieurs propriétés caractéristiques de ces substances : sédation, anxiolyse, potentialisation des barbituriques et effet antidépresseur. On sait que les antidépresseurs classiques, comme les benzodiazépines d'ailleurs, diminuent le seuil convulsivant. Il serait donc intéressant de vérifier s'il existe une interaction entre l'extrait de X.xanthoxyloïdes et une substance convulsivante.

## **6.5 Recherche d'un effet anticonvulsivant**

### **6.5.1 Introduction**

L'épilepsie se traduit par la répétition, chez l'individu, de crises épileptiques ou convulsions, dues à des décharges excessives des neurones cérébraux.

Ces convulsions ont pu être reliées à des modifications concernant les neurotransmetteurs. (LAROUSSE, 1979). Ainsi, des expériences ont montré la réduction des taux d'acétylcholine et de monoamines, surtout la noradrénaline dans le cortex isolé. De plus, une des causes apparentées majeures dans l'induction des convulsions serait l'apparition d'un déséquilibre entre le glutamate (stimulant cortical) et le GABA (inhibiteur cortical), (GLASSON et coll., 1978). La conséquence de ces modifications est une apparition de décharges paroxysmiques de potentiels d'action dues à la synchronisation anormale d'un ensemble de neurones du cortex. Donc l'épilepsie est un phénomène résultant de la modification de divers facteurs (CHAUVEL, 1980).

Certaines substances peuvent induire l'apparition des convulsions, entre autres celles qui augmentent le turn over des médiateurs excitateurs. Par contre, les substances qui diminuent ce turn over inhibent l'apparition des crises. Le mode d'action de ces substances commence à être bien connu : c'est la stimulation initiale à d'autres foyers qui serait bloquée. Ce système bloque éventuellement d'autres systèmes neuronaux, d'où effets secondaires sur le système nerveux central. (LAROUSSE, 1979, CHAUVEL, 1980). L'interaction entre substance anti épileptique et agents convulsivants peut intervenir soit au niveau des neuromédiateurs, soit au niveau post synaptique, en réduisant la potentialisation, ou au niveau présynaptique (ATP ase).

Les benzodiazépines ont ainsi un effet anti convulsivant qui serait dû à une inhibition GABA ergique pré et post synaptique (LIPPA et coll., 1979 ; CHAUVEL, 1980 ; HAEFELY, 1983 ; MULLER, 1987), surtout au niveau du système limbique, du cortex cérébral, et du système nigro-striatal. Cette inhibition GABA ergique se traduirait par une diminution du turn over de la dopamine (COSTA et coll., 1975). Pour d'autres auteurs, les benzodiazépines réduiraient les convulsions en diminuant le taux de GMP cyclique au niveau de cervelet (taux généralement sous l'influence du système GABA ergique, par l'intermédiaire des cellules de Purkinje) (KOE, 1979 ; LIPPA et coll., 1979). L'influence de la transmission GABA ergique dans la genèse ou au contraire l'inhibition des convulsions a d'ailleurs été confirmée par l'étude de substances bloquant les récepteurs du GABA, comme la bicuculline ou la picrotoxine, qui sont d'efficaces agents convulsivants, alors que la strychnine, qui agit en bloquant le récepteur de la glycine, a moins d'efficacité. (LIPPA et coll., 1979).

Pour mettre en évidence des propriétés de l'extrait de X.xanthoxyloïdes communes à celles des benzodiazépines, nous allons rechercher d'éventuelles propriétés anticonvulsivantes de l'extrait végétal.

Nous utiliserons donc le test du pentétrazol, couramment utilisé avec les benzodiazépines (HAEFELY, 1983), plutôt que le test de convulsions induites par électro chocs. Le pentétrazol est une substance chimique convulsivante qui perturbe les mécanismes cérébraux de la coordination motrice, ce qui provoque à 125 mg/kg des crise d'épilepsie caractérisées par des convulsions cloniques apparaissant en quelques minutes, suivies de convulsions toniques conduisant à la mort de l'animal. Il est à noter que les antidépresseurs, les neuroleptiques n'ont aucun effet inhibiteur des effets convulsivants du pentétrazol.

### 6.5.2 Protocole expérimental

Il est inspiré de la méthode de CHAMBON et coll., (1984). Des lots de 10 souris (laboratoires Césal, Montmédy) reçoivent une administration de X.xanthoxyloïdes par voie IP 30 minutes avant l'administration de pentylénetétrazol (cardiazol<sup>R</sup>, laboratoire Aldrich, Europe-Beersse, Belgique), par voie IP, 125 mg/KG, 1 ml par 100 g de masse corporelle.

Un lot témoin reçoit une solution de NaCl 0,9 % dans les mêmes conditions.

Un lot de référence reçoit du clorazépate dipotassique (Tranxène<sup>R</sup>, Clin Midy, Montpellier) aux doses de 1, 10 et 40 mg/kg.

D'autre part, un essai d'établissement de relation dose-effet a été réalisé pour le pentétraazol, injecté à des doses allant de 31,25 mg/kg à 125 mg/kg.

On relève le temps d'apparition des convulsions cloniques et toniques ainsi que le temps où survient la mort.

### 6.5.3 Résultats

Le tableau 35 donne les divers résultats obtenus en fonction des doses croissantes de pentétrazol. Avec le pentétrazol 31,25 mg/kg, aucune convulsion n'apparait. Jusqu'à 62,50 mg/kg, des convulsions sont observées mais elles ne sont jamais mortelles.

Les taux de mortalité augmente à partir de la dose de 65 mg/kg (10 %) jusqu'à 125 mg/kg (100 %).

On remarque qu'il existe une grande variabilité des résultats obtenus avec le pentétrazol : par exemple pour la dose de 85 mg/kg, le pourcentage de mortalité varie entre 0 et 80 %. C'est en raison de cette variabilité qu'il ne nous a pas été possible de calculer une DE 50.

Les résultats présentés dans le tableau 36 montrent que les extraits aqueux de feuilles à 400 mg/kg et d'écorces de racines à 400, 800 et 1 600 mg/kg n'ont aucun effet ni sur l'apparition de convulsions cloniques et toniques, ni sur la mortalité.

Par contre le clorazébate dipotassique diminue le taux de mortalité de 30 % dès la dose de 1 mg/kg pour l'annuler aux doses de 10 et 40 mg/kg.

Nous retiendrons donc que X.xanthoxyloïdes n'a pas d'activité anticonvulsivante.

TABLEAU 35

EFFETS DU PENTETRAZOL SUR L'APPARITION DES CONVULSIONS CHEZ LA SOURIS

DOSES (mg/kg)	DATES	CONVULSIONS		MORTALITE
		CLONIQUES (%)	TONIQUES (%)	
31,25	22/11/85	0	0	0
46,87	22/11/85	50	10	0
62,50	14/11/85	90	0	0
65	21/02/85	70	10	10
70	07/02/85	90	10	10
	21/02/85	80	0	0
72	21/02/85	70	20	20
74	21/02/85	70	20	20
75	07/02/85	100	50	50
	21/02/85	80	20	20
	13/03/85	100	10	10
	28/03/85	90	40	40
78,12	22/11/84	100	70	50
	21/02/84	80	10	10

TABLEAU 35 (suite)

DOSES (mg/kg)	DATES	CONVULSIONS		MORTALITE
		CLONIQUES (%)	TONIQUES (%)	
85	21/11/84	0	0	0
	14/03/85	100	70	70
	21/03/85	100	90	80
93,75	14/11/84	80	60	60
	21/02/85	100	50	50
100	21/02/85	100	80	80
125	21/11/84	90	100	100

TABLEAU 36

EFFETS DE X.XANTHOXYLOIDES ET DU CLORAZEPATE SUR LES CONVULSIONS  
ET SUR LA MORTALITE INDUITE PAR LE PENTETRAZOL

DATES	DOSES (mg/kg)	CONVULSIONS		MORTALITE
		CLONIQUES (%)	TONIQUES (%)	
<u>X.x</u>	0	100	100	100
écorce de racines	400	100	100	100
	800	100	100	100
	1600	100	100	100
<u>X.x</u> feuilles	400	100	100	100
	1	90	70	70
clorazepate	1	90	70	70
	10	60	0 *	0 *
	40	0 *	0 *	0 *

N = 10

\* p &lt; 0,001

La potentialisation de l'hypnose au pentobarbital sodique et au barbital, ainsi que l'induction du sommeil après l'administration d'une dose infra-hypnotique de pentobarbital sodique, confirme les résultats précédents obtenus avec les tests comportementaux, à savoir que X.xanthoxyloïdes présente un effet sédatif à forte dose (400 mg/kg et plus). Les tests comportementaux ont également montré un effet anxiolytique à faible dose. De plus X.xanthoxyloïdes présente un léger effet antidépresseur. Le profil de l'activité psychotrope de X.xanthoxyloïdes semble donc s'apparenter à celui des tranquillisants mineurs classiques : les benzodiazépines, exception faite de l'action anticonvulsivante. Toutefois, des substances appartenant à d'autres classes pharmacologiques que les tranquillisants mineurs sont connues pour présenter des effets sédatifs et/ou anxiolytiques. C'est le cas des analgésiques par exemple (BOISSIER et coll., 1968 ; GIROUD, 1979 : RAMBERT et coll., 1986). Ainsi, dans divers protocoles classiques, allons nous rechercher l'existence d'effets analgésiques chez X.xanthoxyloïdes. Nous avons d'ailleurs vu que dans les indications traditionnelles, l'extrait végétal est utilisé pour calmer diverses douleurs; Nous allons donc objectiver ces pratiques empiriques.

## VII Recherche d'autres activités pharmacologiques

### 7.1 Recherche d'effets analgésiques

#### 7.1.1 Introduction

##### La douleur :

La douleur a été définie par l'Association Internationale pour l'étude de la douleur, en 1979, comme "une sensation désagréable et une expérience émotionnelle associées à des dégâts tissulaires présents ou potentiels". Bien que la sensation douloureuse soit souvent un signal d'alerte de l'organisme, dans certains cas, son origine ne réside pas en de tels stimuli, et elle nuit à la qualité de vie du sujet sans avoir une utilité précise (LASAGNA, 1986). La sensation douloureuse prend naissance dans des régions périphériques, au niveau de terminaisons nerveuses libres ; il y a relais au niveau médullaire puis arrivée à l'encéphale par des voies ascendantes.

Les antalgiques :

De ce fait, les médicaments antalgiques destinés à faire disparaître la douleur sont répartis en deux catégories. D'une part, les analgésiques morphiniques représentés par les opiacés et les composés à structure chimique analogue, hémi-synthétiques ou synthétiques, que l'on appelle analgésiques centraux car ils possèdent des propriétés psychotropes de nature à induire une dépression du système nerveux central, matérialisée par de la sédation et parfois une excitation motrice (LIM et coll., 1964 ; SCHMITT, 1970), une dépression respiratoire, un ralentissement du transit intestinal, une modification du comportement et du rythme cardiaque (ROQUES, 1980). D'autre part, les analgésiques non morphiniques, de structure chimique différente, agissant en partie localement au siège du stimulus douloureux, d'où leur nom d'analgésiques périphériques.

Les récepteurs morphiniques :

Les récepteurs morphiniques furent découverts dans les années 1971-1973. Or le fait que la perception de la douleur soit variable selon les circonstances a souvent conduit à l'idée que le système nerveux devait synthétiser une substance analgésique. Ces peptides endogènes "morphine-like" furent identifiés et bientôt synthétisés en 1975 : il s'agit des enképhalines, d'action semblable à la morphine mais de puissance inférieure, et des endorphines, plus actives. Par certains aspects, les effets comportementaux des endorphines de type  $\alpha$  ressemblent aux effets centraux de l'amphétamine (BOHUS et DE WIED, 1980 ; ROSSIER et CHAPOUTHIER, 1982 ; PATEY et ROSSIER, 1986). A partir des membranes isolées d'un homogénat de tissu cérébral incubées avec un opiacé radioactif (la lévorphane), on a établi la présence de récepteurs stéréospécifiques des opiacés localisés aux membranes synaptiques de certains neurones; Ces récepteurs sont très spécifiques puisque la noradrénaline, la dopamine, la sérotonine et l'acétylcholine ne sont pas fixées par eux. Par contre ces récepteurs fixent aussi électivement les antagonistes morphiniques tels la naloxone. Il existe au moins 3 types de récepteurs  $\mu$ ,  $\kappa$  et  $\delta$  pour les substances morphinomimétiques. Les récepteurs  $\mu$ , à forte affinité pour la morphine, semblent impliqués préférentiellement dans l'analgésie. L'action des substances morphiniques à leur niveau est facilement antagonisée par la naloxone. Par contre la fixation des dérivés morphiniques aux récepteurs  $\kappa$  et  $\delta$  ne semble pas indispensable à l'analgésie : ces récepteurs pourraient posséder des propriétés non analgésiques plus spécifiques : comportementales, ... (ROQUES, 1980).

Les régions les plus riches en récepteurs morphiniques sont la substance gélatineuse de Rolando (région dorsale de la corne dorsale de la moëlle), le noyau de la racine descendante du trijumeau, la substance grise péri-aqueducale du tronc cérébrale, le thalamus médian, le système limbique (notamment l'amigdale). Les récepteurs sont plus nombreux dans la substance grise que dans la substance blanche (en faible densité dans le cortex cérébral ou cérébelleux). On trouve aussi ces récepteurs au niveau du tube digestif par exemple (DEHEN, 1979).

#### Mode d'action des composés morphiniques :

Le travaux de BENOIST (1975) et de BESSON (1977) sur les études neurophysiologiques, biochimiques et comportementales leur ont permis d'envisager des sites d'action multiples des composés morphiniques au niveau du système nerveux central, qui ne correspondent pas tout à fait à la cartographie des récepteurs morphiniques. On peut noter une action au niveau médullaire, du tronc cérébral, des centres diencephaliques et corticaux. Au niveau médullaire, une des principales actions des dérivés morphiniques consiste à bloquer la transmission des messages nociceptifs au niveau des neurones-relais de la corne dorsale de la moëlle épinière où les substances agissent au niveau des groupes cellulaires de la couche V de Rexed (ROQUES, 1980) où arrivent les fibres afférentes primaires de faible diamètre (A $\delta$  et C). Au niveau du tronc cérébral, la formation réticulée apparaît comme une structure de contrôle des voies sensitives afférentes ascendantes et des voies motrices afférentes descendantes. Les sites d'action ont été localisés au niveau du plancher du quatrième ventricule situé dans la partie dorsale de la formation réticulée.

A ce niveau, et par des projections ascendantes, les substances morphiniques peuvent modifier à distance le fonctionnement du diencephale et du télencéphale (néocortex, système limbique, hypothalamus), et contrôler ainsi les formations impliquées dans la perception de la douleur et les réactions affectives, ainsi que les réactions comportementales (la morphine peut agir ainsi comme les endorphines et les enképhalines (DEHEN, 1979). Des réactions somatiques (variations sécrétoires de gonadotrophine) peuvent être déclenchées (CACICEDO et FRANCO, 1985).

Par ailleurs, au moyen d'interneurones, elles peuvent activer le système inhibiteur situé dans la partie ventrale de la formation réticulée, ce qui permet l'inhibition de la transmission spinale par les voies descendantes. Un autre site d'action morphinique a été localisé par stimulation électrique dans les noyaux sérotoninergiques du raphé situé dans la région péri-aqueducale, à proximité du quatrième ventricule. Par l'intermédiaire d'un réseau d'interneurones et de projections nerveuses ascendantes, l'activation de ce site d'action par des dérivés morphiniques modifie également le fonctionnement des structures du diencephale et du télencéphale et stimule les fonctions inhibitrices des voies descendantes (PERT et coll., 1976). Des micro-injections de morphine dans la substance grise centrale et le thalamus médian, induisent le sommeil chez le lapin (TISSOT, 1980). La morphine agit donc nettement sur l'activité comportementale.

Substance P :

La stimulation électrique de la substance grise péri-aqueducale et des noyaux dorsal et central inférieur du raphé supprime totalement les réactions provoquées par les stimulations nociceptives : il y a eu activation des voies inhibitrices descendantes réticulo-spinales, et donc analgésie. On obtient le même effet en injectant des opiacés dans les structures péri-aqueduales : on suppose donc qu'une stimulation centrale induit la libération de peptides endogènes, exerçant un effet analgésique (DEHEN, 1979). L'action de la morphine ne se ferait pas au niveau du corps cellulaire du neurone mais en amont, en empêchant la libération d'un neuromédiateur dont le rôle serait d'assurer la transmission synaptique du message nociceptif. Ce neuromédiateur serait la substance P, découverte par VON EULER et GADDUM en 1931 (PRIVAT, 1980).

Ce peptide de 11 acides aminés a été localisé dans de nombreuses régions du cerveau et de la moëlle épinière (couches 4 et 5 de Rexed), responsables de la transmission et de la régulation des sensations douloureuses (PRIVAT, 1980). Un antagoniste post-synaptique spécifique de la substance P pourrait être l'arme absolue contre les phénomènes douloureux. Les dérivés morphiniques agiraient au niveau pré-synaptique.

Les analgésiques non morphiniques :

Certains analgésiques, dont le chef de file est l'aspirine, agissent à l'origine du message nociceptif : celui-ci résulte de la mise en jeu de terminaisons libres, amyéliniques, dans les divers tissus. Ces terminaisons sont excitées par des substances algogènes (prostaglandines E, histamine, sérotonine, ...) qui sensibilisent ces terminaisons amyéliniques, et l'aspirine va agir en diminuant la synthèse de ces substances algogènes. C'est pourquoi ces produits ne peuvent montrer leur effet antalgique que dans le cas de douleurs associées à une lésion tissulaire entraînant la libération des facteurs de l'inflammation et ne répondant pas à un stimulus nociceptif d'origine électrique. Expérimentalement, cette condition est réalisée lors de l'injection I.P de substances nociceptives chimiques comme la phénylbutazone et l'acide acétique. Mais il faut bien admettre que les dérivés salicylés (aspirine) ne procèdent pas uniquement à partir de la libération locale des facteurs de l'inflammation et qu'une action centrale, bien que ces substances soient dépourvues d'effet psychotrope, est également probable, principalement au niveau de l'hypothalamus, ce qui expliquerait l'effet analgésique des dérivés comme la phénacétine, le paracétamol et l'absence totale d'effet anti-inflammatoire de ces substances.

