

Sur l'analyse qualitative et pharmacologique de 2 plantes anti-hypertensives utilisées à N'gramanssabo en Côte d'Ivoire

MAMYRBEKOVA-BEKRO Janat Akhanovna *, BOUA Boua Benson, KOUASSI Kouadio Christian, BÉKRO Yves-Alain*

Laboratoire de Chimie Bio Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN),

UFR-SFA, Université d'Abobo-Adjamé, 02 BP 0801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

Résumé

La chromatographie sur Couche Mince (CCM) est une méthode qualitative qui a servi à identifier les phytoconstituants contenus dans les extraits aqueux de deux angiospermes *Morinda mucida* (ML) et *Solanum aethiopicum* (SA). Les résultats des tests pharmacologiques des extraits réalisés sur des lapins ont montré qu'ils induisent des hypotensions dose-dépendant. Toutefois, l'extrait de *S. aethiopicum* a présenté une efficacité plus accrue (DE50 = 3,31 mg/kg de PC.)

Mots-clés : Étude chimique et pharmacologique, plantes anti hypertensives, CCM, Côte d'Ivoire.

Abstract

Thin layer chromatography (TLC) is a qualitative method that served to identify phytoconstituents contained in aqueous extracts of two angiosperms *Morinda mucida* (ML) and *Solanum aethiopicum*. The results of pharmacological tests of the extracts achieved on rabbits showed that they lead dose-dependent hypotensions. However, *S. aethiopicum* extract presented an efficiency more increased (DE50 = 3.31 mg/kg of b.w.)

Keywords : Chemical and pharmacological survey, antihypertensive plants, TLC, Côte d'Ivoire

1. Introduction

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), on parle d'hypertension artérielle sanguine (HTAS) lorsque la pression systolique est supérieure ou égale à 140 mm Hg et la pression diastolique supérieure ou égale à 90 mm Hg, de manière soutenue pendant des semaines consécutives. C'est une maladie du système cardiovasculaire qui a atteint des proportions inquiétantes dans le monde. En effet, sur 972 millions d'hypertendus, 34,3 % proviennent des pays développés et 65,7 % des pays en développement. Cette affection ne cesse de faire des victimes. Elle est responsable de 8 millions de décès par an dans le monde, 100 millions d'invalides et serait la cause de la moitié des accidents cérébraux vasculaires et/ou cardiaques [1] et des complications rénales chroniques [2]. D'ici l'an 2025, le nombre d'hypertendus pourrait augmenter de 60 % et atteindre 1,56 milliards [3].

Une étude réalisée en 1992 par l'Institut de Cardiologie d'Abidjan (ICA) a montré que l'HTAS touche 15 à 20 % de la population africaine [4]. En Côte d'Ivoire, l'ICA a rapporté en 2003 que 40 à 50 % des consultations en cardiologie ont concerné cette affection et 14% de la population en souffre [2]. Cette pathologie est donc un véritable problème de santé publique qui mérite une attention toute particulière. Les effets secondaires indésirables de la thérapeutique des médicaments de synthèse de l'HTAS [4, 5], leur coût onéreux ainsi que le pouvoir d'achat insignifiant des populations obligent ces dernières à s'orienter vers les pratiques médicales folkloriques [6] qui semblent être une voie incontournable dans la recherche de solutions aux problèmes de santé publique dans les pays en développement. A cet égard, notre objectif a été de rechercher de nouvelles sources médicamenteuses naturelles accessibles à tous. Notre choix a porté sur 2 espèces d'angiospermes, *Solanum aethiopicum* L. (Solanaceae) et *Morinda lucida* Benth. (Rubiaceae) largement utilisées par les tradipraticiens de

santé du village N'gramassabo dans le département de M'batto en Côte d'Ivoire pour traiter l'HTAS.

2. Matériel et Méthodes.

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal comprend l'écorce de tige de *M. lucida* et le pédoncule floral de *S. aethiopicum*. Ces deux espèces ont été récoltées à N'Gramassabo en Avril 2010 après une enquête ethnobotanique menée auprès des tradipraticiens de santé, puis identifiées à l'herbier du Centre National de Floristique (CNF) de l'Université de Cocody-Abidjan par le Professeur AKE-Assi Laurent. Les drogues ont été nettoyées, puis séchées sous climatisation permanente pendant une semaine. Après séchage, elles ont été pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique (Marque RETSCH, Type SM 100) pour donner de fines poudres.

2.2. Préparation des extraits

30 g de poudre fine de drogue de chaque plante sont mis en contact avec 300 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 30 min sur un bain de sable. Les décocots sont séchés à l'étuve à 55°C pendant 2 jours. Les extraits obtenus sont échantillonnés pour les tests pharmacologiques puis également utilisés pour les analyses phytochimiques.

Pour les caractérisations phytochimiques par CCM, 15 g de décocté de chaque plante sont dissous dans 200 ml d'eau distillée. Les solutions sont successivement épuisées par (3×66 ml) d'hexane, de chloroforme, d'acétate d'éthyle et de n-butanol.

2.3. Criblage qualitatif par CCM

2 µl de chaque extrait organique sont analysés sur chromatoplaque (silica gel 60 F₂₅₄, support rigide en aluminium, Merck) par différents gradients de solvants de migration. Après séchage, les chromatogrammes sont révélés soit dans le visible soit sous UV/366 nm avec ou sans révélateurs appropriés.