Notre démarche expérimentale :

Nous allons donc évaluer les propriétés analgésiques de X.xanthoxyloïdes : d'après ce que nous venons d'expliquer, si un effet analgésique typiquement central était mis en évidence (mode d'action comparable aux dérivés morphiniques), ceci pourrait justifier l'effet sédatif observé dans les divers tests comportementaux.

Notre choix s'est porté sur deux tests pharmacologiques qui nous permettent de dissocier l'effet central de l'effet périphérique.

Le test du "writhing" permet de mettre en évidence l'activité des analgésiques du type morphine et des analgésiques du type aspirine et de quantifier l'action analgésique d'une substance vis à vis de la douleur occasionnée par l'administration d'une substance nociceptique chimique, à savoir l'acide acétique. Le test de la plaque chauffante permet uniquement de mettre en évidence l'activité des analgésiques du type morphine, par quantification de l'effet analgésique de la substance à analyser vis à vis d'une douleur occasionnée par la chaleur.

Pour séparer l'effet analgésique imputable à une activité de type morphinique de celui imputable à l'activité non morphinique, nous utilisons une substance antagoniste pure et spécifique des composés morphiniques, à savoir la naloxone. Il faut savoir que cet antagonisme est compétitif et que la naloxone n'a pas d'effet intrinsèque antagoniste au niveau de la douleur (RUCKEBUSCH et BUENO, 1983).

La naloxone est capable de déplacer des sites récepteurs aussi bien la morphine que les substances endogènes (enképhalines et endorphines) (RUCKEBUSCH et BUENO, 1983 ;BAILEY et coll., 1986).

La naloxone inhibe les effets de la morphine : effets analgésiques mais aussi rigidité cataleptique induite par la morphine 20 mg/kg. Ceci serait utile pour supprimer les effets périphériques indésirables des analgésiques opiacés (BROWN et coll., 1983).

Grâce aux tests choisis, nous allons donc étudier les éventuels effets analgésiques de X.xanthoxyloïdes.

## 7.1.2 Protocoles expérimentaux

### 7.1.2.1 Le test du writhing

La technique utilisée a été choisie d'après la méthode de SIEGMUND et coll., (1957). Le principe est de provoquer, par injection d'une substance algique, un syndrome de douleur viscérale chez la souris, qui se caractérise par l'étirement des pattes postérieures et par un mouvement de torsion des flancs de l'animal. La fréquence de ces symptômes douloureux est abaissée si la souris a été préventivement traitée par un antalgique.

- 7 lots de 10 souris (laboratoires Janvier, Le Genest) reçoivent l'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines de X.xanthoxyloïdes au doses de 6,25 ; 12,5 ; 25 ; 100 ; 200 ; 400 et 800 mg/kg par voie IP, dissous dans du NaCl 0,9 ‰ et ceci 30 minutes avant l'injection par voie IP de l'agent algique dissous dans l'eau distillée (acide acétique à 1,2 ‰, obtenu à partir d'acide acétique Prolabo ; d = 1,05 ; 99-100 ‰).
- un lot témoin reçoit du NaCl 0,9 ‰ avant l'acide acétique, dans le mêmes conditions.

- 3 lots de 10 souris reçoivent par voie IP les 3 substances de référence :

- le clorazébate dipotassique (CD) (Tranxène<sup>R</sup>, Clin Midy, Montpellier) à la dose de 80 mg/kg.
- l'acétysalicylate de lysine (ASL) (Aspégic<sup>R</sup>, Synthélabo France, Paris), à la dose de 68 mg/kg.
- le sulfate de morphine (M) à la dose de 1,15 mg/kg.

La comptabilisation des contorsions et des étirements des pattes postérieures débute immédiatement après l'administration de l'acide acétique et se poursuit pendant 30 minutes.

#### 7.1.2.2. Le test de la plaque chauffante

La technique utilisée est inspirée de la méthode de Janssen et Jagueneau décrite par Boissier et coll. (1956). Une surface plane est maintenue à 65 ° + ou - 2 ° à l'aide d'un bain marie.

La souris est déposée sur la plaque chauffante et on mesure le temps mis par l'animal pour se lécher les pattes antérieures. On retire aussitôt l'animal de la plaque.

Les animaux sont leurs propres témoins ; avant le test et avant toute injection, on fait passer chaque animal deux fois sur la plaque, à 10 minutes d'intervalle, pour déterminer le temps moyen mis pour le léchage des pattes antérieures, avant traitement.

Après ces passages et 30 minutes avant le test, on injecte par voie I.P à des lots de 10 souris soit l'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines de X.xanthoxyloides aux doses aux doses de 25, 50, 100, 200, 400 et 800 mg/kg, soit le clorazépate dipotassique (CD) (tranxène<sup>R</sup>, Clin Midy, Montpellier) à la dose de 80 mg/kg, soit l'acétylsalicylate de lysine (ASL) (Aspégic<sup>R</sup>, Synthélabo France, Paris), à la dose de 68 mg/Kg, soit le sulfate de morphine (M) aux doses de 1,15 ; 2,3 ; 4,6 ; 9,2 mg/kg.

Pour déterminer le site d'action analgésique, on injecte à 3 lots de souris, 45 minutes avant le test, de la naloxone (N) Narcan<sup>R</sup>, Ciba Geigy, Bâle, Suisse), à 1 mg/kg par voie sous cutanée ; puis 30 minutes avant le test, par voie IP, un lot reçoit du NaCl 0,9 ‰, un lot reçoit l'extrait végétal à la dose de 800 mg/mg et un lot reçoit le sulfate de morphine à la dose de 10 mg/kg.

30 minutes après les injections, on mesure à nouveau le temps nécessaire pour le léchage des pattes antérieures, après traitement.

### 7.1.3. Analyses statistiques

Pour les deux tests du writhing et de la plaque chauffante, les différences entre les groupes de souris traitées et celui des témoins sont estimées à l'aide de l'analyse de variance, après vérification de l'homogénéité des variances à l'aide du test de Bartlett. Puis les valeurs sont comparées deux à deux à l'aide du test de comparaisons multiples de Newman-Keuls. La DE 50 est évaluée grâce à la méthode de Liechtfeld et Wilcoxon (1949).

#### 7.1.4. Résultats

##### 7.1.4.1. Le test du writhing

Les résultats sont présentés sur le tableau 37 (et la figure 15). L'acétylsalicylate de lysine, le clorazépate dipotassique et le sulfate de morphine réduisent le nombre de contorsions et d'étirements de façon significative (respectivement -59, -80 et -67 %).

De même, l'extrait hydro alcoolique d'écorces de racines a également un effet analgésique : cet effet devient significatif à 25 mg/kg (-56 %) et augmente jusqu'à 800 mg/kg (-82 %).

La D.E 50 est de 18,13 mg/kg  $\pm$  0,5 mg/kg.  
 Pour une autre plante efficace testée, Euphorbia  
hirca, on obtient une DE 50 de 25 mg/kg  $\pm$  0,5 mg/kg

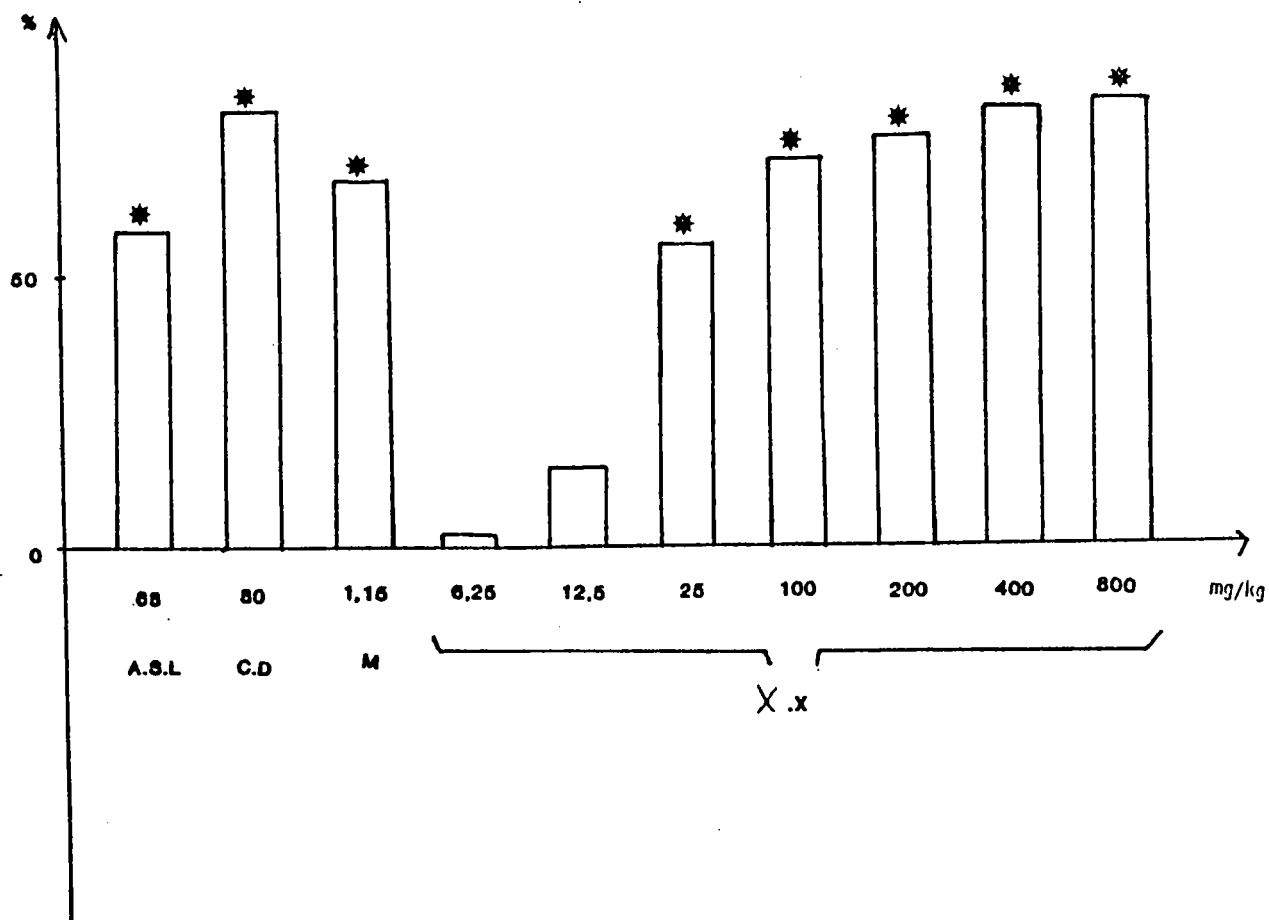
TABLEAU 37

EFFETS ANALGESIQUES DE L'ECORCE DE X.XANTHOXYLOIDES  
(EXTRAIT HYDRO-ALCOOLIQUE), DE L'ACETYLSALICYLATE DE LYSINE (ASL),  
DU CLORAZEPATE DIPOTASSIQUE (CD) ET DU SULFATE DE MORPHINE (M)  
VIS A VIS DE LA DOULEUR INDUITE PAR L'ACIDE ACETIQUE

	TEMOINS NaCl 0,9 %	ASL	C.D	M	<u>X.xanthoxyloides</u> extrait alcoolique écorces racines						
		68 mg/kg	80 mg/kg	1,15 mg/kg	6,25 mg/kg	12,5 mg/kg	25 mg/kg	100 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg	800 mg/kg
NUMBER TOTAL ETIRE- MENTS & CONTORSIONS MOYENNE SUR 10 SOURIS	50	21	10	16	49	43	22	14	12	10	9
E.S.	5	4	3	5	5	4	3	3	3	3	2
% DE VARIATION PAR RAPPORT AUX TEMOINS NaCl		-59	-80	-67	-2	-14	-56	-72	-75	-80	-82
p		<0,001	<0,001	<0,001	NS	NS	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

**Fig 15** : Effet analgésique de l'écorce de racines de X. xanthoxyloïdes (extrait hydro alcoolique) vis-à-vis de la douleur induite par l'acide acétique.

En abscisses figurent les produits et doses testés : ASL = acétyl salicylate de lysine ; CO = clorazépate dipotassique ; M = sulfate de morphine ; en ordonnées sont reportés les pourcentages de protection ; \*  $p < 0,00$



#### 7.1.4.2. Le test de la plaque chauffante

Les résultats sont présentés sur les tableaux 38 et 39 et les figures 16 et 17.

Le clorazépaté dipotassique et le sulfate de morphine augmentent le seuil de sensibilité à la chaleur, respectivement de 75 et 19 %. De même, le sulfate de morphine augmente le seuil de sensibilité à la chaleur, de 19 à 85 % quand les doses augmentent de 1,15 à 9,2 mg/kg. La DE 50 est de  $3,6 \text{ mg/kg} \pm 0,05 \text{ mg/kg}$ .

L'extrait de X.xanthoxyloïdes présente aussi un effet analgésique dans ce test : on observe une augmentation du seuil de sensibilité à partir de la dose de 100 mg/kg (+ 18 %) et cette augmentation devient significative à partir de 200 mg/kg (+ 22 %) jusqu'à 800 mg/kg (+ 61 %). On observe donc une relation effet/dose. La DE 50 est de  $515 \text{ mg/kg} + \text{ ou } - 1 \text{ mg/kg}$ .

La naloxone injectée seule n'a pas d'effet propre sur la sensibilité à la chaleur, tout comme l'acétylsalicylate de lysine, conformément aux données de la littérature. Mais l'injection préalable de naloxone antagonise l'effet analgésique de la morphine 10 mg/kg (- 42 %) et de l'extrait de X.xanthoxyloïdes 800 mg/kg (- 33 %) (figure 17).

TABLEAU 38

EFFETS ANALGESIQUES DU CLORAZEPATE DIPOTASSIQUE (CD),  
DE L'ACETYLSALICYLATE DE LYSINE (ASL),  
DU SULFATE DE MORPHINE (M) ET INTERACTION AVEC LA NALOXONE (N)  
DANS LE TEST DE LA PLAQUE CHAUFFANTE

DOSES (mg/kg)	CD		ASL		M		M		M		M		NL + M	
	80		68		1,15		2,30		4,60		9,20		10	
MOYENNE EN S AVANT/APRES	5,4	9,5	5,2	4,6	4,5	5,4	4,0	5,5	5,0	7,3	5,0	9,3	4,9	5,5
ECART TYPE REDUIT	0,3	1,3	0,3	0,4	0,3	0,6	0,1	0,3	0,2	0,7	0,3	0,7	0,2	0,3
% PAR RAPPORT A LA VALEUR CONTROLE	+ 75		- 12		+ 19		+ 38		+ 45		+ 85		- 12 - 42 (/M)	
P	< 0,001		NS		NS		< 0,01		< 0,05		< 0,001		< 0,001 (M)	

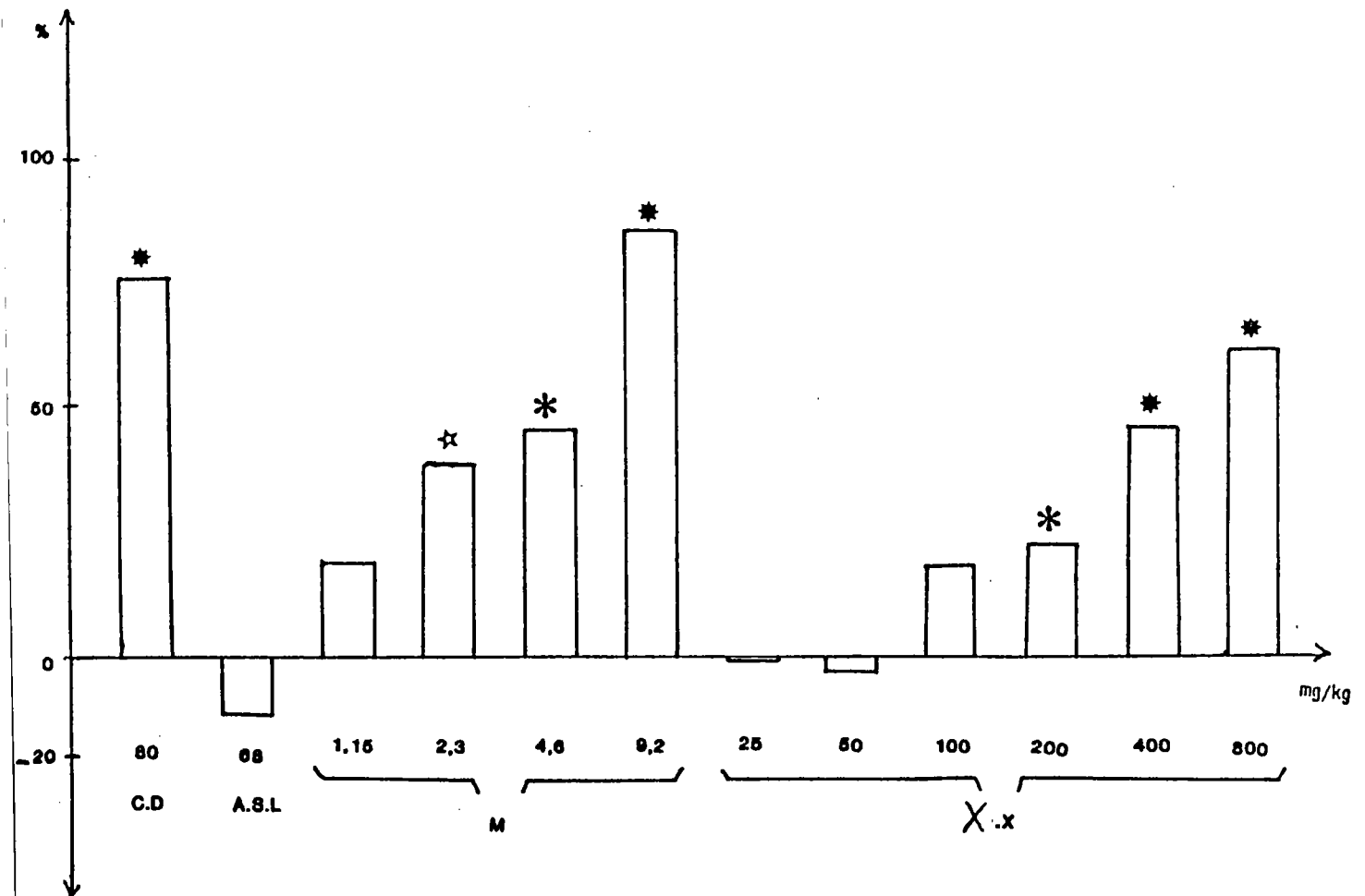
TABLEAU 39

EFFETS ANALGESIQUES DE L'EXTRAIT HYDRO-ALCOOLIQUE D'ECORCES DE RACINES  
DE X.XANTHOXYLOIDES (X.x) ET DE L'INTERACTION AVEC LA NALOXONE (N)  
DANS LE TEST DE LA PLAQUE CHAUFFANTE