2.4. Étude pharmacologique

2.4.1. Animaux d'expérimentation

Des lapins mâles de l'espèce *Oryctolagus cuniculus* (Léporidés) de 4 mois et pesant en moyenne 1700 g ont été utilisés. Ils proviennent de différentes fermes d'élevage du district d'Abidjan (Côte d'Ivoire) et ont été

acclimatés pendant une semaine dans le laboratoire d'expérimentation, puis correctement nourris et abreuvés.

2.4.2. Dispositif et technique d'enregistrement de la pression artérielle

L'appareil utilisé pour l'enregistrement de la pression artérielle (PA) est un manomètre de Ludwig. Le lapin est anesthésié par injection intra péritonéale d'éthyluréthane dosé à 40% à raison de 1g/kg de PC (Poids Corporel). Sa carotide est mise à nu et intubée à l'aide d'un cathéter relié au manomètre. Les variations de la pression carotidienne sont transmises à la colonne de mercure du dispositif et enregistrées grâce à un stylet qui transcrit les mouvements du mercure sur un cylindre enfumé tournant à une vitesse constante. Les extraits aqueux de *M. lucida* et *S. aethiopicum* sont dissous dans une solution de Mac Ewen, puis injectés à différentes doses (1, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 mg/kg de PC) au lapin par la veine saphène préalablement disséquée.

2.4.3. Solution physiologique

La solution physiologique de référence utilisée est le Marc Ewen. Elle est composée (en mM) de chlorure de sodium (130), chlorure de potassium (2,5), chlorure de calcium (2,42), dihydrogénophosphate de sodium (1,18), hydrogénocarbonate de sodium (11,90) chlorure de magnésium (0,24) et glucose (2,2).

2.4.4. Analyse statistique

Les données statistiques sont exprimées en erreur standard moyenne ($m \pm esm$) à partir de (n) expériences séparées. Les graphiques ont été construits à l'aide du logiciel Graph Pad Prism 5 (Microsoft, San Diego Californie, USA). La signification des différences observées simultanément entre les concentrations a été faite à l'aide de l'analyse des variances (ANOVA) du test de comparaison multiple de Tukey-Kramer qui est fonction du seuil de significativité (P). $P < 0,05$ est considéré comme significatif.

3. Résultats et Discussion

3.1. Préparation des extraits

La décoction aqueuse est la méthode d'extraction employée par les guérisseurs pour préparer les extraits qu'ils utilisent dans la thérapeutique traditionnelle de l'HTAS. C'est pourquoi, nous avons utilisé cette technique pour extraire les composés bioactifs que renferment *M. lucida* et *S. aethiopicum*. Les masses des décocots ainsi que celles des extraits

organiques sont consignées dans le tableau 1. L'extraction au n-butanol donne de meilleurs rendements (tableau 1). Il semble être le meilleur solvant pour l'extraction de phytocomposés.

Tableau 1: Récapitulatif des extractions

Extraits	Masse (g)/Rendement(%)	
	<i>M. lucida</i>	<i>S. aethiopicum</i>
Décocté	14,6/48	13,3/54
Hexanique	2,8/19	2,2/17
Chloroformique	2,7/18	2,3/23
Acétate éthylique	3,3/23	2,4/16
n-butanolique	4,8/33	4,5/38

3.2. Criblage qualitatif par CCM

3.2.1. CCM des extraits hexaniques

Les chromatogrammes des extraits hexaniques ont été obtenus avec un gradient n-C₆H₁₄/AcOEt, (8:1,9 ; v/v). Selon la littérature [7, 8]. L'hexane extrait les matières grasses et certains métabolites secondaires tels que les stérols et les terpènes. Pour mettre en évidence ces derniers, les réactifs de Libermann-Bürchard, Godin et la vanilline sulfurique ont été utilisés (tableaux 2 et 3). Les spots de couleur bleue sous UV à 366 nm après pulvérisation du réactif de Godin montrent la présence des stérols. C'est le cas des spots de Rf=0,77 et 0,67 observés dans *S. aethiopicum* et ceux de Rf=0,83 et 0,72 détectés dans *M. lucida*. La tache rouge (Rf=0,37) sous UV/366 nm décelée dans *M. lucida* est un terpène. Les travaux de Lhuillier [9], nous ont permis de déduire que le spot bleu-violet (Rf=0,92) identifié dans le visible dans *S. aethiopicum* en présence de vanilline sulfurique est un triterpène (tableau 2). Ainsi, nous constatons que les extraits hexaniques de *S. aethiopicum* et *M. lucida* sont majoritairement composés de stérols et de triterpènes (tableaux 2 et 3). L'utilisation du réactif de Liebermann-Bürchard a confirmé notre assertion. En effet, il a révélé d'une part, les triterpènes de type oléanane et ursane en rouge, ceux de type lupane en jaune-orangé, et d'autre part, les stéroïdes sous forme de taches jaunes ou jaune-vert. Le spot bleu dans le visible et violet sous UV/366nm observé dans *M. lucida* serait une génine triterpénique. Ces constats ont été faits par N'guessan et coll. [10] Dohou et coll. [11] et Kadja et coll. [12] dans leurs travaux respectifs menés sur d'autres plantes. Par ailleurs, certaines coumarines en présence de NH₃ prennent une coloration bleue dans le visible et sous UV/366nm [13]. C'est le cas du spot de Rf=0,97 de SA et celui de Rf=0,97 de *M. lucida*.

3.2.2. CCM des extraits chloroformiques

Les stérols, terpènes, coumarines, flavonoïdes et les alcaloïdes ont été recherchés. Des révélateurs polyvalents tels que (AcO)₂Pb basique à 1% (m/v), SbCl₃ (réactif de Carr-Price) et NH₃ ainsi que des réactifs spécifiques aux stérols et terpènes, aux coumarines (KOH), aux tanins

(FeCl₃) et aux alcaloïdes (réactif de Dragendorff) ont été employés à cet effet. Le développant choisi pour faire migrer ces composés est un mélange cyclohexane/AcOEt (10:8 ; v/v). Les résultats figurent dans le tableau 4. Certaines coumarines sont colorées dans le visible en jaune. Les spots bleus UV/366 nm (sans KOH) et jaune-vert (avec KOH) indiquent la présence de l'angélicine (Rf= 0,85) dans *M. lucida*. En outre, la tache jaune (Rf=0,75) dans le visible et bleue sous UV/366 nm après traitement par KOH se rapporte à l'ombelliférone [8] [14]. En général, les coumarines sont révélées avec KOH en jaune dans le visible et la coloration varie ou s'intensifie sous UV/366 nm [8] [14]. C'est le cas du spot de Rf=0,26 observé dans *M. lucida*. (AcO)₂Pb basique et NH₃ sont des révélateurs communs aux coumarines et aux flavonoïdes. Toutefois, ils se distinguent par des colorations caractéristiques. En effet, NH₃ permet non seulement d'identifier les coumarines en les colorant en bleu, vert, jaune, pourpre ou rose, mais également de les caractériser [15]. Ainsi, les spots bleus sous UV/366 nm dont la coloration ne varie pas après traitement par NH₃ correspondent aux 7-hydroxycoumarines ou 7-hydroxy-6-alkoxycoumarines. Il s'agit des spots de Rf=0,07 et 0,28 vus dans *M. lucida*, et celui de Rf= 0,25 détecté dans *S. aethiopicum*. Les composés fluorescents sous UV/366 nm de Rf= 0,90 et 0,22 dans *M. lucida* après traitement par SbCl₃ et (AcO)₂Pb basique sont des flavonoïdes [15]. Le réactif de Carr-Price met en évidence les stérols, terpènes, flavonoïdes et saponines. Il caractérise en outre, les saponines stéroïdiennes en jaune ou orange dans le visible et sous UV/366 nm (spot de Rf= 0,47 dans *M. lucida*). Il ressort du tableau 4 que les extraits chloroformiques de *M. lucida* et *S. aethiopicum* sont riches en métaboliques secondaires.

3.2.3. CCM des extraits acétate éthyliques

Le solvant de migration AcOEt/CHCl₃/AcOH dans les proportions 8:7:0,5 ; (v/v/v) et des révélateurs spécifiques et/ou polyvalents tels que NH₃ et KOH méthanolique à 5% (m/v) pour les coumarines, et le réactif de Neu et AlCl₃ pour les flavonoïdes ont été utilisés. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 5. NH₃ permet non seulement d'identifier les coumarines en les colorant en bleu, vert, jaune, pourpre ou rose, mais également de les caractériser [15]. Par ailleurs, les coumarines sont révélées avec KOH en jaune dans le visible et la coloration varie ou s'intensifie sous UV/366 nm [8] [14]. Ainsi, l'ombelliférone de Rf=0,91 a été décelée dans *S. aethiopicum*. D'autres coumarines dans *S. aethiopicum* (Rf=0,42, 0,06 ; 0,10, 0,76) et dans *M. lucida* (Rf=0,98, 0,81, 0,77) ont été identifiées. Les flavonoïdes présentent des taches de colorations variables sous UV/366 nm.

Tableau 2 :
 Composés identifiés dans l'extrait hexanique de *S. aethiopicum* par CCM
 Développant : n-C₆H₁₄/AcOEt, 8 :1,9 (V/V)

Extrait	Sans révélateur					Avec révélateur					Phytocomposés possibles
	Rf	Visible	UV/366nm	Liebermann-Büchard A	Vanilline sulfurique B	NH ₃ C	Réactif de Godin D				
<i>Solanum aethiopicum</i>	0,97	-	-	-	Jaune	-	-	Bleu	-	Bleu ^F	Coumarine
	0,92	-	Bleu	Jaune ^O	Jaune ^F	Violet ^B	-	-	-	-	Triterpène lupane
	0,90	-				Jaune ^C	-				Terpène
	0,85	-	Bleu	Brun	Jaune ^P	Violet ^C	-	-	-	-	Stérol A, terpène B
	0,77	-	-	Orange ^C	Jaune ^O	Orange ^J	-	-	-	Bleu ^J	Stérol
	0,67	-	-	Orange ^C	Jaune ^O	Violet	-	-	-	Bleu ^J	Stérol
	0,61	-	-	Jaune ^O	Bleu	-	-	-	-	-	Terpène
	0,52	-	-		Jaune ^O	-	-	-	-	-	Triterpène lupane
	0,51	-	-	Jaune ^O	Jaune	-	-	-	-	Jaune	Terpène
	0,48	-	-	-	-	-	-	-	-	Jaune	Terpène
	0,43	-	-	Jaune	Jaune ^O	Orange ^J	-	-	-	Jaune	Triterpène lupane
	0,41	-	-	Orange	-	Violet	-	-	-	-	Terpène
	0,37	-	-	Orange	Gris	Orange	-	-	Jaune	-	Terpène
	0,30	-	-	Rouge	Rouge ^G	-	-	-	-	-	Triterpène oléanane&ursane
	0,20	-	-	-	-	Orange ^N	-	-	Jaune	-	Terpène
	0,16	-	-	-	-	Vert ^G	-	-	-	-	Terpène
	0,05	-	-	-	Rouge ^O	Orange ^C	-	-	Jaune	-	Triterpène oléanane, ursane

Couleurs : O : Orange, G: Gris, P: Pâle, J: Jaune, C : Clair, F : Fluorescent, B : Bleu.