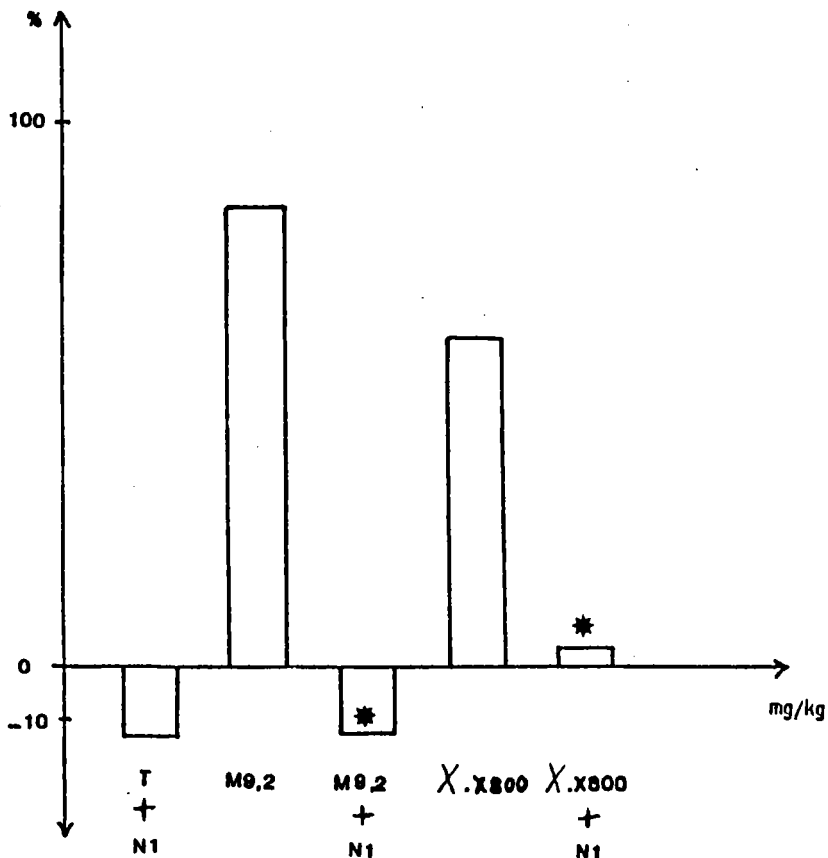
	DOSES (mg/kg)															
	X.x 25		X.x 50		X.x 100		X.x 200		X.x 400		X.x 800		N 1		N1 + X.x 800	
MOYENNE EN S AVANT/ APRES	4,9	4,9	4,7	4,5	5,5	6,5	5,1	6,2	4,8	6,9	4,8	7,8	5,3	4,7	5,0	5,2
ECART TYPE REDUIT	0,3	0,7	0,2	0,3	0,2	0,6	1,0	0,4	0,2	0,4	0,2	0,3	0,3	0,5	0,2	0,3
% PAR RAPPORT A LA VALEUR CONTROLE	- 1		- 3		+ 18		+ 22		+ 46		+ 61		- 12		+ 4	-33(/X.x)
P	NS		NS		NS		< 0,05		< 0,001		< 0,001		< 0,001		< 0,01	(/X.x)

**Fig 16** : Effet analgésique de l'écorce de racines de X. xanthoxyloïdes (extrait hydro alcoolique) vis-à-vis de la chaleur.

En abscisses figurent les produits et doses testés : CD = clorazépate dipotassique ; A.S.L. = acétyl salicylate de lysine ; M = sulfate de morphine ; en ordonnées sont reportés les pourcentages de variation par rapport à la valeur avant traitement ; \*  $p < 0,001$  ; ☆  $p < 0,01$  ; \*  $p < 0,05$ .



**Fig 17** : Influence de la naloxone vis-à-vis des effets de l'écorce de racines de X. xanthoxyloïdes (extrait hydro-alcoolique) et du sulfate de morphine le test de la plaque chauffante.  
 En abscisses figurent les produits et doses testés ; T = témoins NaCl 0,9 ; en ordonnées sont reportés les pourcentages de variation par rapport à la valeur avant traitement ; \*  $p < 0,001$ .



### 7.1.5 Discussion

L'extrait de X.xanthoxyloïdes présente donc des effets analgésiques dans les deux tests utilisés.

L'extrait végétal a un effet analgésique très net dans le test du "writhing". Mais ce test ne permet pas de dire si l'action de X.xanthoxyloïdes est de type "morphine" ou "aspirine", c'est-à-dire si elle procède d'une analgésie centrale ou périphérique. Par contre, l'activité de l'extrait dans le test de la plaque chauffante peut être rapprochée de celle mise en évidence pour la morphine, qui confirme les données de la littérature. X.xanthoxyloïdes aurait donc un mode d'action antalgique du type "morphine".

Il faut savoir que les stimulations nociceptives d'origine thermique ou chimique font apparaître un message d'origine qui est transmis, intégré et transformé en réaction affective et somatique (sensation de souffrance) au niveau de différentes structures du système nerveux central (au niveau médullaire, du tronc cérébral, du diencéphale et du cortex). Or les analgésiques centraux, comme la morphine, ont des sites d'action multiples au niveau de ces structures (7.1.1). Ceci a pour conséquence de supprimer tous les messages d'origine (central et périphérique). Ce serait aussi le cas de X.xanthoxyloïdes : comme la morphine, il présente une activité dans le test de la plaque chauffante, alors que l'acétylsalicylate de lysine, à action seulement périphérique, n'a aucun effet antalgique dans ce test.

La DE 50 de X.xanthoxyloïdes est de 515 mg/kg + ou - 1 mg/kg alors que celle de la morphine est de 3,6 mg/kg + ou - 0,05 mg/kg. Une autre plante testée, Euphorbia hirta, a une DE 50 de 35 mg/kg + ou - 0,5 mg/kg : notre extrait présente donc une activité importante, mais plus faible que d'autres extraits.

La comparaison de l'extrait avec la morphine est objectivée par l'interaction avec la naloxone : les effets des 2 composés sont antagonisés par la naloxone. Par ailleurs, la morphine présente d'autres propriétés communes avec X.xanthoxyloïdes : la morphine peut modifier le comportement exploratoire de la souris (KATZ et GELBART, 1978 ; VAN ABELEN et VAN DEN HEUVEL, 1982). Elle peut aussi induire le sommeil (FILE, 1980). On pense que les peptides opiacés auraient un rôle dans les réponses comportementales vis à vis de la nouveauté. Mais contrairement à X.xanthoxyloïdes, la morphine n'a aucun effet sur l'activité locomotrice des animaux.

Donc on peut mettre en évidence des propriétés de X.xanthoxyloïdes que l'on trouve chez des dérivés morphiniques : analgésie centrale, influence sur le comportement exploratoire et sur l'hypnose. Les propriétés analgésiques d'un composé sont très souvent liées à l'inhibition de la libération de substances algogènes (prostaglandines, sérotonine, ...). Or ces substances interviennent aussi dans des phénomènes inflammatoires ou pyrétiques. Pour compléter notre screening pharmacologique, il était donc nécessaire de rechercher d'éventuelles propriétés anti-inflammatoires et/ou anti-pyrétiques pour X.xanthoxyloïdes.

## 7.2 Recherche d'effets anti-inflammatoires

### 7.2.1 Introduction

Depuis la plus haute antiquité, la médecine a cherché les moyens de traiter l'inflammation, quelle qu'en soit la cause, car ce processus, parfois utile pour l'organisme, se manifeste par les 5 symptômes décrits par Celsius puis Galien : rougeur, tuméfaction, chaleur, douleur et perte de la fonction.

Les anti-inflammatoires, glucocorticoïdes ou non-stéroïdiens, vont donc agir sur les diverses causes de ces symptômes :

- ils inhibent la perméabilité vasculaire responsable de l'oedème inflammatoire (fuite de la lymphe vers les tissus) ;
- ils agissent sur les phénomènes immunitaires en diminuant la prolifération des lymphocytes T (les lymphokines qu'ils sécrètent augmentent l'inflammation) et des cellules phagocytaires ;
- ils inhibent la synthèse des prostaglandines, responsables des phénomènes douloureux ;
- ils peuvent avoir une action anti-pyrétique (surtout pour les composés non-stéroïdiens) (GIROUD et coll., 1978).

Pour rechercher ces effets anti-inflammatoires chez X.xanthoxyloïdes, nous allons utiliser une technique qui consiste à induire une réaction inflammatoire expérimentale chez le rat à l'aide de carragénine.

### 7.2.2 Protocole expérimental

Notre méthode s'inspire de la technique de Winter et coll. (1962). Dans le but d'induire une réaction inflammatoire, on injecte à des lots de 6 rats une suspension de carragénine (carragénine type IV, Sigma, Mallet, Roissy), par voie sous-cutanée, au niveau de la région subplantaire de la patte postérieure droite.

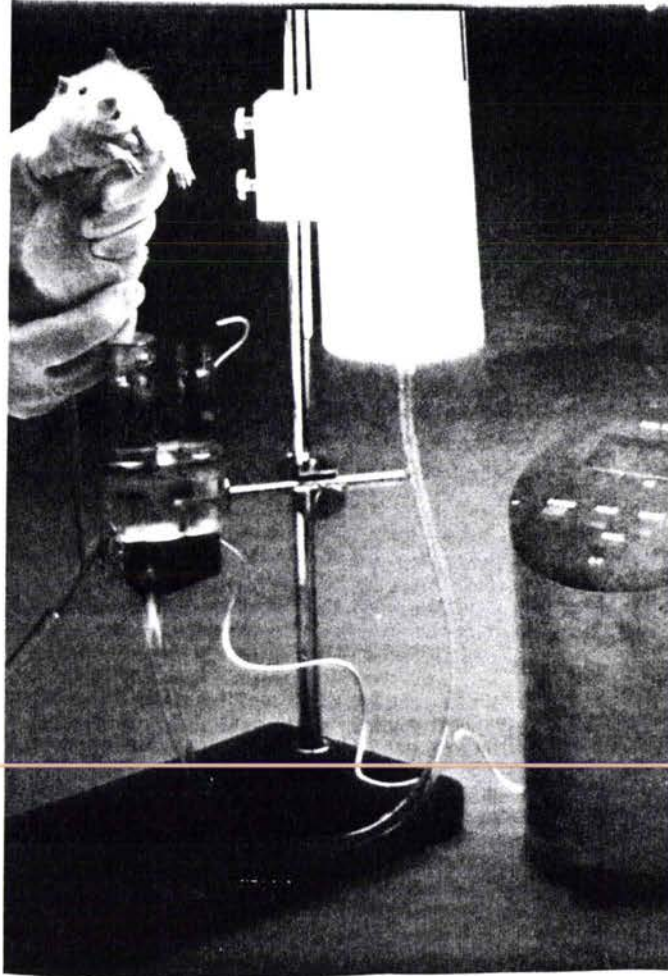
La réaction inflammatoire va se traduire, rapidement, par un oedème de la patte. On mesurera l'évolution de l'enflure à l'aide d'un pléthysmomètre (Ugo Basile, Apelex, Bagneux) (photographie 13), juste avant l'injection de carragénine (valeur de base). Cette mesure sera répétée 30 mn après, puis toutes les heures pendant 6 heures, ainsi que 24 heures après le début de l'expérience.

30 mn avant l'injection de carragénine, on injecte par voie I.P, aux rats, soit l'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines de X.xanthoxyloïdes aux doses de 50, 200 et 800 mg/kg, soit un anti-inflammatoire de référence, l'indométacine (Indocid<sup>R</sup>, Merck, Sharp et Dohme, Chibret, Paris), aux doses de 2,5 ; 5 et 10 mg/kg, soit du NaCl 0,9 % (lot témoin).

### 7.2.3 Analyses statistiques

Pour chaque heure, les différences par rapport à la valeur basale des lots traités sont comparées à celles du lot témoin à l'aide du test t de Student, après vérification de l'homogénéité des variances à l'aide du test de Bartlett.

PHOTOGRAPHIE 13 . LE PLETHYSMOMETRE .



#### 7.2.4 Résultats

Ils sont présentés dans le tableau 40 et la figure 18.

On constate que l'injection de carragénine induit un oedème de la patte : l'augmentation de volume apparaît dès 30 mn après l'injection (1,69) et est maximale à 4 heures (2,32). Elle est encore importante 6 heures après l'injection (2,14). 24 heures après, l'augmentation de volume n'est plus significative.

On retrouve la même évolution pour l'oedème avec les autres substances injectées avant la carragénine : le maximum d'enflure se situe toujours à 4 heures.

L'anti-inflammatoire de référence, l'indométacine, antagonise l'effet de la carragénine, selon une relation dose/effet : de 2,5 à 10 mg/kg, l'enflure à 4 heures passe de 2,02 à 1,80 : il y a donc une diminution significative par rapport au lot témoin (enflure de 2,32). Ceci confirme les données de la littérature (CALHOUN et coll. ,1987).

X.xanthoxyloïdes induit une diminution significative de l'enflure à la dose de 200 mg/kg à 4 et 5 heures (respectivement 2,13 et 2,07). Donc l'extrait a un léger effet anti-inflammatoire : ceci confirme les indications traditionnelles vues en 4.1.6 où X.xanthoxyloïdes est prescrit contre les abcès et les irritations en particulier.

TABLEAU 40

EFFETS DE X.XANTHOXYLOIDES ET DE L'INDOMETACINE SUR LA REACTION INFLAMMATOIRE  
INDUITE AU NIVEAU DE LA PATTE DU RAT PAR LA CARRAGENINE :  
MESURES DU VOLUME DE LA PATTE

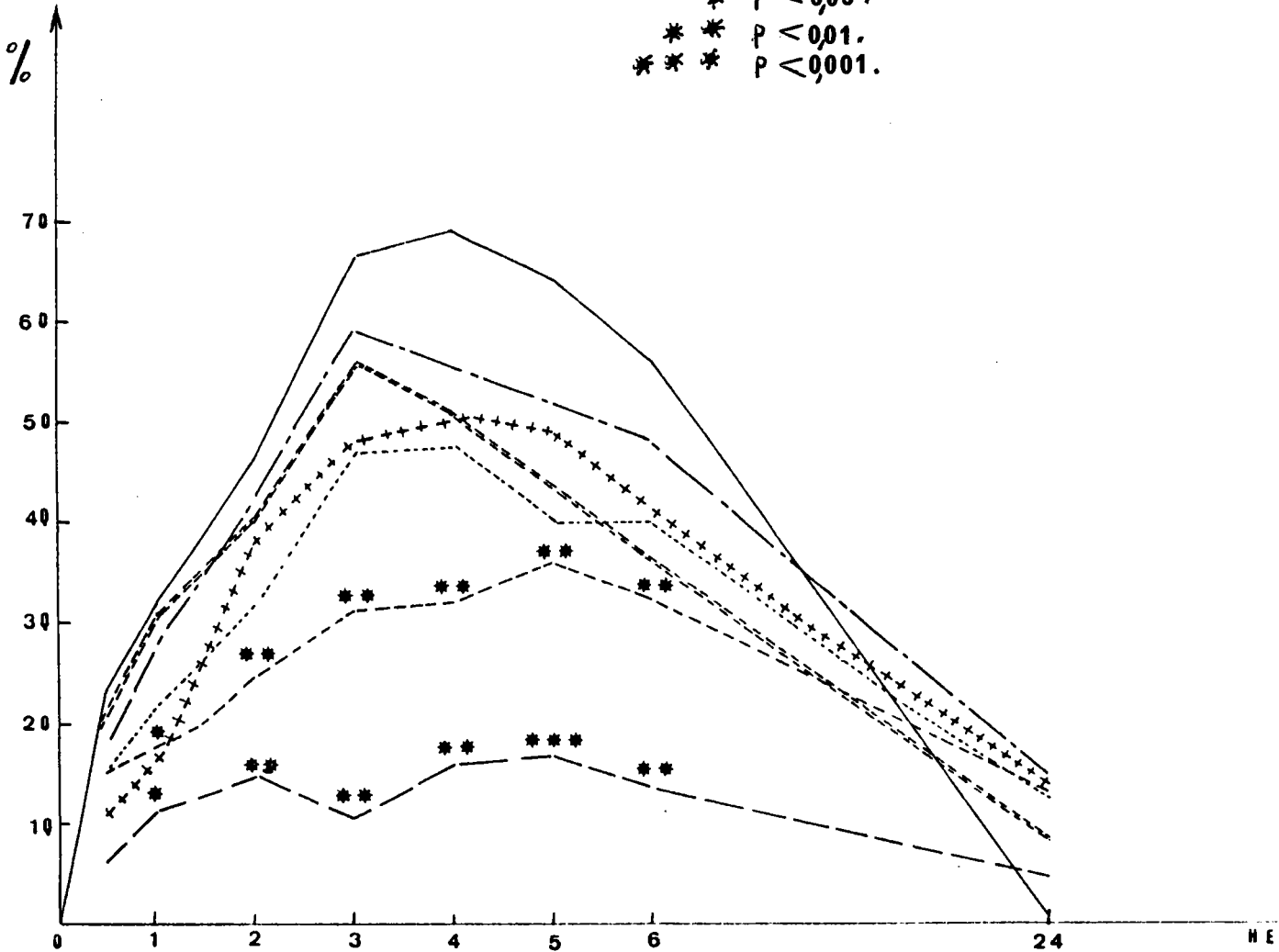
\*\*\* p < 0,001  
\*\* p < 0,01  
\* p < 0,05