Révélateurs : A : Liebermann-Büchard, B : vanilline sulfurique, C : NH₃, D : réactif de Godin

Tableau 3:

Composés identifiés dans l'extrait hexanique de *M. lucida* par CCMDéveloppant : n-C₆H₁₄/AcOEt, 8:1,9 (V/V)

Extrait	Sans révélateur			Avec révélateur						Phytocomposés possibles	
	Rf	visible	UV/366nm	visible	UV/366nm	visible	Visible	UV/366nm	Visible	UV/366nm	
<i>Morinda lucida</i>	0,97	-	-	-	Jaune ^F	-	-	Bleu	-	Bleu F	Coumarine
	0,93	-	Bleu ^F	-	Jaune ^F	Bleu ^{vi}	-	-	-	Bleu ^{vi}	Triterpène lupane
	0,90	-	-	-	Jaune ^O	-	-	-	-	-	Stérol
	0,87	-	-	-	Gris	Vert ^J	-	-	-	-	Terpène
	0,83	-	Bleu ^F	-	Jaune ^V	-	-	-	-	Bleu	Stérol
	0,72	-	Bleu ^C	-	Bleu	-	-	-	-	Bleu ^G	Stérol
	0,66	-	-	Rouge ^J	Jaune ^O	Orange ^J	-	-	-	-	Triterpène lupane
	0,60	-	-	Rouge ^J	Jaune ^O	-	Bleu ^{vi}	-	-	Jaune ^P	Stérol A ; Coumarine C
	0,57	-	-	-	-	-	-	-	Bleu ^G	-	Stérol;Terpène ; Coumarine
	0,53	-	-	Jaune ^O	Jaune	Jaune	-	-	-	Bleu ^C	Terpène
	0,47	-	-	-	Rouge ^O	Violet	-	-	-	Bleu ^C	Triterpène oléanane et ursane
	0,42	Jaune		Bleu	Bleu ^C	Orange ^C	Bleu ^{vi}	-	Jaune ^O	-	Terpène
	0,37	-	-	Jaune ^C	Orange	Orange				Rouge	Terpène
	0,28	-	-	Jaune ^O	Orange ^R	-	-	-	Jaune ^O	Bleu ^C	Stérol
	0,22	Jaune	Rouge	Jaune ^O	Jaune ^O	Orange	-	-	-	-	Triterpène lupane
	0,18	-	-	-	-	Orange		-	Jaune ^O	Bleu	Stérol;Terpène ; Coumarine
	0,13	-	-	-	Violet ^O	Orange	-	-	-	-	Terpène
	0,06	-	-	Gris	-	Violet		Bleu	-	Jaune ^B	Terpène A et B ; Coumarine C
	0,03	-	Bleu ^C	Bleu ^J	Violet ^O	Gis	-			-	Génine triterpénique

Couleurs : O : Orange, G: Gris, P: Pâle, J: Jaune, C : Clair, F : Fluorescent, B : Bleu, vi : Violet, R : Rouge

Révélateurs : A : Liebermann-Bürchard, B : Vanilline sulfurique, C : NH₃, D : réactif de Godin.

Tableau 4:

Composés identifiés dans les extraits chloroformiques de *M. lucida* et *S. aethiopicum* par CCM

Développant : Cyclohexane/AcOEt, 10 : 8 (v/v)

Extrait	Sans révélateur										Avec révélateur						Phytocomposés possibles	
	Liebermann-Büchard A					FeCl ₃ B		KOH C		NH ₃ D		(AcO) ₂ Pb basique E			SbCl ₃ F			
	Rf	visible	UV/366nm	Visible	UV/366nm	Visible	visible	UV/366 nm	Visible	UV/366 nm	Visible	UV/366 nm	Visible	UV/366 nm	Visible	UV/366 nm		
<i>Morinda lucida</i>	0,90	-	-	-	-	-	-	Jaune	-	Bleu F	-	Bleu F		Bleu F		Bleu F	Flavonoïde anthocyane	
	0,85		Bleu F	Brun	Jaune O	-	Jaune P	Jaune V	Jaune O	-	-				Bleu F		Coumarine C de type Angélicine	
	0,75	-	Rouge	Brun	Rouge N	-	Jaune F	Bleu F	Jaune P	-	-	-	-	-	-		Coumarine Ombelliférone	
	0,58	Jaune	-	Gris N	Rouge N	-	Jaune F	Jaune F	-	-	-	-	-	-	-		Coumarine de type Daphnéline	
	0,47	-	-	Violet	Violet	-	-	-	-	-	-	Bleu F	-	Jaune P			Saponine stéroïdique	
	0,46	-	Bleu F	-	-	-	Rouge N	Rouge	-	Bleu	Jaune	Orange	Jaune	Bleu F			Coumarine C et E	
	0,40	-	-	-	-	-	Jaune	-	-	Bleu	-	-	-	-	-		Génine triterpénique A ; Coumarine	
	0,36	-	-	Violet	-	-	Jaune F	-	Jaune	Rouge J	-	-	-	-	-		Coumarine	
	0,31	-	-	-	-	-	Gris	-	Jaune	Rouge	-	-	-	-	-		Tanin B	
	0,28	-	Bleu F	Gris V	-	-	Jaune	-	Bleu F	Bleu F	-	-	-	Bleu F			Terpène A ; 7-hydroxycoumarines / 7-hydroxy-6-alkoxycoumarines	
	0,26	-	-	-	Marron	-	Jaune	Rouge	-	Bleu F	-	-	Jaune				Coumarine	
	0,22	-	Bleu F	Gris V	Bleu	-	Jaune	-	-	Bleu F	-	Bleu F	-	Bleu F			Terpène A&F ; Flavonoïde E&F	
	0,18	-	-	-	-	-	Jaune C	-	Jaune P	-	-	Bleu F	-	-			Coumarine	
	0,15	-	-	Gris	-	-	Jaune	-	-	-	-	Gris	-	-			Terpène A ; Coumarine D et F	
	0,07	-	Bleu	-	-	-	-	-	-	Bleu	-	-	-	Gris			7-hydroxycoumarines ou 7-hydroxy-6-alkoxycoumarines	
	0,06	-	-	Gris N	-	-	Jaune	-	-	Bleu	-	Gris	-	-			Terpène A ; Coumarine C et E	
<i>Solanum Aethiopicum</i>	0,25	-	Bleu	-	-	-	Jaune	-	Bleu		-	-	-	-			7-hydroxycoumarines / 7-hydroxy-6-alkoxycoumarines	

Couleurs : O : Orange, G: Gris, P: Pâle, J: Jaune, C : Clair, F : Fluorescent, R : Rouge, N : Noir, V : Vert

Révélateurs : A : Liebermann-Büchard, B : FeCl₃, C : KOH, D : NH₃, E : (AcO)₂Pb basique, F : SbCl₃

Tableau 5 :

Composés identifiés dans les extraits acétate éthyliques de *M. lucida* et *S. aethiopicum* par CCMDéveloppant : AcOEt/CHCl₃/AcOH, 8:7:0,5 (v/v/v)

Extrait	Avec révélateur										Phytocomposés possibles	
	Réactif de Neu					NH ₃		KOH		AlCl ₃	FeCl ₃	
	Rf	visible	UV/366nm	Visible	UV/ 366 nm	Visible	UV/ 366 nm	Visible	UV/ 366 nm	Visible		
<i>Solanum aethiopicum</i>	0,91	-	Bleu ^F	-	-	-	Bleu ^C	-	Bleu ^F	-	-	Coumarine (Ombélliférone)
	0,85	-	Bleu ^F	-	Bleu			Jaune	Bleu ^F	Jaune	Bleu ^F	Hydroxyflavonol A,B et C ; Flavone méthylée
	0,76	-		-	-			-	-	-	-	Coumarine
	0,52	Jaune	Jaune ^F	-	Bleu ^F	Jaune ^P		-	-	-	-	Flavone méthylée, Quercétine ; flavonol ou aurone
	0,42	-		-	-	Jaune ^P	Bleu ^C	-	Bleu	-	-	Coumarine
	0,40	-	Jaune ^C	-	Bleu	-	-	Jaune	-	Jaune	Bleu ^F	Gris ^N CoumarineC ;Flavonoïde;taninE
	0,10	-	-	-	-	-	-	Jaune	-	-	-	Coumarine
	0,06	-	-	-	-	Jaune ^P	Jaune ^O	Jaune	-	-	-	Coumarine
	0,03	-	-	-	Jaune	-	-	-	-	-	-	Flavonoïde (quercétine) ; Hydroxyflavonol
<i>Morinda Lucida</i>	0,98	-	-	-	-	-	Bleu ^F	-	-	-	-	Coumarine
	0,87	-	Bleu ^F	-	Bleu ^C	-	-	-	-	-	-	Flavone méthylée
	0,81	-		-	-	Jaune ^P	Bleu ^F	-	-	-	-	Coumarine
	0,77	-	Bleu ^F	-		-	-	-	Vert ^F	-	-	Coumarine
	0,65	-	Bleu ^C	-	Bleu	-	-	Jaune	-	-	-	Hydroxyflavonol ou flavone méthylée
	0,52	-	Bleu	-	-	-	Bleu ^C	-	Bleu ^C	Jaune	Bleu ^F	Flavonoïde D ; Coumarine
	0,47	-	-	-	Orange	-	-	-	-	-	-	Hydroxyflavonol ou xanthone
	0,37	-	-	-	-	-	-	-	Orange ^O	-	-	Coumarine
	0,26	-	Orange	-	Bleu ^P	-	-	-	-	-	-	Flavonoïde xanthonique
	0,05	-	-	-	Orange	-	Rose	-	-	-	-	Hydroxyflavonol ou xanthone

Couleurs : O : Orange, P: Pâle, J: Jaune, C : Clair, F : Fluorescent

Révélateurs : A : Réactif de Neu, B : FeCl₃, C : SbCl₃, D : AlCl₃

Tableau 6 :