PRODUITS	DOSES (mg/kg)		t <sub>0</sub>	t <sub>30 mn</sub>	t <sub>1 h</sub>	t <sub>2 h</sub>	t <sub>3 h</sub>	t <sub>4 h</sub>	t <sub>5 h</sub>	t <sub>6 h</sub>	t <sub>24 h</sub>
NaCl 0,9 %		Moyenne	<u>1,37</u>	<u>1,69</u>	<u>1,81</u>	<u>2,01</u>	<u>2,28</u>	<u>2,32</u>	<u>2,25</u>	<u>2,14</u>	<u>1,60</u>
		E.S.	0,04	0,05	0,05	0,08	0,10	0,05	0,06	0,07	0,02
Indométacine	2,5	Moyenne	<u>1,37</u>	<u>1,57</u>	<u>1,67</u>	<u>1,81</u>	<u>2,01</u>	<u>2,02</u>	<u>1,92</u>	<u>1,92</u>	<u>1,54</u>
		E.S.	0,02	0,06	0,06	0,07	0,09	0,10	0,08	0,06	0,02
	5	Moyenne	<u>1,36</u>	<u>1,57</u>	<u>1,60</u>	<u>1,70</u>	<u>1,79</u>	<u>1,80</u>	<u>1,81</u>	<u>1,80</u>	<u>1,54</u>
		E.S.	0,03	0,05	0,05	0,06	0,10	0,11	0,08	0,09	0,07
	10	Moyenne	<u>1,42</u>	<u>1,57</u>	<u>1,63</u>	<u>1,70</u>	<u>1,78</u>	<u>1,80</u>	<u>1,74</u>	<u>1,75</u>	<u>1,54</u>
		E.S.	0,04	0,04	0,05	0,05	0,06	0,08	0,06	0,06	0,04
<u>X.xanthoxyloïdes</u>	50	Moyenne	<u>1,44</u>	<u>1,60</u>	<u>1,68</u>	<u>1,99</u>	<u>2,14</u>	<u>2,17</u>	<u>2,14</u>	<u>2,03</u>	<u>1,65</u>
		E.S.	0,05	0,11	0,12	0,18	0,10	0,10	0,09	0,07	0,05
	200	Moyenne	<u>1,36</u>	<u>1,57</u>	<u>1,74</u>	<u>1,94</u>	<u>2,16</u>	<u>2,13</u>	<u>2,07</u>	<u>2,01</u>	<u>1,55</u>
		E.S.	0,03	0,06	0,10	0,10	0,06	0,06	0,05	0,03	0,06
	800	Moyenne	<u>1,47</u>	<u>1,78</u>	<u>1,92</u>	<u>2,06</u>	<u>2,38</u>	<u>2,22</u>	<u>2,11</u>	<u>2,01</u>	<u>1,60</u>
		E.S.	0,04	0,05	0,07	0,05	0,09	0,06	0,04	0,05	0,05

FIGURE 18 . EFFETS DE X.XANTHOXYLOIDES ET DE L'INDOMETACINE SUR LE %  
D'AUGMENTATION DE VOLUME DE LA PATTE DE RAT APRES INJECTION  
DE CARRAGENINE .

- TEMOINS CARRAGENINE .
- INDOMETACINE 2,5 MG/KG .
- INDOMETACINE 5 MG/KG .
- INDOMETACINE 10 MG/KG .
- + + + + + X.XANTHOXYLOIDES 50 MG/KG .
- X.XANTHOXYLOIDES 200 MG/KG .
- X.XANTHOXYLOIDES 800 MG/KG .

\* P < 0,05 .  
\* \* P < 0,01 .  
\* \* \* P < 0,001 .



Une autre Rutacée (Ruta graveolens) a été testée, avec 74 autres espèces, en extraits alcooliques, et on a recherché un éventuel effet anti-inflammatoire : l'inhibition de l'oedème de la patte de rat n'est que de 29 % alors qu'avec d'autres plantes on peut atteindre 74 % (une Rosacée, Prunus cocumilia) (MASCOLO et coll., 1987). Donc les Rutacées semblent posséder un effet anti-inflammatoire, mais cet effet reste léger par rapport à celui d'autres familles : Ficus elastica, aussi utilisé par les tradipraticiens en Afrique occidentale, possède un effet inhibiteur de 70 %. Les composés actifs dans l'extrait végétal seraient les flavonoïdes (SACKEYFIO et LUGELEKA, 1986).

Etant donnés ces effets anti-inflammatoires légers de X.xanthoxyloïdes, et comme très souvent les propriétés anti-inflammatoires sont liées à des propriétés anti-pyrétiques, il est donc intéressant de rechercher de telles propriétés pour X.xanthoxyloïdes.

### 7.3 Recherche d'effets anti-pyrétiques

#### 7.3.1 Introduction

Certaines substances, comme les analgésiques non morphiniques, ont des propriétés anti-pyrétiques : cette action procède d'un mécanisme central. Les substances anti-pyrétiques agissent au niveau des noyaux hypothalamiques impliqués dans la thermorégulation, et plus précisément au niveau de l'aire hypothalamique pré-optique antérieure. Cette action s'accompagne d'une induction d'une vasodilatation, ce qui augmente la thermolyse en provoquant la transpiration.

On retrouve des modes d'action communs avec les analgésiques et les anti-inflammatoires : par inhibition de la synthèse des prostaglandines et surtout de la PGE1 qui a des propriétés pyrogènes, ils ont un effet anti-pyrétique (GIROUD et coll., 1978).

Nous allons justement tester l'activité anti-pyrétique de X.xanthoxyloïdes vis à vis de l'action d'un agent pyrogène : la levure, injectée par voie sous-cutanée.

### 7.3.2 Protocole expérimental

On provoque une hyperthermie chez le rat : des lots de 4 rats reçoivent, 16 heures avant le test, une injection de levure en solution, par voie sous-cutanée, au niveau du cou (Superlevure en comprimés, Gaylord Hauser, Diépal, Villefranche-sur-Saône). Un lot ne reçoit pas cette injection (lot normothermique).

Le jour du test, les 4 lots ayant reçu l'injection de levure reçoivent soit du NaCl 0,9 %, soit l'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines de X.xanthoxyloïdes aux doses de 200 ou 800 mg/kg, soit une substance anti-pyrétique de référence, l'acétylsalicylate de lysine (Aspégic<sup>R</sup>, Synthélabo France, Paris) à la dose de 200 mg/kg par voie I.P. Le lot hyperthermique reçoit une injection de NaCl 0,9 %.

A l'aide d'une sonde rectale, on mesure la température corporelle de chaque rat avant l'injection de levure (valeur basale), puis le jour du test, avant l'injection par voie I.P et 30 mn, 1 heure, 2 heures, 3 heures, 4 heures, 5 heures, 6 heures et 7 heures après cette injection.

### 7.3.3 Analyses statistiques

Les variations de température par rapport à la valeur basale, pour chaque lot, sont comparées à celles du lot témoin à l'aide du test t de Student, après vérification de l'homogénéité des variances à l'aide du test de Bartlett.

#### 7.3.4 Résultats

Ils sont présentés dans le tableau 41 et la figure 19.

L'injection par voie sous-cutanée de levure induit une hyperthermie dès le début des mesures : le maximum atteint est 39°5, 1 heure après le début du test (soit 17 heures après l'injection de levure). L'hyperthermie se maintient pendant 24 heures au moins après l'injection de levure.

La substance anti-pyrétique de référence, l'acétylsalicylate de lysine, a un effet hypothermisant, conformément aux données de la littérature, durant tout le test. Le minimum atteint est 36°9 après 1 heure, ce qui est même inférieur à la valeur des témoins normothermiques.

X.xanthoxyloïdes a un effet inhibiteur de l'hyperthermie, significatif pour 200 mg/kg (à 2 heures : 39°1) et 800 mg/kg (de 30 mn : 38°7 à 3 heures : 38°5). Le minimum atteint est 38°3, après 1 heure pour 800 mg/kg. Donc X.xanthoxyloïdes a un effet anti-pyrétique, mais cet effet est de plus courte durée que celui de l'acétylsalicylate de lysine qui persistait pendant au moins 7 heures.

En résumé, il semble que X.xanthoxyloïdes possède un effet anti-pyrétique, qui est moins puissant que celui du produit anti-pyrétique de référence, l'acétylsalicylate de lysine . Cet effet anti-pyrétique n'est pas associé à un effet anti-inflammatoire, ce qui nous permet de suggérer que l'action de X.xanthoxyloïdes, analgésique et anti-pyrétique, s'apparente plutôt à celle d'une substance comme le paracétamol, qui lui non plus ne possède pas de propriétés anti-inflammatoires .

**TABLEAU 41**

**EFFETS DE X.XANTHOXYLOIDES ET DE L'ACETYLSALICYLATE DE LYSINE SUR L'HYPERTHERMIE INDUITE PAR UNE INJECTION DE LEVURE**

\*\*\*  $10^{-3} < 0,001$   
 \*\*  $10^{-2} < 0,01$   
 \*  $10^{-1} < 0,05$

LOTS		t	t <sub>0</sub>	t <sub>30 m.</sub>	t <sub>1 h</sub>	t <sub>2 h</sub>	t <sub>3 h</sub>	t <sub>4 h</sub>	t <sub>5 h</sub>	t <sub>6 h</sub>	t <sub>7 h</sub>	
TEMOINS NORMOTHERMIQUES	Moyenne	37,8	37	38	37,9	37,6	37,7	38,1	37,9	37,8	37,8	
	E.S	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	
TEMOINS HYPERTHERMIQUES	Moyenne	38,1	39,3	39,4	39,5	39,5	39,4	39,4	39,3	39,2	39,3	
	E.S	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	
X.xanthoxyloïdes 200 mg/kg	Moyenne	38,3	39,4	39,4	39	*	39,1	39,2	39,3	39,2	39,4	39,6
	E.S	(0,1)	(0,1)	(0,5)	(0,3)	(0,2)	(0,2)	(0,2)	(0,2)	(0,2)	(0,2)	(0,2)
X.xanthoxyloïdes 800 mg/kg	Moyenne	38,1	39,3	*	***	***	*	38,9	39	39,2	39,1	
	E.S	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,2)	(0,2)	(0,1)	
Acétylsalicylate de lysine 200 mg/kg	Moyenne	38	39,2	***	***	***	***	***	38,1	***	***	
	E.S	(0,1)	(0,1)	(0,2)	(0,2)	(0,1)	(0,1)	(0,1)	(0,2)	(0,1)	(0,1)	

FIGURE 19 . EFFETS DE X.XANTHOXYLOIDES ET DE L'ACETYLSALICYLATE DE

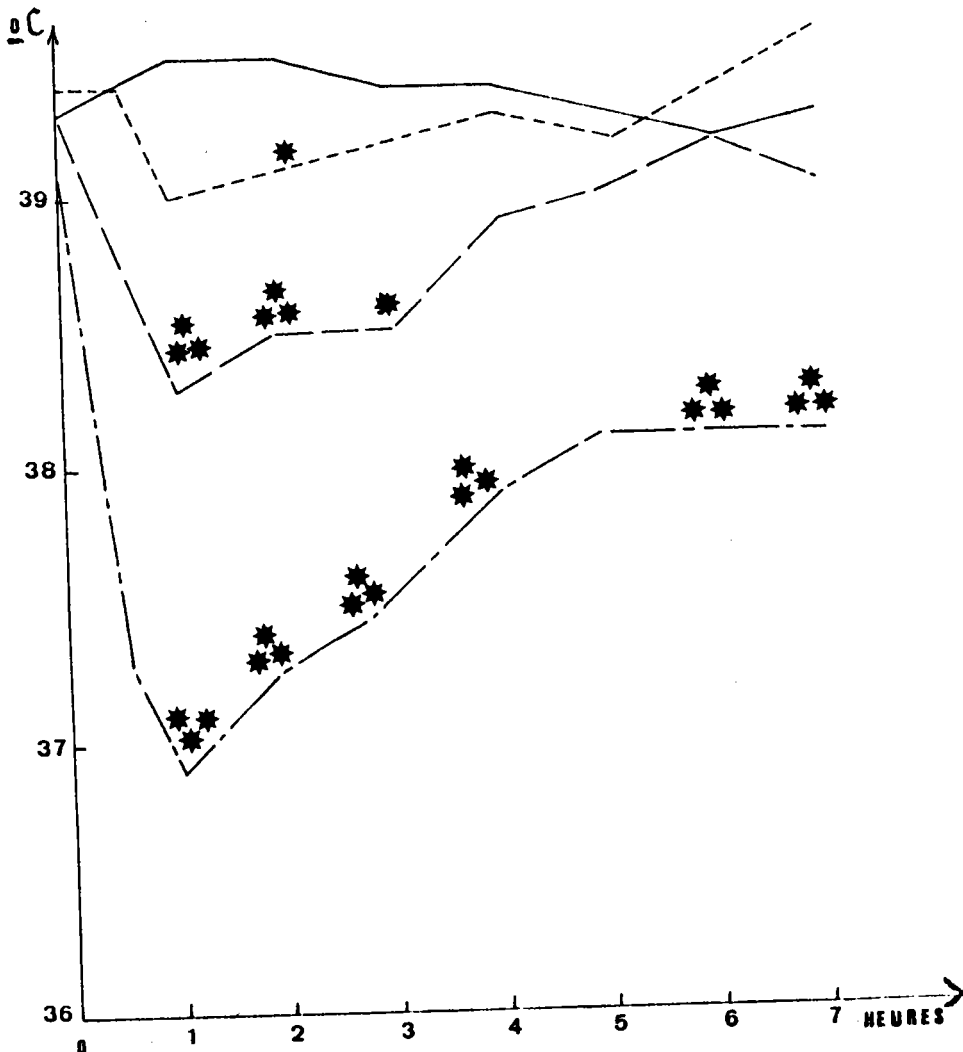
DE LYSINE SUR L'HYPERTHERMIE INDUITE PAR UNE INJECTION

DE LEVURE .

———— TEMOINS HYPERTHERMIQUES .  
 - - - - - X.XANTHOXYLOIDES 200 MG/KG .  
 - - - - - X.XANTHOXYLOIDES 800 MG/KG .  
 — — — — ACETYLSALICYLATE DE LYSINE 200 MG/KG

\*  $p < 0,05$  .

\*\*\*  $p < 0,001$  .



## CONCLUSION :

### EBAUCHE D'UN PROFIL PHARMACOLOGIQUE DE X. XANTHOXYLOIDES .

Les pratiques des médecines traditionnelles et la phytothérapie connaissent actuellement un regain d'intérêt auprès des organismes publics de santé et des grands laboratoires pharmaceutiques . De plus, la demande et la consommation de médicaments psychotropes sont en plein essort . Ces deux constatations ont orienté notre travail d'évaluation chimique et pharmacologique d'une Rutacée utilisée en Afrique occidentale, dans les prescriptions des tradipraticiens ainsi que dans les pratiques Vaudou : Xanthoxylum xanthoxyloïdes Waterm. . En effet, dans les rites Vaudou, cette plante est utilisée dans des remèdes composés permettant l'apparition de transes ; elle est donc susceptible de posséder une action psychotrope .

\*\*\*

X.xanthoxyloïdes a été sélectionné parmi un lot d'autres plantes africaines, grâce à un test discriminant : la potentialisation d'un barbiturique . Les plantes testées étaient :

Amaranthus caudatus

Chlorophora excelsa

Kalanchoe crenata

Xanthoxylum xanthoxyloïdes .

Dans un premier temps, notre objectif a consisté à replacer X.xanthoxyloïdes dans son contexte taxinomique, à préciser les caractères d'identification botanique et à réaliser des coupes histologiques des organes . Dans le cadre de cette étude botanique et en nous référant à la bibliographie, nous avons précisé les caractères distinctifs du genre Xanthoxylum, qui appartient à la famille des Rutacées . Le genre Xanthoxylum, aussi appelé Fagara ou Zanthoxylum, se caractérise par son fruit à carpelles libres et sa graine noire et brillante, la présence d'épines sur les feuilles imparipennées et sur

l'inflorescence, et par des fleurs unisexuées .

Les données recueillies dans la flore d'Afrique occidentale nous ont permis de répertorier 12 espèces de Xanthoxylum dont l'espèce étudiée : X. xanthoxyloïdes Waterm. . Pour chacune de ces espèces, nous avons rapporté les caractères botaniques, les synonymes connus et les différentes variétés .

L'étude approfondie de X.xanthoxyloïdes Waterm. a permis de confirmer les caractères présents dans le genre Xanthoxylum et d'effectuer les coupes histologiques des parties aériennes de la plante. Elle se distingue au sein du genre Xanthoxylum par la présence de feuilles molles et aromatiques, et de fleurs blanc-crème . Il s'agit d'un petit arbre des zones forestières côtières d'Afrique occidentale .

\*\*\*

Dans un deuxième temps, l'étude chimique bibliographique a permis de répertorier les diverses substances mises en évidence dans les extraits . X.xanthoxyloïdes se caractérise par la présence de nombreux alcaloïdes, appartenant à 8 groupes différents, dont des dérivés de la furoquinoléine, très courants chez les Rutacées . Il faut noter l'abondance des mucilages contenus dans les feuilles . Sont représentés aussi des coumarines, des alcools, des lignanes, des acides organiques et des cétones .

\*\*\*

Dans un troisième temps, nous avons effectué une recherche bibliographique approfondie tant des indications thérapeutiques traditionnelles que des études pharmacologiques déjà réalisées . Il apparaît que X.xanthoxyloïdes est largement utilisé contre diverses affections des appareils locomoteur (douleurs articulaires), digestif (douleurs diverses, parasitoses, ictères), génital (troubles du cycle, douleurs, infections) . Il est prescrit pour résoudre certaines affections oto-rhino-laryngiques (angines), dermatologiques (gale, plaies, abcès) . Il peut être utilisé dans les états fébriles et, surtout, prescription très répandue en Afrique, contre la drépanocytose.

C'est d'ailleurs sur les propriétés anti-falcémiantes que de nombreuses recherches pharmacologiques ont déjà été publiées . Ces recherches ont confirmé les données de la médecine traditionnelle : X.xanthoxyloïdes a bien un effet anti-falcémiant .

Il possède aussi un effet anti-tumoral, ainsi que des propriétés anti-coagulantes, anti-microbiennes et anesthésiques locales. Le spectre d'activité de X.xanthoxyloïdes semble donc très étendu .

Parmi les indications traditionnelles et les recherches effectuées, il apparaît quelques indices pouvant laisser supposer une action psychotrope des extraits : ils semblent posséder une activité analgésique (caries, douleurs diverses) et anesthésique : or souvent ces propriétés sont liées à des propriétés psychotropes . L'autre élément de base de nos hypothèses est l'utilisation des extraits dans l'induction des transes . Nous avons donc entrepris d'approfondir la recherche de tels effets psychotropes de X.xanthoxyloïdes .

\*\*\*

#### PREPARATION ET CHOIX DES EXTRAITS :

Des extraits aqueux et hydro-alcooliques ont été réalisés, puis lyophilisés . Une chromatographie a permis de confirmer les données recueillies dans la bibliographie, concernant l'étude chimique des extraits

La toxicité des extraits a été précisée : dans tous les cas les extraits n'ont présenté aucune toxicité jusqu'à 2 g/kg ; donc les extraits présentent une toxicité très faible .

#### ETUDE DE L'INTERACTION AVEC LES BARBITURIQUES :

X.xanthoxyloïdes potentialise l'effet du pentobarbital : quand le pentobarbital est utilisé à la dose de 40 mg/kg, on observe une diminution significative du temps de sommeil dès 400 mg/kg et 800 mg/kg (+61 et +101%) .

Si le pentobarbital est administré à dose infra-hypnotique, les extraits induisent 100% d'endormissement à 800 mg/kg . L'effet est significatif dès 200 mg/kg, et est dose-dépendant . Le calcul de la DE 50 donne 85 mg/kg pour l'extrait aqueux, et 162 mg/kg pour l'extrait hydro-alcoolique . Le test utilisant le barbital, à voie métabolique différente, a permis de préciser que le site d'action de X.xanthoxyloïdes est central . Les résultats de ces tests nous ont orientés vers une étude des effets comportementaux de X.xanthoxyloïdes

#### PROPRIETES SEDATIVES :

Les divers tests utilisés (activimètre, milieu nouveau, escalier) ont permis de mettre en évidence une action sédatrice très nette de X.xanthoxyloïdes . Les activités comportementales diminuent dès la dose de 200 mg/kg . Nous avons remarqué que si l'animal est placé de force dans une enceinte inconnue, la diminution de l'activité locomotrice n'apparaît qu'avec de fortes doses (400 mg/kg et plus) . Par contre, si l'animal est libre d'explorer ou non un milieu nouveau, l'activité sédatrice apparaît dès la dose de 200 mg/kg . Cet effet a pu être interprété comme une réduction du niveau d'activation du système nerveux central : ceci nous a permis d'émettre l'hypothèse d'un effet déresseur du système nerveux central pour X.xanthoxyloïdes .

Ces données sont comparables à celles de la littérature concernant des tranquillisants mineurs comme les benzodiazépines : ceci nous a amenés à rechercher d'éventuelles propriétés tranquillisantes pour X.xanthoxyloïdes .

#### PROPRIETES "ANXIOLYTIQUES" :

Les extraits présentent, dans l'ensemble, des résultats comparables à ceux de la benzodiazépine de référence utilisée, le clorazépate dipotassique : il y a stimulation de la réactivité émotionnelle des animaux placés en situation stressante : le temps de séjour dans la chambre claire est augmenté (test de l'enceinte claire obscure) et la motilité (activitest) ainsi que le nombre de marches montées (test de l'escalier) augmentent . Il y a désinhibition comportementale donc on peut considérer dans une première approche que X.xanthoxyloïdes, à effets sédatifs et désinhibiteurs, a un profil s'apparentant à celui d'un tranquillisant mineur, quand il est utilisé à

faibles doses (25 mg/kg) . Pour comparer l'efficacité de l'extrait par rapport à celle d'une benzodiazépine de référence, on peut préciser que les effets du clorazépate dipotassique à 10 mg/kg sont reproduits avec une dose d'extrait de 25 mg/kg . Donc les extraits sont actifs à des doses plus fortes que le clorazépate dipotassique .

L'ensemble des résultats obtenus jusqu'alors nous a laissé penser que X.xanthoxyloïdes présentait un profil pharmacologique proche de celui des tranquillisants mineurs . Cependant, nous nous sommes demandés si ce profil ne pouvait pas s'apparenter à un autre groupe de psychotropes puisque la littérature mentionne des effets semblables -sédatifs et/ou anxiolytiques- avec certaines substances appartenant à la classe des neuroleptiques, des antidépresseurs et des analgésiques ,

RECHERCHE D'UN EFFET NEUROLEPTIQUE, ANTI-DEPRESSEUR OU ANTI-CONVULSIVANT :

Un screening pharmacologique nous a permis de montrer que l'extrait de X.xanthoxyloïdes ne présente pas d'effet cataleptique à forte dose (200 et 800 mg/kg), ni d'effet hypothermique important et durable . A fortes doses (400 mg/kg et 1600 mg/kg), aucun effet protecteur vis à vis de la toxicité de groupe induite par le tartrate d'amphétamine n'a été constaté . Or un neuroleptique est caractérisé par l'ensemble de ces effets, ce qui nous a conduits à rejeter l'hypothèse d'un tel effet . Les stéréotypies induites par la tartrate d'amphétamine n'ont pas été inhibées par l'extrait végétal, alors qu'un neuroleptique de référence, la chlorpromazine, les a fait disparaître à la dose de 20 mg/kg . En revanche, l'extrait de X.xanthoxyloïdes a amplifié et prolongé l'effet du tartrate d'amphétamine sur les stéréotypies (169% des témoins à 200 mg/kg et 207% des témoins à 800 mg/kg) . Cet effet a déjà été observé avec les benzodiazépines .

Nos expérimentations ont mis en évidence un léger effet anti-dépresseur de X.xanthoxyloïdes : il y a réduction du ptosis et l'akinésie induits par la réserpine, à la dose de 800 mg/kg, et légère diminution des effets d'une substance cholinergique, l'oxotrémorine . L'imipramine, anti-dépresseur de référence, antagonise significativement l'ensemble de ces effets à la dose de 5 mg/kg .

X.xanthoxyloïdes n'a pas présenté d'activité anti-convulsivante dans le test utilisant le pentétrazol, contrairement aux tranquillisants mineurs classiques .

#### PROPRIETES ANALGESIQUES .

Les expérimentations effectuées sur la recherche d'effets analgésiques centraux (plaque chauffante) et périphériques (test du writhing) ont permis de mettre en évidence une activité analgésique de X.xanthoxyloïdes dans les deux tests, dès la dose de 25 mg/kg dans le test du writhing et dès la dose de 200 mg/kg dans le test de la plaque chauffante ( la DE 50 dans le test du writhing est de 18 mg/kg) . Ce qui permet de comparer le mode d'action de X.xanthoxyloïdes à celui des dérivés morphiniques, analgésiques centraux. Cette comparaison est objectivée par l'existence, comme pour la morphine, d'une interaction entre X.xanthoxyloïdes et un antagoniste de la morphine, la naloxone . Dans le test de la plaque chauffante, la DE 50 de X.xanthoxyloïdes est de 515 mg/kg alors que celle de la morphine est de 3,6 mg/kg : les extraits végétaux sont actifs, mais à des doses assez fortes . Il faut néanmoins toujours tenir compte du fait que l'on utilise des extraits totaux, et non des molécules purifiées .

Ces propriétés analgésiques, qui confirment les données de la tradition, nous ont conduits à rechercher des effets anti-inflammatoires ou anti-pyrétiques

#### PROPRIETES ANTI-INFLAMMATOIRES ET ANTI-PYRETIQUES :

X.xanthoxyloïdes possède un effet anti-pyrétique à forte dose (800 mg/kg) : ceci confirme les données de la pharmacopée traditionnelle selon lesquelles les extraits étaient prescrits contre les états fébriles .

## ETUDE DE LA VOIE D'ADMINISTRATION ET DES DIVERS EXTRAITS :

Sur les divers tests comportementaux utilisés, on constate que l'administration per os induit toujours un effet : dans le test d'interaction avec le pentobarbital, on obtient **70%** d'endormissement à la dose de **1000** mg/kg .

Dans l'activité test en situation familière, la dose de 1000 mg/kg induit une diminution d'activité de **-32%** . On n'observe pas d'effet significatif dans l'activité test en situation contraignante : ceci va de pair avec les résultats obtenus pour la voie I.P, où les doses nécessaires pour obtenir un effet sédatif étaient plus fortes que dans une situation familière : pour la voie per os, les doses utilisées dans ce test semblent insuffisantes .

Pour ce qui est des divers extraits testés, dans la plupart des tests il y a équivalence des effets . On peut toutefois noter une moindre efficacité de l'extrait hydro-alcoolique d'écorces de racines dans le test d'interaction avec le pentobarbital utilisé à dose infra-hypnotique : la DE 50 est de 162 mg/kg alors que pour l'extrait aqueux, elle est de 85 mg/kg . On peut émettre l'hypothèse que les composés chimiques extraits avec les deux techniques diffèrent quelque peu, bien que la chromatographie n'ait pas mis en évidence de variations essentielles.

En résumé, l'ensemble des résultats a donc mis en évidence un profil pharmacologique du type sédatif-"anxiolytique", légèrement anti-dépresseur, auquel s'associent des propriétés analgésiques centrales apparentées à celles d'un dérivé morphinique ainsi que des propriétés anti pyrétiques qui s'apparenteraient à une substance de type paracétamol .

Nous avons donc confirmé les indications traditionnelles qui prescrivaient l'extrait végétal en cas de douleurs diverses ou d'inflammations . Les propriétés découvertes permettent aussi d'expliquer la légère anesthésie buccale ressentie lors de la mastication des racines . L'extrait possède donc bien des propriétés analgésiques centrales, comme le pressentaient les tradipraticiens .

Les effets sédatifs et désinhibiteurs découverts pourraient expliquer l'utilisation de la plante dans les pratiques Vaudou, pour l'induction des trances : donc notre hypothèse selon laquelle la plante serait active au niveau du système nerveux central se vérifie : selon la dose, l'extrait sera sédatif (fortes doses) ou désinhibiteur (faibles doses) .

Cette recherche confirme donc tout l'intérêt que présentent les pharmacopées traditionnelles : celles d'Afrique montrent une grande richesse et des programmes sont en cours actuellement pour réhabiliter et dynamiser cette médecine traditionnelle par la mise en place d'infrastructures adéquates et par la primauté donnée à la médecine préventive, au Bénin notamment . C'est dire l'avenir intéressant qui existe pour des extraits végétaux ayant des propriétés aussi diversifiées que X.xanthoxyloïdes .

**REFERENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES.**

- ABSIL J., L. BUCHEL et V. SIMONE, 1966,  
Associations de l'hydrate de chloral avec la chlorpromazine,  
la b nactyzine, le J.L 916 et la dihexyverine,  
Arch. Sci. Physiol., 20, 233-247.
- ADAM E. et E. MARAZZI, 1956,  
Four component analgesic synergism.,  
Arch. Int. Pharmacodyn., 107, 322-334.
- ADEOYE A. et E.A. SOFOWORA, 1979,  
Phytochemical examination of nigerian Fagara species for the  
establishment of pharmacopoeial standards,  
Nigerian J. of Pharm., 9, 259.
- ADESANYA S.A. et E.A. SOFOWORA, 1982,  
Biological standardisation of Xanthoxylum roots for  
antisickling activity,  
Planta Med., 46, 70-75.
- ADJANOHOUN E., 1979,  
Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte  
d'Ivoire,  
ACCT (Ed.), PARIS
- ADJANOHOUN E., 1981,  
Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au  
Niger,  
ACCT (Ed.), PARIS
- ADJANOHOUN E., 1985,  
Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au  
Congo,  
ACCT (Ed.), PARIS
- ADJANOHOUN E., 1985,  
Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au  
Mali,  
ACCT (Ed.), PARIS
- ADJANOHOUN E., 1986,  
Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au  
Bénin,  
ACCT (Ed.), PARIS
- ADJANOHOUN E., 1986,  
Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au  
Togo,  
ACCT (Ed.), PARIS
- ALBRECHT R., 1972,  
Quelques aspects des processus biochimiques intervenant au  
niveau des enzymes microsomales hépatiques.  
Thérapie, XXVII, 751-771.
- ANDEN N.E., A. DAHLSTROM, K. FUXE et K. LARSSON, 1966,  
Functional role of the nigro-striatal dopamine neurons.  
Acta pharmacol. Toxicol., 24, 263-274.

- ANDREWS P.R. et L.C. MARK, 1982,  
Structural specificity of barbiturates and related drugs,  
*Anesthesiology*, 57, 314-320.
- ARISAWA A.M., J.M. PEZZUTO, C. BEVELLE et G.A. CORDELL , 1984,  
Potential anticancer agents 31-N demethylation of fagaronine,  
*Lloydia*, 47(3), 453-459.
- ASHTON H., J.E. MILLMAN, R. TELFORD et J.W. THOMPSON , 1976,  
A comparison of some physiological and psychological effects  
of propranolol and diazepam in normal subjects,  
*Brit. J. Pharmacol.*, 3, 551-559.
- ASSEM E.M., I.A. BENAGES et S.M. ALBONICO , 1983,  
Further alkaloids from bark of Fagara mayu,  
*Planta Med.*, 48, 77-80.
- AUBREVILLE A., 1959,  
La flore forestière de la Côte d'Ivoire,  
*Centre techn. forestier nat.*, 2, 107-108.
- AXELROD J., J. REICHENTHAL et B.B. BRODIE, 1954,  
Mechanism of the potentiating action of b-  
diethylaminoethyl-diphenylpropylacetate,  
*J. Pharmacol.*, 112, 49-53.
- AYD F.J, 1961,  
Neuroleptics and extrapyramidal reactions in psychiatric  
patients,  
Dans: *Système extrapyramidal et neuroleptiques*, 355-363,  
BORDELEAU J.M (Ed.),  
Editions psychiatriques, Montreal.
- BABBINI M., N. MONTANARO, P. STROCCHI et M. GAIARDI, 1971,  
Enhancement of amphetamine induced stereotyped behavior by  
benzodiazepines,  
*Europ. J. Pharmacol.*, 13, 330-340.
- BAILLON H., 1876,  
*Dictionnaire de botanique*, T2, 580 p. HACHETTE (Ed.)
- BAILEY P.L., N.J. CLARK, N.L. PACE, M. ISERN et T.H. STANLEY ,  
1986,  
Failure of nalbuphine to antagonize morphine: a double-blind  
comparison with naloxone,  
*Anesth. Analg.*, 65, 605-611.
- BAKER P.C., K.M. HOFF et G.A. GOODRICH, 1979,  
The effects of reserpine upon body weight, brain weight and  
brain indoleamine stores in maturing mice,  
*Gen. Pharmacol.*, 10, 233-237.
- BELZUNG C., R. MISSLIN, E. VOGEL, R.H. DODD et G. CUAPOUTIER,  
1987,  
Anxiogenic effects of methyl B carboline-3-carboxylate in the  
light/dark choice situation,  
*Pharmacologie biochem. and behav.*, 28, 29-33.

BENOIST J.M., 1975,  
Données neurophysiologiques sur le mécanisme de l'action  
analgésique de la morphine,  
Rev. méd., 16, 263-275.

BENOIST J.M. et J.L. MISSET, 1979,  
Antalgiques,  
dans : Pharmacologie clinique: bases de la thérapeutique, 65,  
1049-1091,  
GIROUD J.P., G. MATHE et G. MEYNIEL, (Eds.),  
Expansion Scientifique Française, Paris.

BERNABE J., 1986,  
Etude in vitro des récepteurs aux benzodiazépines,  
D.E.A. de toxicologie ,Metz.

BERTRAND I., 1983,  
Etude pharmacologique de plantes du Yemen (Crepis rueppellii  
et Anisotes trisulcus),  
D.E.A. de toxicologie, Metz.