Composés identifiés dans les extraits n-butanoliques de *M. lucida* et *S. aethiopicum* par CCM

Développant : Toluène/Acétone/Acide formique, 3:5:1 (v/v/v)

Extrait	Rf	Visible	UV/ 366 nm	Avec révélateur								Phytocomposés possibles
				Sans révélateur		Réactif de Neu		FeCl ₃	SbCl ₃	AlCl ₃		
				A	B	C	D					
<i>Morinda Lucida</i>	0,97	-	Bleu ^J	-	-	-	-	-	-	Orange	Flavone méthylée, hydroxyflavonol	
	0,63	-	Rouge	-	-	-	-	Jaune ^F	-		Flavonoïde anthocyanes	
	0,30	-	-	-	-	-	-	Bleu	-	Brun	Flavonoïde	
	0,03	-	-	Jaune	Jaune	-	-	-	-	-	Flavonoïde (quercétine)	
<i>Solanum Aethiopicum</i>	0,97	-	Bleu ^C	-	Bleu ^F	-	-	-	-	-	Flavonoïde	
	0,93	-	Bleu ^C	-	-	-	-	-	-	Bleu ^F	Flavone méthylée ou hydroxyflavonol	
	0,87	Jaune	-	-	Orange	-	-	Bleu ^F	-	-	Flavonoïde	
	0,71	-	-	-	-	-	-	Orange	-	Orange	Flavonoïde	
	0,58	-	Jaune ^O	-	Bleu	-	-	-	-	Brun	Flavonoïde (quercétine)	
	0,38	Jaune	Jaune ^O	Jaune	Orange	-	-	Bleu	-	Orange	Flavonoïde xanthonique ; Saponine stéroïdique C	
	0,30	-	-	Jaune ^P	-	-	-	Bleu	-	-	Flavonoïde ; Saponine stéroïdique C	

Couleurs : O : Orange, P: Pâle, J: Jaune, C : Clair, F : Fluorescent

Révélateurs : A : Réactif de Neu, B : FeCl₃, C : SbCl₃, D : AlCl₃

En effet, certains tels que la quercétine, les flavonols et aurones sont jaunes ($R_f=0,52$ et $0,03$ dans *S. aethiopicum*). Les xanthones ($R_f=0,26$ dans *M. lucida*) se révèlent en orange [8]. Les flavones méthylées et hydroxyflavonols sont bleus et pourpres [17]. C'est le cas du spot de $R_f=0,85$ détecté dans *S. aethiopicum* et ceux de $R_f=0,87$ et $0,65$ révélés dans *M. lucida*. La présence des flavonoïdes a été confirmée par les réactifs de Neu, $AlCl_3$ et NH_3 (tableau 5). $AlCl_3$ les révèle dans le visible en jaune et sous UV/366 nm en des colorations allant du bleu au brun [18]. Quant au réactif de Neu, il les colore en jaune, orange et marron dans le visible et en diverses colorations sous UV/366 nm [15] [19]. Concernant NH_3 , il les révèle sous forme de spots fluorescents jaune, vert et bleu sous UV/366 nm [8] [17].

3.2.4. CCM des extraits n-butanoliques

Dans ces extraits, nous avons cherché à identifier les polyphénols et les saponosides. À cet effet, des révélateurs spécifiques aux flavonoïdes (réactif de Neu, $AlCl_3$), aux tanins ($FeCl_3$) et $SbCl_3$ pour détecter les saponosides ont été choisis.

Pour faire migrer ces composés, nous avons utilisé respectivement les gradients : $AcOEt/EtOH/HCOOH/H_2O$, $10:1,1:1,1:3$ (v/v/v/v) et $PhCH_3/CH_3COCH_3/HCOOH$, $3:5:1$ (v/v/v) pour les extraits *S. aethiopicum* et *M. lucida*. À l'aide de la méthodologie d'approche (coloration des spots avant et après utilisation des réactifs) utilisée précédemment pour la détection et l'identification des phytocomposés, nous avons montré l'absence des tanins, la présence de saponines stéroïdiques ($R_f=0,30$ et $0,38$ de *S. aethiopicum*) et la richesse des extraits *S. aethiopicum* et *M. lucida* en flavonoïdes (tableau 6).

3.3. Etude pharmacologique

3.3.1. Effet des concentrations de *M. lucida* sur la pression artérielle du lapin

La pression artérielle (PA) normale dans les conditions expérimentales est de 124 mm Hg. Cette valeur est la pression artérielle sanguine de référence. L'injection toutes les 5 min de doses croissantes comprises entre 1 et 100 mg/Kg de PC induit chez le lapin des hypotensions dose-dépendant qui se traduisent par la diminution de la pression artérielle de l'animal (fig. 1). Cette diminution passe de 4,44 à 32,48 % par rapport à la pression artérielle de référence. Ces hypotensions sont réversibles. À 100 mg/Kg de PC, la mort du lapin a été constatée suite à la chute de sa PA, c'est la dose létale. Les résultats moyens issus de 3 expériences ont permis de tracer la courbe exprimant la variation de la PA du lapin en fonction du logarithme de la dose de *M. lucida* (fig. 2). C'est une sigmoïde qui traduit une hypotension dont le seuil est égal à $1 \pm 0,02$ mg/Kg de

PC et dont le maximum est enregistré à $100 \pm 0,1$ mg/Kg de PC La DE_{50} ainsi déterminée est de 11,22 mg/Kg de PC.