BESSON J.M., 1977,  
Effet de la morphine sur la transmission des messages  
nociceptifs au niveau médullaire,  
Act. Pharmacol., 29, 119-141.

BESSON J.M. et D. LE BARS, 1980,  
Neurophysiologie de la douleur et niveau d'intervention  
possible des endomorphines,  
Dans: Quo vadis - Neuropeptides, 161-173,  
MUYARD J.P. et R. RONCUCCI (Eds),  
Clin Midy, Montpellier.

BEZANGER-BEAUQUESNE L., 1956,  
Les substances polyuroniques,  
Ann. Pharm. fr., 14, 795-812.

BEZANGER-BEAUQUESNE L., 1961,  
Les substances polyuroniques,  
Ann. Pharm. fr., 19, 771-791.

BEZANGER-BEAUQUESNE L., M. PINKAS, M. TORCK et F. TROTTIN,  
1980,  
Plantes médicinales des régions tempérées, 117-118,  
MALOINE (Ed.), Paris.

BIDET D. et J.C. GAIGNAULT, 1984  
Récepteurs biologiques et recherche de molécules actives :  
exemple des récepteurs aux benzodiazépines,  
L'actualité chimique, octobre, 17-30.

BOHUS B. et D. DE WIED, 1980,  
Neuropeptides et mémoire,  
Dans: Quo vadis - Neuropeptides, 234-243,  
MUYARD J.P. et R. RONCUCCI (Eds.),  
Clin Midy, Montpellier.

- BOISMARE F., G. STEICHENBERGER et P. LECHAT, 1967,  
Effet potentialisateur comparé exercé par différents  
neuroleptiques vis à vis de l'action de quelques hypnotiques  
chez la souris,  
Thérapie, XXII, 1317-1321.
- BOISSIER J.R., 1961,  
Tentative de pharmacologie prévisionnelle dans le domaine des  
neuroleptiques. Action centrale et adrénolytique de la N.  
Pipérazine,  
Archs. int. Pharmacodyn., 133, 29-49.
- BOISSIER J.R. et P. SIMON, 1966,  
Etude pharmacologique prévisionnelle d'une substance  
psychotrope,  
Thérapie, XXI, 799-818.
- BOISSIER J.R., P. SIMON et J.F. GIUDICELLI, 1966,  
Effets centraux de quelques substances adrén- et  
sympatholytiques,  
Arch. Int. Pharmacodyn. Therap., 169, 312-319.
- BOISSIER J.R., C. DUMONT, R. RATOUIS, 1971,  
Etude pharmacologique d'un nouvel antidépresseur tricyclique,  
Thérapie, XXVI, 459-479.
- BOISSIER J.R., P. SIMON, M. ZACZINSKA et J. FICHELE, 1972,  
Etude psychopharmacologique expérimentale d'une nouvelle  
substance psychotrope, la 2- ethylamino 6- chloro 4- methyl 4  
phenyl 3- 1 benzoxazine,  
Thérapie, XXVII, 325-338.
- BOISSIER J.R. et J.P. TILLEMENT, 1973,  
Comment prolonger les effets d'un médicament?  
Thérapie, 28, 427-432.
- BONETTI E.P., L. PIERI, R. CUMIN, R. SCHAFFNER, M. PIERI, I.R.  
GAMZU, R.K.M. MULLER et W. HAEFELY, 1982,  
Benzodiazepine antagonist RO 15-1788: Neurological and  
behavioral effects, 78, 8-18.
- BOULENGER J.P., 1979,  
Mécanismes d'action des benzodiazépines. Données biologiques  
nouvelles,  
Nouv. Presse Med., 8, 2501-2580.
- BOUQUET A., 1969,  
Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo,  
Travaux et documents de l'ORSTOM, 220.
- BOUQUET A. et M. DEBRAY, 1974,  
Plantes médicinales de la Cote d'Ivoire,  
Travaux et documents de l'ORSTOM, 32, 156-158.
- BOURIN M., M. PONCELET, R. CHERMAT, et P. SIMON, 1983,  
The value of the reserpine test in psychopharmacology,  
Arzneimittel forschung., 33, 1173-1176.

BOURIN M., A.J. PUECH, P. CHERMAT, L. DOARE, M. PONCELET et F. SIMON, 1981,

Profils psychopharmacologiques des nouveaux antidépresseurs comparés aux antidépresseurs classiques, *Encéphale.*, 7, 235-242.

BOWDEN K. et W.J. ROSS, 1963,

The local anesthetic in Fagara xanthoxyloides, *J. Chem. Soc.*, 3503-3505.

BREHM H., 1878,

Le monde des plantes, 3,

Dans: merveille de la nature, 123-125,

BAILLERES J.B.(Ed.) ,Paris.

BRITTAIN R.T. et S.L. HANDLEY, 1967,

Temperature changes produced by the injection of catecholamines and 5-hydroxytryptamine into the cerebral ventricles of the conscious mouse,

*J. Pharm. Pharmacol.*, 16, 497-499.

BRODIE B.B., P.A. SHORE et S.L. SILVER, 1955,

Potentiating action of chlorpromazine and reserpine, *Nature*, 175, 1133.

BROWN D.R., M.J. ROBERTSON et L.I. GOLDBERG, 1983,

Reversal of morphine-induced catalepsy in the rat by narcotic antagonists and their quaternary derivatives,

*Neuropharmacology*, 22(3A), 317-321.

BROWN D.R., B. CODY. et J.M. FUYIMOTO, 1984,

Potencies of morphine 3- and 6-sulfates after intracerebroventricular administration in mice: relations to structural characteristics defined by mass spectrometry and nuclear magnetic resonance,

*J. Pharm. Sci.*, 74(8), 821-824.

BUCHEL L. et J. LEVY, 1960,

Contribution à l'étude des effets sur le système nerveux central de l'hydrazino 2 phényl 3 propane comparés à ceux de la 1 isonicotinyll 2 isopropyl hydrazide,

*Anesth. Analg.*, 17, 289-313.

CACICEDO L. et F.S. FRANCO, 1985,

Direct action of opioid peptides and naloxone on gonadotrophin secretion by cultured rat pituitary cells,

*Life Sci.*, 38, 617-625.

CALDERWOOD J.M. et F. FISH, 1966,

Screening for tertiary and quaternary alkaloids in some african Fagara species,

*J. Pharm. Pharmacol.*, 18, 119-125.

CARVALHO LP., P. VENAULT, M.C. POTIER, R.H. DODD, C.L. BROWN, G. CHAPOUTIER et J. ROSSIER, 1986,

3-(Methoxycarbonyl)- amino-B- carboline, a selective antagonist of the sedative effects of benzodiazepines,

*Europ. J. Pharmacol.*, 129, 323-332.

CHAIRMAN E.G.V., H.M. BURDET, W.G. CHALONER, V. DEMOULIN, P. HIEPKO, J. MAC NEIL, R.D. MEIKLE, D.H. NICOLSON, R.C. ROLLINS et P.C. SILVA, 1983,  
International code of botanical nomenclature.

CHAPOUTIER G., 1987,  
Des molécules pour la mémoire,  
La recherche, n°192, 1258-1260.

CHAUVEL P., 1980,  
Aspects neurobiologiques des épilepsies et modes d'action des antiépileptiques,  
Dans: Neurobiochimie clinique, 1, 98-105,  
ZARIFIAN E. (Eds.), Sandoz.

CHIU T.H. et H.C. ROSENBERG, 1983,  
Multiple conformational states of benzodiazepine receptors,  
Trends in Pharmacol. Sci., 4, n°8, 348-350.

CORDELL G.A., 1979,  
Anticancer agents from plants,  
Progress in phytochemistry, Chicago, 273-313.

COSTA E., A. GROPPETTI et M.K. NAIMZADA, 1972,  
Effects of amphetamine on the turnover rate of brain catecholamine and motor activity,  
Br. J. Pharmacol., 44, 742-752.

COSTA E., A. GUIDOTTI, C.C. MAO et A. SURIA, 1975,  
New concepts on the mechanism of action of benzodiazepines,  
Life sciences, 17, 167-186.

COSTA E. et A. GUIDOTTI, 1976,  
A gaba hypothesis for the action of benzodiazepine,  
In gaba in nervous system function, 413-426, ROBERTS E., T.N. CHASE et D.B. TOWER, (Eds.), Raven Press, New York.

COSTA E. et A. GUIDOTTI, 1979,  
Molecular mechanisms in the receptor action of benzodiazepines,  
Ann. Rev. Pharmacol. toxicol., 19, 531-545.

COURVOISIER S., J. FOURNEL, R. DUCROT et M. KOLSKY, 1953,  
Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., 92, 305-361.

COURVOISIER, 1956,  
J. Clin. Exp. Psychopath., 17, 25-37.

CRAWLEY J.N. et U.K. GOODWIN, 1980,  
Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines,  
Pharmacol. Biochem. Behav., 13, 167-170.

CRAWLEY J.N. et L.G. DAVIS, 1982,  
Baseline exploratory activity predicts anxiolytic responsiveness to diazepam in five mouse strains,  
Brain Res. Bull., 8, 609-613.

- CRONQUIST A., 1970,  
The evolution and classification of flowering plants,  
Thomas Nelson and Sons Ltd. (Eds.), Austria.
- CUISINIER-RAYNAL J.C., P. FERRUS et M. DUCORPS, 1983,  
Aspects actuels de la maladie drépanocytaire,  
Médecine et armées, 11, 121-123.
- DALZIEL J.M., 1969,  
The useful plants of West tropical Africa, 308-309,  
Crown agents for oversea governments and administrations  
(Eds.), London.
- DANNEBERG P., R. BAUER, K. BOKE-KUHN, W. HOEFKE, F.J. KUHN, E.  
LEHR et A. WALLAND, 1986,  
General pharmacology of brotizolam in animals,  
Arzneim.-Forsch./Drug Res., 36(1), 540-586.
- DANTZER R., 1977,  
Behavioral effects of benzodiazepines,  
Biobehav. Rev., 1, 71-86.
- DAVES G.D., R.B. BELSHEE et W.R. ANDERSON, 1975,  
Solution conformations of ethyl 1'-methylbutylbarbituric acid:  
implications for drug - receptor site-interactions,  
Mol. Pharmacol., 11, 470-477.
- DAVIS W.M., 1962,  
Day-night periodicity in pentobarbital responses of mice and  
the influence of psychological conditions,  
Experientia, 18, 235-236.
- DE CARVALLO L.P., P. VENAULT, M.C. POTIER, R.H. DODD, C.  
BROWN, G. CHAPOUTIER et J. ROSSIER, 1986,  
3-(Methoxycarbonyl)-amino-B-carboline, a selective antagonist  
of the sedative effects of benzodiazepine,  
Europ. J. Pharmacol., 129, 323-332.
- DE DEYN P.P. et R.L. MACDONALD, 1987,  
CGS 9896 and 91296. but not CGS 8216 and RO 151738, Are pure  
benzodiazepine receptor antagonists on mouse neurons in  
culture,  
J. Pharmacol. Exp. Ther., 2421, 48-55.
- DEHEN H., 1979,  
Récepteurs morphiniques et peptides endogènes "morphine-like",  
La revue du praticien, 19, 1549-1555.
- DEL POZO E., G. CARO et J.M. BAEYENS, 1987,  
Analgesic effects of several calcium channel blockers in mice,  
Eur. J. Pharmacol., 137, 155-160.
- DINGEMANSE J. et D.D. BREIMER, 1984,  
Benzodiazepine receptors,  
Pharmacy int., 5, 33-36.

- DUKA T, M. ACKENHEIL, J. NODERER, A. DOENICKE et R DOROW, 1986,  
Changes in noradrenaline plasma levels and behavioural responses induced by benzodiazepine agonists with the benzodiazepine antagonist RO 15-1788, *Psychopharmacology*, 90, 351-357.
- DUTEIL J., F.A. RAMBERT, J. PESSONNIER, R. GOMBERT et E. ASSOUS, 1979,  
A possible L.adrenergic mechanism for drug induced hyperactivity, *Eur. J. Pharmacol.*, 59, 121-123.
- EKONG D.E.U., J.I. OKOGUN, V.U. ENYINIHI, V. BALOGH-NAIR, K. NAKANISHI et C. NATTA, 1975,  
New antisickling agent 3,4-dihydro-2,2-dimethyl 2H-1-benzopyran-6butyric acid, *Nature*, 258, 743-745.
- EL SAID F., 1969,  
Facts behind some native cures in Nigeria, *Nigerian J. Sci.*, 3(2), 288.
- EL SAID F., S.O. FADULU, J.O. KUYE et E.A. SOFOWORA, 1971,  
Native cures in Nigeria, *Lloydia*, 34(1), 171-172.
- ELUJOBA A.A. et E.A. SOFOWORA, 1977,  
Detection and estimation of total acid in the antisickling fraction of Fagara species, *Planta med.*, 32(1), 54-59.
- ENGLER A. et K. PLANTL, 1891,  
Die naturlichen pflanzen familien, 3, 137-143, Verlag von Wilhelm Engelmann (Ed.), Berlin.
- ESHIET I.T. et D.A.H. TAYLOR, 1966,  
Extractives from Fagara xanthoxyloides, *Chem. Comm.*, 14, 467-468.
- ESSIEN E.M. et J.I. OKOGUN, 1976,  
Effect of the root extract of Fagara xanthoxyloides on blood coagulation, *Thromb. Haemost.*, 36, 525-531.
- FABRE J., 1975,  
Thérapeutique médicale,  
Flammarion Médecine-Sciences, Paris.
- FADULU S.O., 1975,  
The antibacterial properties of the buffer extracts of chewing sticks used in Africa, *Planta med.*, 27(2), 122-126.
- FELDBERG W. et V.J. LOTTI, 1967,  
Temperature responses to monoamines and an inhibit MAO injected into the cerebral ventricles of rats, *Br. J. Pharmacol.*, 31, 152-161.

FIELDING S. et H. LAL, 1979,  
Anxiolytics, 41-73 et 173-189,  
Pergamon Press, New York.

FILE S.E., 1976,  
A comparison of the effects of ethanol and chlordiazepoxide on  
exploration and its habituation,  
Physiol. Psychol., 4, 529-532.

FILE S.E. et S. PELLOW, 1986,.  
Intrinsic actions of the benzodiazepine receptor antagonist:  
RO 15-1788,  
Psychopharmacology., 88, 1-11.

FILE S.E. et S. PELLOW, 1987,  
Behavioral pharmacology of minor tranquillizers,  
Pharmac. Ther., 35, 265-290.

FISH F. et P.G. WATERMAN, 1972,  
Methanol-soluble quaternary alkaloids from african Fagara  
species,  
Phytochemistry, 11, 3007-3014.

FLEURENTIN J., 1983,  
Repertoire des pharmacopées traditionnelles du YEMEN et étude  
pharmacologique de deux espèces à propriétés hépatorénales:  
Crepis rueppellii et Anisotes trisulcus,  
thèse doctorat d'état 25 Sciences pharmaceutiques, Nancy 1.

FLEURENTIN J., C. HOEFLER, A. LEXA, F. MORTIER et J.M. PELT,  
1986,  
Hepatoprotective properties of Crepis rueppellii and Anisotes  
trisulcus: Two traditional medicinal plants of YEMEN,  
J. Ethnopharm., 16, 105-111.

FORGER N.G. et R.J. NELSON, 1983,  
Rhythms of barbiturate-induced sleep time in deermice  
entrained to non-twenty-four hours photocycles,  
Physiol. Behav., 31, 379-383.

FOURNIER P., 1961,  
Les quatre flores de la France,  
P. Lechevalier (Ed.), Paris.

FRANCES H., P. CHERMAT et P. SIMON, 1980,  
Oxotremorine behavioural effects as a screening test in mice,  
Prog. Neuro-Psych. Biol. Psych., 4, 241-246.

FREMY E., 1882,  
Encyclopédie chimique., DUNOD (Ed.), Paris.,

FRIEDMAN A.H. et C.A. WALKER, 1968,  
Circadian rhythms in rat mid-brain and caudate nucleus  
biogenic amine levels,  
J. Physiol., 197, 77-85.

- FRIEDMAN A.H. et C.A. WALKER, 1969,  
Rat brain amines, blood histamine and glucose levels in  
relationship to circadian changes in sleep induced by  
pentobarbitone sodium,  
J. Physiol., 202, 133-146.
- FUHRMAN F.A., 1947,  
The effect of body temperature on the duration of barbiturate  
anesthesia in mice,  
Science, 105, 387-388.
- GARNIER G., L. BEZANGER BEAUQUESNE et G. DEBRAUX, 1961,  
Ressources médicinales de la flore Française, 485-487,  
VIGOT Frères (Ed.), Paris.
- GARATTINI S., E. MUSSINI et L.O. RANDALL, 1973,  
The benzodiazepines,  
Raven Press, New York.
- GEE K.W. et H.I. YAMAMURA, 1982,  
Regional heterogeneity of benzodiazepine receptors at 37°C: An  
in vitro study in various regions of the rat brain,  
Life Sci., 31, 1939-1945.
- GELLER I. et J. SEIFTER, 1960,  
The effects of meprobamates, barbiturates, d'amphetamine and  
promazine on experimentally-induced conflict in the rat,  
Psychopharmacologia, 1, 482-492.
- GELLER I., 1962,  
Use of approach avoidance (conflict) for evaluating depressant  
drugs,  
Dans: Animal and clinical pharmacologic techniques in drug  
evaluation, 317-324,  
NODINE J.H. et J.H. MOGER (Eds.),  
Lea and Febiger, Philadelphia.
- GENEVES L., 1962,  
Manipulation de botanique, 52, DUNOD (Ed.), Paris.
- GERARDY J., 1982,  
Psychopharmacologie du gaba,  
J. Pharm. Belg., 37, 435-441.
- GILLESPIE J.P., L.G. AMOROS. et F.R. STERMITZ, 1974,  
Synthesis of fagaronine, an anticancer benzophenanthridine  
alkaloid,  
J. Org. Chem., 39(22), 3239-3241.
- GILLETTE J.R., 1963,  
Metabolism of drugs and other foreign compounds by enzymatic  
mechanisms,  
Arzneimittel Forschung, 6, 11-73.
- GIROUT J.P., G. MATHE et G. MEYNIEL, 1979,  
Pharmacologie clinique,  
Expansion scientifique française, Paris.

- GODIN Y., L. HEINER, J. MARK et P. MANDEL, 1969,  
Effects of di-n-propylacetate, an anticonvulsive compound, on  
gaba metabolism,  
J. Neurochem., 16, 869-873.
- GOODMAN L.S. et A. GILMAN, 1975,  
The pharmacological basis of therapeutics,  
Mac Millan, New York.
- GOODRICH C., 1982,  
Reserpine effects on body temperature in maturing mice,  
Gen. Pharmacol., 13, 63-66.
- GOURET C., R. SERCOMBE, J.A. COSTON, P. BOUVET et G. RAYNAUD,  
1973,  
Profil psychopharmacologique d'un antidepresseur potentiel  
appartenant à la série de l'hydroxyméthyl 5 oxazolidinone 2 ,  
Thérapie, 28, 1197 - 1215.
- GOURET C. et J. THOMAS, 1973,  
Test du ptosis à la réserpine chez la souris,  
Fiche technique n° 30,  
J.Pharmacol., 4(3), 401-404.
- GROGER D., 1969,  
Anthranilic acid as a precursor of alkaloids,  
Lloydia, 32, 221-246.
- HAEFELY W.E., 1978,  
Behavioral and neuropharmacological aspects of drugs used in  
anxiety and related states,  
Dans: Psychopharmacology: a generation of progress,  
LIPTON G., L. DIMASCIO et S. KILLAN (Eds.),  
Raven Press, New York.
- HAEFELY W., 1983a,  
Antagonists of benzodiazepines,  
L'encéphale, IX, 143B-150B.
- HAEFELY W., 1983b,  
The biological basis of benzodiazepine actions,  
J. Psychoactive drugs., 15 (1-2), 19-38.
- HAEFELY W., 1985,  
Pharmacology of benzodiazepines antagonists,  
Pharmacopsychiatry, 18, 163-166.
- HAGER H., 1973,  
Hagers handbuch der pharmazeutischen praxis, 4, 831-832,  
Springer verlag (Ed.), Berlin, Heidelberg, New York.
- HALL C.S., 1934,  
Emotional behavior in the rat: 1. Defecation and urination as  
measure of individual differences in emotionality,  
J. comp. psychol., 18, 385-403.

HALLIWELL G., R.M. QUINTON et F.E. WILLIAMS, 1964,  
A comparison of imipramine, chlorpromazine and related drugs  
in various tests involving automatic function and antagonism  
of reserpine,  
Brit. J. Pharmacol, 23, 330-350.

HANOAKA M., H. YAMAGISHI et C. MUKAI, 1985,  
Synthesis of fagaridine, a phenolic benzo(c)phenanthridine  
alkaloid,  
Chem. Pharm. Bull., 33(4), 1763-1766.

HANSON H.M. et C.A. STONE, 1964,  
Animal techniques for evaluating anti-anxiety drugs,  
Dans: Animal and clinical pharmacologic techniques in drug  
evaluation,  
317-324,  
NODINE J.H. et P.E. SIEGLER (Eds.),  
Yearbook Medical Publishers, Chicago.

HARRIS R.A. et F. SCHROEDER, 1980,  
Interaction of barbiturates with brain membranes,  
Soc. Neurosci. Abstr., 6, 772.

HARVEY S.C., 1975,  
Hypnotics and sedatives,  
in pharmacological basis of therapeutics, 17, 345-374,  
GOODMANN A.G., L.S. GILMAN, (Eds.) Mac millan, New York.

HEADINGS V.E., S. ABU, S. ANYAIRE et O. CASTRO, 1976,  
Characteristics of the antisickling activity of Fagara  
xanthoxyloides extract,  
Dans: Proceedings of the international conference of sickle  
cell disease: a world problem, 163-167,  
Howard University.

HEGNAUER R., 1973,  
Chemiotaxonomie der Pflanzen,  
Birkhauser Verlag, Basel und Stuttgart, 6, 174-239.

HEYMAN G.M et B. BEER, 1987,  
A new approach for evaluating the behavioural effects of  
antipsychotic drugs,  
TIPS, 8, 389-393.

HONIG G.R., N.R. FARNSWORTH, G. FERENC et L.N. VIDA, 1975,  
Evaluation of Fagara xanthoxyloides root extract in sickle  
cell anemia blood in vitro,  
Lloydia, 38, 387-390.

HONIG G.R., L.N. VIDA et G. FERENC, 1978,  
Effects in vitro of the proposed antisickling agent D $\delta$ A,  
Nature, 272, 833-834.

HOPPE H.A., 1975,  
Drogen Kund,  
De Gruyter, Berlin.

- MISSLIN R., F. HERZOG, B. KORCH et PH. ROPARZ, 1982  
Effects of isolation, handling and novelty on the pituitary-adrenal response in the mouse.  
Psychoneuroendocrinology, 7, 217-221
- MISSLIN R., PH. ROPARTZ et L. JUNG, 1983  
Impairment of responses to novelty and its antagonism by neuroleptis in mice.  
Psychopharmacology, 82, 113-117
- MISSLIN R., PH. ROPARTZ et P. MANDEL, 1975  
Etude comparée des effets du di-n-propylacetate et de l'oxazepam sur l'activité spontanée et conditionnée de la souris,  
C.R. Acad. Sci. Paris, 281, 1175-1178.
- MISSLIN R., PH. ROPARTZ et P. MANDEL, 1976,  
Action of di-n-propylacetate on the spontaneous and acquired behaviour in goldfish, mice and rats,  
Pharmacol. Biochem. Behav., 4, 643-646.
- MÖHLER H. et T. OKADA, 1977,  
Properties of 3H-Diazepam binding to benzodiazepine receptors in rat cerebral cortex,  
Life Sci ..20, 2101-2110.
- MÖHLER H., 1982,  
Benzodiazepine receptors: Are there endogenous ligands in the brain? In more about receptors current reviews in biomedecine 2,  
Lamble J.W., (Ed.), Elsevier Biomedical.
- MOLINENGO R. et H. STEINBERG, 1970,  
The staircase maze' and the simple 'staircase' in the analysis of the psychopharmacological action of CNS depressant,  
Pharmacology, 4, 169-178.
- MORRE N. et P. KEANE, 1983,.  
Le site de liaison des benzodiazépines est-il un récepteur?,  
L'encéphale, IX, 125-130.
- MORTIER F., 1972.  
De l'intérêt thérapeutique de certains acides organiques aliphatiques constituants de diverses drogues à réputation hépatorénales et en particulier de Cynara scolymus (L.),  
Thèse de doctorat de pharmacie , Nancy, 200 pp.
- MULLER W.E., 1987,.  
The benzodiazepine receptor,  
Cambridge University Press, Cambridge, New York, New Rochelle, Melbourne, 4, 52-113.
- NORDBERG A., G. WAHLSTROM, 1977,  
Effect of long-TERM forced oral barbital administration on endogenous acetylcholine in different regions of rat brain.,  
Eur.j pharmacol, 43, 237-242.

- NORDGREN I., G. LUNDGREN et B. KARLEN, 1987, .  
Effects of diazepam on muscarinic acetylcholine receptor binding in vivo and on oxotremorine induced tremor and hypothermie in mice,  
Pharmacol. Toxicol., 60, 258-261.
- OKAMOTO M., 1978,  
Barbiturates and alcohol: Comparative overviews on neurophysiology and neurochemistry,  
in Psychopharmacology: A generation of progress, 1575-1590,  
LIPTON M.A., A. DIMASCIO, K.F. KILLAM (Eds.),  
Raven Press, New York.
- OLSEN R.W., 1982,  
Drug interactions at the gaba receptor ionophore complex,  
Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 22, 245-277.
- PALMER L., G. LUNDGREN et B. KARLEN, 1980,  
A method using L.hyoscyamine for the study of muscarinic acetylcholine receptor binding in vivo,  
Pharmacol. and Toxicol., 60, 54-57
- PARIS R.R, H. MOYSE, 1971,  
Précis de matière médicale, 1, 2, 3, 416 p, 511 p, 509 p,  
JANOT M.M., Masson (Eds.), Paris.
- PASSOUANT P. et M. BILLARD, 1978,  
Hypno-sédatifs,  
Dans :Thérapeutique médicale, 226-233, FABREJA (Ed.) .Médecine Science Flammarion Paris ,
- PELLOW S. et S.E. FILE, 1984,  
Multiple sites of action for anxiogenic drug: Behavioural, electrophysiological and biochemical correlations,  
Psychopharmacol., 83, 304-315.
- POLC P. et W. HAEFELY, 1976,  
Effects of two benzodiazepines, Phenobarbitone and baclofen on synaptic transmission in the cat cuneate nucleus,  
Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 294, 121-131.
- POLC P., H. MOHLER et W.E. HAEFELY, 1974.  
The effect of diazepam on spinal cord activity: Possible sites and mechanism of action,  
Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 284, 319-337.
- POLC P., E.P. BONETTI, R. SCHAFFNER et W. HAEFELY, 1982,  
A three state model of the benzodiazepine receptor explains the interactions between the benzodiazepine antagonist RO 15-1788, benzodiazepine tranquillizers, B-carbolines and phenobarbitone,  
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. pharmacol., 321, 260-264,
- PORSOLT R.D., A. LENEGRE, I. AVRIL, S. LANCRENON, L. STERU et G. DOUMONT, 1987,  
Psychopharmacological profile of new cognition enhancing agent exifone in the mouse, .  
Arznein. Forsch./ Drug res., 37(1), 4, 388-393.

HO I.K. et R.A. HARRIS, 1981,  
Mechanism of action of barbiturates,  
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 21, 83-111.

HUNKELER W., 1981,  
Selective antagonist of benzodiazepines,  
Nature, 290, 514-516.

HUTCHINSON J., J.M. DALZIEL et R.W.J. KEAY, 1958,  
Flora of West tropical Africa, 1(2),  
Whitefriars Press, London and Tonbridge.

INDEX KEWENSIS,  
Plantarum phanerogarum,  
2, 1893, 729 p.  
Sup. 3, 1901-1906, 72 pp; Sup. XI, 1941-1950.

IRVINE F.R., 1930,  
Plants of the gold coast,  
MILLFORD H (Ed.),  
Oxford University Press, London.

ISAAC SODEYE W.A., E.A. SOFOWORA, A.O. WILLIAMS, V.O. MARQUIS,  
A.A. ADEKUNLE et C.O. ANDERSON, 1975,  
Extract of Fagara xanthoxyloides root in sickle cell anemia.  
Toxicology and preliminary clinical trials,  
Acta Haematol., 53, 158-164.

ISHII H., I.S. CHEN, M. AKAIKE, T. ISHIKAWA et S.T. LU, 1982,  
Studies on the chemical constituents of rutaceous plants. The  
chemical constituents of Xanthoxylum integrifolium. The  
chemical constituents of the root wood,  
J. Pharm. Soc. of Japan, 102(2), 182-195.

ISHII H., T. ISHIKAWA, M. MIHARA et M. AKAIKE, 1982,  
Studies on the chemical constituents of rutaceous plants. The  
chemical  
constituents of Xanthoxylum ailanthoides. Isolation of the  
chemical constituents of the bark,  
J. Pharm. Soc. of Japan, 103(3), 279-292.

ISHII H., T. ISHIKAWA, M. AKAIKE, T. TOHJOH, M. TOYOKI, M.  
ISHIKAWA, I.S. CHEN et S.T. LU, 1984,  
Studies on the chemical constituents of rutaceous plants. The  
chemical  
constituents of Xanthoxylum nitidum. Examination of the  
alkaloidal fraction of the bark,  
J. Pharm. Soc. of Japan, 104(10), 1030-1042.

IWAMOTO E.T., 1984,  
An assessment of the spontaneous activity of rats administered  
morphine, phencyclidine, or nicotine using automated and  
observational methods,  
Psychopharmacol. Bull., 84, 374-382.

JENSEN L.H., G. MARESCAUX, M. VERGNES, G. MICHELETTI et E.N. PETERSEN, 1984,  
Antiepileptic action of the  $\beta$ .carboline ZK 91296 in a genetic petit mal model in rats,  
Eur. J. Pharmacol., 102, 521-524.

JOHNSTON G.A.R. et M. WILLOW, 1982,  
GABA and barbiturate receptors.,  
Dans: More about receptors, 111-114,  
LAMBLE J.W. (Ed.),  
Elsevier Biomedical Press, New York.

JORI A., A. BIANCHETTI et P.E. PRESTINI, 1970,  
Relations between barbiturate brain levels and sleeping time  
in various experimental conditions,  
Biochem. Pharmacol., 19, 2687-2694.

KAFKA M.S., A. WIRTZ-JUSTICE, D. NABER, R.Y. MOORE et M.A. BENEDITO, 1983,  
Circadian rhythms in rat brain neurotransmitter receptors,  
Faseb. J., 42(11), 2796-2801.

KALES A., E.J. MALMSTROM et M.B. SCHARF, 1969,  
Psychophysiological and biochemical changes following use and  
withdrawal of hypnotics,  
Dans: Sleep, physiology and pathology,  
Lippincott, Philadelphia.

KATZ R.J. et J. GELBART, 1978,  
Endogenous opiates and behavioral responses to environmental  
novelty,  
Behav. Neurol. Biol., 24, 338-348.

KEANE P.E., J. SIMIAND et M. MORRE, 1984,  
The quinolines PK 8165 and PK 9084 possess benzodiazepine-like  
activity in vitro but not in vivo.,  
Neuro Sciences letters., 45, 8993p.

KEMPF E., P. MANDEL, A. OLIVERIO et S. PUGLISI-ALLEGRA, 1982  
Circadian variations of noradrénaline, 5-hydroxytryptamine and  
dopamine in specific brain areas of C 57BL/6 and BALB/C mice.  
Brain Res., 232, 472-478.

KERHARO J. et A. BOUQUET, 1950,  
Plantes médicinales et toxiques de la Cote d'Ivoire, Haute-  
Volta,  
VIGOT frères (Eds.), Paris.

KERHARO J., 1973,  
Recherches ethnopharmacognosiques sur les plantes médicinales  
et toxiques de la pharmacopée sénégalaise traditionnelle,  
Thèse de médecine et pharmacie, Université de Dakar, 255-256.

KERHARO J. et J.G. ADAM, 1974.,  
La pharmacopée Sénégalaise traditionnelle, 710-803,  
VIGOT Frères (Eds), Paris.

- KOE B.K. et L.A. LEBEL, 1983,  
 Contrasting effects of ethyl- $\beta$ -carboline-3-carboxylate (BCCE)  
 and diazepam on cerebellar cyclic GMP content and antagonism  
 of both effects by RO 15-1788, A specific benzodiazepine  
 receptor blocker,  
 Eur. J. of Pharmacol, 90, 97-102.
- KOŁOSA K., S. CONSOLO, G. FORLONI, S. GARATTINI et H.  
 LADINSKY, 1985,  
 Blockage of the diazepam-induced increase in rat striatal  
 acetylcholine content by the specific benzodiazepine  
 antagonists ethyl- $\beta$ -carboline 3-carboxylate and RO 15.1788,  
 Brain Res., 336, 342-345.
- KOSTOWSKI W., E. MALATYNSKA, A. PLAZNIK, W. DYR et W. DANYSZ,  
 1986,  
 Comparative studies on antidepressant action of alprazolam in  
 different animal models,  
 Pol. J. Pharmacol. Pharm., 38, 471-481.
- LANHERS M.C., I. BERTRAND, J. FLEURENTIN, P.R. LEHR et J.M.  
 PELT, 1986,  
 Influence of Anisotes trisulcus and Crepis rueppellii extracts  
 on sites of bile formation in the rat,  
 Arzneim. Forsch./Drug Res., 5(1), 826-829.
- LAPIERRE Y.D., 1979,  
 Nooanaleptiques,  
 Dans :Pharmacologie clinique: bases de la thérapeutique, 2,  
 1709-1719, GIROUD J.P., G. MATHE et G. MEYNIEL (Eds.),  
 Expansion Scientifique Française, Paris.
- LAPIN I.P., 1962.  
 Qualitative and quantitative relations between the effects of  
 imipramine and chlorpromazine on amphetamine group toxicity,  
 Psychopharmacologia, 3, 413-422.
- LAURENT J.P., 1980,  
 Mécanisme d'action et effets pharmacologiques des  
 benzodiazépines,  
 Med. et Hyg., 38, 4018-4024.
- LECRUBIER Y., R. SERCOMBE, J.A. COSTON, P. BOUVET et G.  
 RAYNAUD, 1979,  
 Neuroleptiques,  
 Dans: Bases de la thérapeutique 1651 - 1673,  
 GIROUD J.P., G. MAHE. et G. MEYNIEL (Eds.),  
 Expansion Scientifique Française, Paris.
- LIM R.K.S., F. GUZMAN, D.W. RODGERS, K. GOTO, C. BRAUN, G.D.  
 DICKERSON et R.J. ENGLE, 1964,  
 Site of action of narcotic and non narcotic analgesics  
 determined by blocking bradykinin evoked visceral pain,  
 Arch. int. pharmacodyn., 152, 25-58.

LIPPA A.S.R., D. NASH et E. GREENBLATT, 1979,  
Pre-clinical neuropsychopharmacological testing procedures for  
anxiolytic drugs,

Dans: Anxiolytics, 41-81,  
FIELDING S. et LELAL (Eds.),  
Pergamon press, New York.