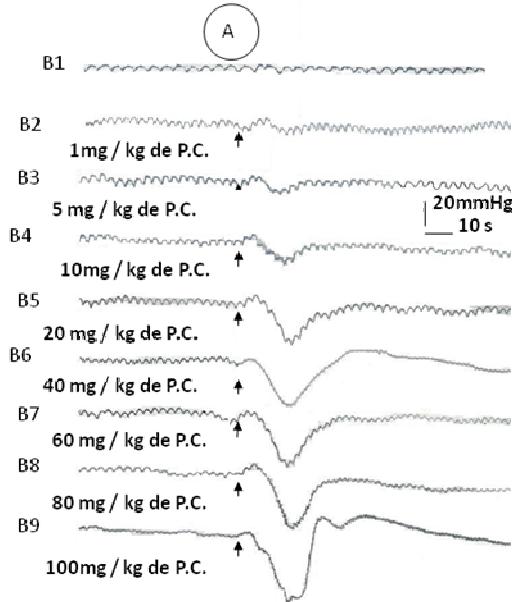


Fig. 1: Effet dose réponse de *M. lucida* sur la pression artérielle de lapin. B1: Enregistrement de la pression artérielle normale, B2: Effet de *M. lucida* à 1 mg/kg de PC, B3: Effet à 5 mg/kg de PC, B4: Effet à 10 mg/kg de PC, B5: Effet à 20 mg/kg de PC, B6: Effet à 40 mg/kg de PC, B7: Effet à 60 mg/kg de PC, B8: Effet à 80 mg/kg de PC et B9: Effet à 100 mg/kg de PC.

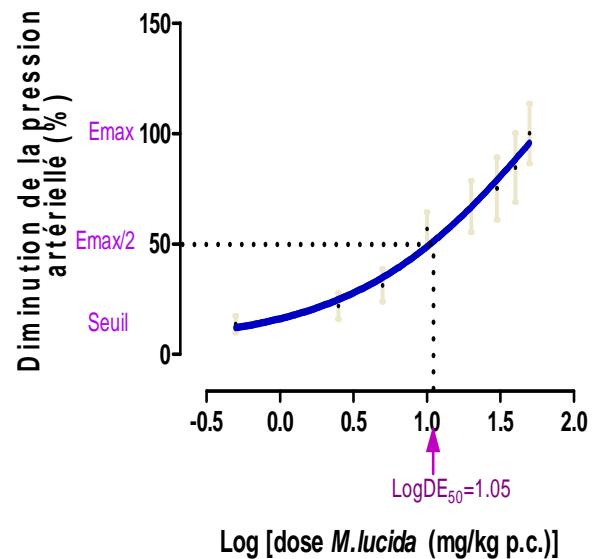


Fig. 2: Diminution de la pression artérielle en fonction de la dose de *M. lucida*. La dose efficace 50% est de 11,22 mg/Kg de PC

3.3.2. Effet des concentrations de *S. aethiopicum* sur la pression artérielle du lapin.

La PA normale dans les conditions expérimentales est de 92 mmHg (pression artérielle sanguine de référence). L'injection toutes les 5 min de doses croissantes comprises entre 1 et 60 mg/Kg de PC induit des hypotensions qui se

traduisent par des chutes de la PA de l'animal (fig. 3). Elles varient de 7,59 à 45,29 % par rapport à la pression artérielle de référence et sont soutenues à partir de 10 mg/kg de PC. L'animal meurt à 60 mg/kg de PC de dose injectée. C'est la dose létale. Nous avons construit la courbe exprimant la diminution de la PA en fonction du Logarithme de la dose de *S. aethiopicum* (fig. 4) à partir de la moyenne obtenue après 3 expériences. C'est une sigmoïde qui a permis de déterminer le seuil de $0,48 \pm 0,05$ mg/kg de PC avec un maximum observé à $60 \pm 0,01$ mg/kg de PC. Sa DE_{50} est de 3,31 mg/kg de PC.

L'étude des effets pharmacologiques des extraits de *Solanum aethiopicum* et de *Morinda lucida* montre qu'ils ont diminué considérablement la PA sanguine du lapin. En effet, pour les différentes doses injectées par la veine saphène, les extraits des 2 plantes ont démontré des effets hypotenseurs dose-dépendant sur la PA sanguine du lapin (diminution de la PA) justifiant ainsi leur utilisation récurrente dans le traitement traditionnel de l'HTAS par les guérisseurs de N'Gramanssabo. Ces effets sont semblables à ceux des extraits de nombreuses autres plantes telles que *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae) [20], *Swartzia madagascariensis* (Caesalpiniaceae) [21] et *Héliotropium indicum* (Boraginaceae) [22] qui baissent aussi l'HTAS. En comparant les DE_{50} de *M. lucida* et *S. aethiopicum*, il ressort que *S. aethiopicum* est la plus efficace car, elle a non seulement la plus faible DE_{50} (3,31 mg/kg de PC), mais également induit des hypotensions soutenues à partir de 10 mg/kg de PC (durée > 300 s) par rapport à celle de ML (11,22 mg/kg de PC). Nous constatons que la DE_{50} de cet extrait est aussi plus faible que celles observées chez *Palisota hirsuta* (13,37 mg/kg de PC) [23] et de celle de la fraction BpF₂ de *Bidens pilosa* (4,10 mg/kg de PC) [24], 2 plantes à vertus antihypertensives avérées. *S. aethiopicum* a donc un réel potentiel hypotenseur. Ses effets sur la PA sont pharmacologiquement semblables à ceux bien connus de l'acétylcholine [25]. Les références tirées de la littérature précitées, ont rapporté que l'activité antihypertensive des plantes étudiées est liée à la présence des phytocomposés cholinomimétiques. L'activité antihypertensive de *S. aethiopicum* serait alors l'action synergique des stérols, flavonoïdes, coumarines, saponines et des tanins. En effet, les saponines et les flavonoïdes, par leur effet diurétique luttent efficacement contre l'HTAS [26]. Aussi produisent-ils du NO qui induit une vasorelaxation endothélium dépendant des artères provoquant ainsi une baisse de la PA [25] [28]. Quant aux coumarines, elles sont vasodilatrices et hypotensives [29] [30]. Les tanins catéchiques exercent une action hypotensive. Les stérols des végétaux réduisent le risque de formation de plaques vasculaires d'athérome [24]. La présence de ces molécules bioactives dans *S. aethiopicum* sont à l'origine des effets hypotenseurs constatés; ce qui expliquerait par conséquent, son large emploi dans le traitement traditionnel de l'HTAS à N'Gramanssabo.