LICHTFIELD J.T. et F. WILCOXON, 1949,  
A simplified method of evaluating dose effect experiments,  
J. Pharmacol., 96, 99-113.

LOWRY O.H., N.J. ROSEBROUGH, A.L. FARR et R.J. RANDALL, 1951,  
Protein measurement with the Folin phenolreagent.,  
J. Biol. Chem., 193, 265-275.

MANSKE R.H.F. et K.H. SHIN, 1966,  
The alkaloids,  
Can. J. Chem..

MASSON S.T., 1979,  
Central noradrenergic cholinergic interaction and locomotor  
behavior,

Eur. J. Pharmacol., 56, 131-137.

MEERT, T.F., NIEMEGERES, C.J., 1987  
Behavioral activity of rats measured by a new method based on the piezo electric principle  
psychopharmacology, 33, 382-388

METCALFE C.R. et L. CHALK, 1950,  
Anatomy of the dicotyledons, 74-78,  
The Clarendon Press (Ed.), Oxford.

MILLER L.G., D.J. GREENBLATT et R.I. SHADER, 1987,  
Benzodiazepine receptor binding: influence of physiologic and  
pharmacologic factors,  
Biopharm. drug disposition, 8, 103-114.

MISSLIN R. et PH. ROPARTZ, 1976,  
Effets du di-n-dipropylacetate sur la fréquence cardiaque et  
l'émotivité de la souris,  
C.R. Acad. Sci. Paris, 282, 1541-1543.

MISSLIN R. et PH. ROPARTZ, 1981,  
Effects of methamphétamine on novelty seeking behavior by  
mice,  
Psychopharmacologie, 75, 39-43.

MISSLIN R., 1982,  
Contribution à l'étude des conduites néotiques chez la souris,  
thèse Sciences, Université louis pasteur, Strasbourg.

MISSLIN R. et PH. ROPARTZ, 1981,  
Effects of methamphétamine on novelty seeking behavior by  
mice,  
Psychopharmacologie, 75, 39-43.

MISSLIN R. et M. CIGRANG, 1984,  
Rôle des vibrisses dans le contrôle des réponses aux  
stimulations nouvelles chez la souris.  
Biol. et Behav., 9, 184-191

- PRIESS H., 1911,  
Im other-01 der Fruchtschalen von Fagara xanthoxyloïdes,  
C 1911, II, 94.
- PRIVAT A., 1980,  
Substance P et analgésie,  
dans Quo vadis, 147-159 , Muyard J.P. et Roncucci R. (Eds.),  
Clin Midy, Montpellier.
- QUOCK R.M., J.H. WOJCECHOWSKYJ et D.E. EMMANOUIL, 1987,  
Comparison of nitrous oxide, morphine and diazepam effects in  
the mouse staircase test,  
Psychopharmacology, 92, 324-326.
- RAFFAITIN F. et H. CUCHE, 1983,  
Les benzodiazépines: Perspectives pharmacologiques,  
L'information psychiatrique, 59(5), 733-743.
- RAMBERT F.A., J. PESSONNIER, J.E. DE SEREVILLE, A.M. POINTEAU  
et J. DUTEIL, 1986,  
Profil psychopharmacologique original de l'Adrafinil chez la  
souris,  
J. Pharmacol., 17(1), 37-52.
- REMMER H., 1972,  
Induction of drug metabolizing enzyme system in the liver,  
Europ. J. Clin. Pharmacol., 5, 116-136.
- RICHARDS J.G. et H. MÖHLER, 1984.,  
Benzodiazepine receptors,  
Neuro Pharmacol., 23(2B), 233-242.
- ROLLAND A., 1984,  
Standardisation des différents paramètres influents sur le  
temps de sommeil induit par le pentobarbital sodique chez la  
souris Swiss,  
D.E.A. de toxicologie, Université de Metz, C.S.E., 49p.
- ROLLAND A., 1988,  
Etude pharmacologique et contribution à l'étude botanique et  
chimique d'Eschscholzia californica Cham.,  
Thèse de pharmacologie, Université de Metz, C.S.E..
- ROQUES B.P., 1980,  
Différenciation des récepteurs morphiniques,  
dans: Quo vadis?, 88-106,  
MUYARD J.P. et R. RONCUCCI (Eds.),  
Clin Midy, Montpellier.
- ROSSIER J. et G. CHAPOUTIER, 1982,  
Brain opiates,  
Endeavour, 6(4), 168-176.
- ROTH S.H., 1979,  
Physical mechanisms of anesthesia,  
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 19, 159-178.

- ROTH S.H., K.S. TAN et J. TOOTH, 1983,  
Neuronal membranes can distinguish between structural differences of barbiturates,  
Proc. West. Pharmacol. Soc., 26, 243-246.
- RUBIN B., M.H. MALONE, M.H. NAUGH et J.C. BURKE, 1957,  
Bioassay of Rauwolfia roots and alkaloids,  
J. Pharm. Exp. Therap., 120, 125 -136.
- RUCKEBUSCH Y. et L. BUENO, 1983,  
La naloxone: pharmacologie et intérêt thérapeutique,  
Rev. Med. Vét., 134(2), 77-82.
- RUSHTON R. et H. STEINBERG, 1966,  
Combined effect of chlordiazepoxide and dexamphetamine on activity of rats in an unfamiliar environment,  
Nature, 211, 1312-1313.
- SACKEYFIO A.G. et O.M.S. LUGELEKA, 1986,  
The antiinflammatory effect of a crude aqueous extract of the root bark of "Ficus elastica" in the rat,  
Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., 281(1), 169-175.
- SAGAR SETHI V. et M.L. SETHI, 1971,  
Inhibition of reverse transcriptase activity of RNA-tumor viruses by fagaronine,  
Biochem. Biophys. Res. Commun., 63(4), 1070-1077.
- SAMANIN R., A. JORI, S. BERNASCONI, E. MORPUGO et S. GARATTINI, 1977,  
Biochemical and pharmacological studies on amineptine(S 1694 ) and (+) amphetamine in the rat,  
J. Pharm. Pharmacol., 29, 555-558.
- SANOFI, 1968,  
Tranxène,  
Dossier technique, 30 pp.
- SATO J., K. ITO, M. SATO, T. AIMOTO, R. KIMURA et T. MURATA, 1979,  
Effect of acetazolamide on sleeping time induced with barbiturates in mice: Possible relationship between barbiturate sleep and brain carbonic anhydrase activity,  
J.Pharm. Dyn., 2, 133-140.
- SATO J., E. OWADA, K. ITO, et T. MURATA, 1980,  
Effect of acetazolamide on barbiturate-induced sleeping time in mice: II. Effect on barbiturate levels in the plasma and brain,  
Chem. Pharm. Bull., 28(2), 645-647.
- SCHEVING L.E., D.F. NEDRA et J.E. PAULY,  
A circadian susceptibility rhythm in rats to pentobarbital sodium,  
Anticancer Res., 160, 741-750.

SCHMITT H. et H. SCHMITT, 1966,  
Valeur de la pharmacologie prévisionnelle dans le domaine des  
antidépresseurs dérivés de l'iminodibenzyle,  
Thérapie, XXI, 653-674

SCHMITT H., 1970,  
Eléments de pharmacologie, 282 p,  
FLAMMARION Médicale, Paris.

SCHWEPPE H., 1959,  
in: Paper chromatographie in der botanik, 82,  
Springer Verlag, Heidelberg.

SEEL V.H., H. STIEDA et G. PEPLAU, 1939,  
Pharmakologische und klinische untersuchungen deutscher  
arzneipflanzen,  
Hippokrates, 50, 1281-1287.

SHANNON H.E. et S. HERLING, 1983,  
Discriminative stimulus effects of diazepam in rats evidence  
for maximal effect,  
J. Pharmacol. Exp. Ther., 227, 160-166.

SIEGMUND J. , 1957,  
J. Pharmacol. Exptl. Therap., 119, 453.

SIEST G., A.M. BATT et M.M. GALTEAU, 1981,  
Mesurement and biochemical evaluation of enzyme induction.  
in Organ-Directed toxicity chemicals and mechanism, 147-159,  
BRON S.F. et D.S. DAVIES (Eds.),  
Pergamon Press, New York.

SIMLER S., L. CIESIELSKI, M. MAITRE, H. RANDRIANARISOA, et P.  
MANDEL, 1973,  
Effects of sodium n-d-propylacetate on audiogenic seizures and  
brain gamma-aminobutyric acid level,  
Pharmacology, 22, 1701-1708.

SIMON P. et L. COLONA, 1979,  
Antidépresseurs,  
dans: Pharmacologie clinique : Bases de la thérapeutique, 1633-  
1649,

GIROUD J.P., G. MATHE et G. MEYNIEL (Eds.),  
Expansion Scientifique française, Paris.

SIMON P., R. CHERMAT, L. DOARE, M. BOURIN et R. FARINOTTI,  
1982,  
Interactions imprévues de divers psychotropes avec les effets  
du barbital et du pentobarbital chez la souris,  
J. Pharmacol., 13(2), 241-252.

SIMON P. et I. BOUTELIER, 1983,  
Pharmacology of hypnotics,  
Pharmacology, 27(2), 39-45.

- SIMON P., 1985,  
Interactions hypnotiques-psychotropes. Quelques aspects de pharmacologie expérimentale,  
J. Pharmacol., 16(1), 1-5.
- SIMONSEN J.L. et L.N. OWEN, 1953,  
The terpenes,  
Cambridge Univ. Press, 1, 57-62.
- SOFOWORA E.A. et W.A. ISAACS, 1971,  
Reversal of sickling and crenation in erythrocytes by the root extract of Fagara xanthoxyloides,  
Lloydia, 34(4), 383-385.
- SOFOWORA E.A., 1973,  
Recent developments in research into the antisickling properties of Fagara xanthoxyloides,  
J. Pharm. Nigeria, 5(2), 8-14.
- SOFOWORA E.A., W.A. ISAACS SODEYE et L.O. OGUNKOYA, 1975,  
Isolation and characterisation of an antisickling agent from Fagara xanthoxyloides root,  
Lloydia, 38(2), 169-171.
- SOFOWORA E.A., 1985,  
Medecine plants and traditional medecine in Africa,  
Spectrum Books limited, Ibadan.
- SOKOLOV E.N., 1963,  
Higher nervous functions: the orienting reflex,  
Annu. Rev. Physiol., 25, 545-580.
- SPAULDING T.C., S. FIELDING, J.M. KITZEN, H.H. ONG et W.J. NOVICK, 1980,  
Antinociceptive activity in a tricyclic serie,  
Fed. Proc., 39, 760.
- SPAULDING T., S. FIELDING, M. MA, D.B. ELLIS, W.J. NOVICK et H.H. ONG, 1985,  
Fluradoline (HP 494), a centrally acting analgesic with antidepressant properties: analgesic pharmacology,  
Drug Devel. Res., 5, 195-205.
- SPENCER P.S.T., 1966,  
The antagonism of oxotremorine effects in the mouse by thymoanaleptics,  
Life Sci., 5, 1015 - 1023.
- SPETH R.C., A. GUIDOTTI et H.I. YAMAMURA, 1980,  
The pharmacology of the benzodiazepines,  
Dans: Neuropharmacology of central nervous system and behavioral disorders, 11, 243-283,  
PALMER G.C. (Eds.),  
Academic Press, New York.

- SQUIRES R. et C. BRAESTRUP, 1977,  
Benzodiazepines receptors in rat brain,  
Nature, 266, 732-734.
- STAMM I., 1984,  
Au sujet d'une Rutacée utilisée en médecine traditionnelle  
ouest-africaine: Fagara xanthoxyloïdes,  
Thèse de pharmacie, Université Louis Pasteur,  
Strasbourg, 84.314.
- STARK P. et R.A. ARCHER, 1975,  
Preclinical pharmacologic profile of a psychoactive  
cannabinoid,  
The Pharmacologist, 17, 210.
- STERMITZ F.R., J.P. GILLESPIE, L.G. AMOROS, R. ROMERO et T.A.  
STERMITZ, 1975,  
Synthesis and biological activity of some antitumor  
benzophenanthridine salts,  
J. Med. Chem., 18(7), 708-713.
- TANIGUCHI M., H. HARAGUCHI, F. HIGUCHI, S. OI, A. CHAPIA et I.  
KUBO, 1985,  
Biocidal alkaloids from african Fagara plants: inhibition of  
mitochondrial function,  
Agr. Biol. Chem. Tokyo, 49(10), 3051-3052.
- TATEOKA Y., T. KIMURA, K. WATANABE, I. YAMAMOTO et I.K. HO,  
1987,  
Potentiation of barbiturate - induced substituted derivatives  
of phenobarbital, amobarbital and thiopental in mice,  
Chem. Pharm. Bull., 35(2), 778-794.
- TAYLOR K.M. et R. LAVERTY, 1969,  
The effect of chlordiazepoxyde, diazepam and nitrazepam on  
catecholamine metabolism in regions of the rat brain,  
Eur. J. Pharmacol., 8, 296-301.
- THIEBOT M.H., P. SOUBRIE, P. SIMON et J.R. BOISSIER, 1973,  
Dissociation de deux composantes du comportement chez le rat  
sous l'effet de psychotropes. Application à l'étude des  
anxiolytiques,  
Psychopharmacology, 31, 77-90.
- THIEBOT M.H., P. SOUBRIE, P. SIMON et J.R. BOISSIER, 1976  
Spécificité d'action des tranquillisants mineurs dans le test  
de l'escalier. Relation entre ces effets et leurs propriétés  
anxiolytiques,  
J. Pharmacol., 7, 87-102.
- THIEBOT M.H. et P. SOUBRIE, 1983,.  
Behavioural pharmacology of the benzodiazepines,  
Dans: " The benzodiazepines" , 67-91,  
COSTA E., (Eds.),  
Raven press. New York.

- THOMAS H. et F. THUMEN, 1911,  
 Über das Fagaramid, einen neuen stickstoffhaltigen Stoff aus  
 der Wurzelrinde von Fagara xanthoxyloides,  
 Ber. Chem. Ges., 44, 3717-3730.
- THONBURG J.F. et K.E. MOORE, 1973,  
 The relative importance of dopaminergique and noradrenergique  
 neuronal systems for the stimulation of locomotor activity  
 induced by amphetamine and other drugs,  
 Neuropharmacology, 12, 853-866.
- TISSOT R., 1980,  
 Récepteurs à opiacés et sommeil: une nouvelle approche des  
 mécanismes d'action des anesthésiques (alcool et  
 barbituriques),  
 Dans: Quo vadis, Neuropeptides, 292-297,  
 MUYARD J.P. et R. RONCUCCI (Eds.),  
 Clin Midy, Montpellier.
- TORTO F.G., 1961,  
 An aldobiouronic acid isolated from Fagara xanthoxyloides gum,  
 J. Chem. Soc., 3166-3167.
- TORTO F.G., P. SEFCOVIC et D.A. DADSON, 1966,  
 Medicinal plants of Ghana: identity of alkaloids from Fagara  
xanthoxyloides,  
 Tetrahedron Lett., 2, 181-183.
- TORTO F.G., P. SEFCOVIC, B.A. DADSON et I.A. MENSAH, 1969,  
 Alkaloids from Fagara species,  
 Ghana J. Sci., 9(1), 3-8.
- TREIT D., 1984,  
 Animal models for the study anti anxiety agents: A review  
 Neurosci. Biobehav. Rev., 9(2), 203-222.
- TROCHAIN J., 1940,  
 Contribution à l'étude de la végétation du Sénégal,  
 Dans: Mémoires de l'institut français d'Afrique noire, 373,  
 Larose, Paris.
- UNGER J., 1981,  
 Les plantes sédatives et calmantes,  
 Acta. Pharm., 182, 38-40.
- VALZELLI L. et S. TOMASIKOVA, 1985,  
 Difference in learning and retention by Albino-Swiss mice,  
 Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol., 7, 515-517.
- VALZELLI L., W. KOZAK et O. GIRAUD, 1987,  
 Exploratory behaviour and the dual activity of some  
 psychoactive drugs. Part 1,  
 Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol., 9(7), 437-440.
- VAN ABEELLEN J.H.F. et C.M. VAN DEN HEUVEL, 1982,  
 Behavioural responses to novelty in two inbred mouse strains  
 after intrahippocampal naloxone and morphine,  
 Behav. Brain Res., 5, 199-207.

- VESELL E.S., 1968,  
Genetic and environmental factors affecting hexobarbital  
induced sleeping time in mice,  
Fed. Proc., 27, 349-355.
- WANG R.Y. et G.K. AGHAJANIAN, 1977,  
Physiological evidence for habenula as major link between  
forebrain and midbrain raphe,  
Science, 197, 89-91.
- WAROT D., C. ADVENIER, P. ETEVENON et J.R. BOISSIER, 1979  
Hypnotiques,  
dans: Pharmacologie clinique : Bases de la thérapeutique,  
GIROUD J.P., G. MATHE et G. MEYNIEL (Eds.), Paris.
- WEISS R.F., 1980,  
Vierte überarbeitete und ergäzte Auflage Lehrbuch der  
Phytotherapie,  
Hippokrates Verlag, Stuttgart.
- WINTER C.A., E.A. RISLEY et G.W. NUSS, 1962,  
Carrageenin-induced edema in the hind paw of the rat as an  
assay for antiinflammatory drugs,  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 111, 544.
- WORMS P., J.P. KAN, A. PERIO, C.G. WERMUTH, K. BIZIERE et R.  
RONCUCCI, 1986,.  
Profil pharmacologique original, la minaprine : comparaison  
avec six antidépresseurs de référence,  
J. Pharmacol., 17(2), 126-138.
- WRIGHT S., 1973,  
Physiologie appliquée à la médecine,  
Flammarion Médecine Sciences, Paris.