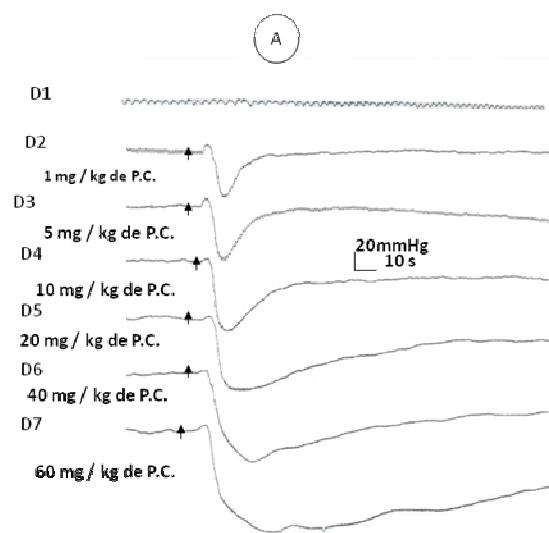


Fig. 3 : Effet dose réponse de *S. aethiopicum* sur la pression artérielle de lapin. D1: Enregistrement de la pression artérielle normale, D2: Effet de *S. aethiopicum* à 1 mg/kg de PC, D3: Effet à 5 mg/kg de PC, D4: Effet à 10 mg/kg de PC, D5: Effet à 20 mg/kg de PC, D6: Effet à 40 mg/kg de PC et D7: Effet à 60 mg/kg de PC.

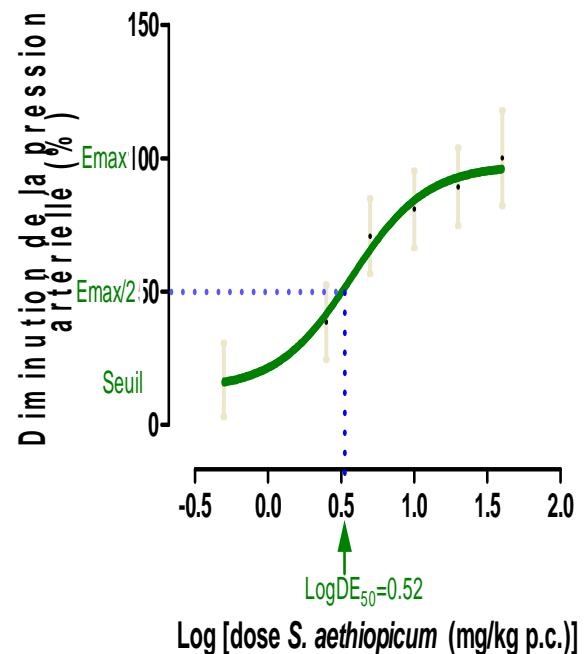


Fig. 4: Diminution de la pression artérielle en fonction de la dose de *S. aethiopicum*. La dose efficace 50% (DE_{50}) de 3,31 mg/Kg de PC.

4. Conclusion

A l'issue de la présente étude qui contribue à la valorisation des plantes médicinales à propriétés anti hypertensives, nos investigations ont porté sur *Solanum*

aethiopicum et *Morinda lucida*. Les résultats obtenus ont permis de détecter, non seulement les phytosubstances bioactives qu'elles contiennent, mais aussi d'évaluer leur effet hypotenseur. En effet, *M. lucida* contient des flavonoïdes, terpènes, stérols, coumarines et des saponines. Quant à *S. aethiopicum*, elle est riche en flavonoïdes terpènes, saponines, stérols, coumarines et en terpènes. Aux fins de vérifier le potentiel curatif des drogues de *M. lucida* et *S. aethiopicum* contre l'HTAS, nous avons fait agir les deux extraits à des doses variées sur la PA de lapin. Il en ressort que les 2 plantes ont des propriétés hypotensives, justifiant ainsi leur utilisation récurrente dans le traitement folklorique de l'HTAS en Côte d'Ivoire. En outre, l'étude comparative de leur DE₅₀ montre que *S. aethiopicum* (DE₅₀ = 3,31 mg/kg de PC) présente une activité antihypertensive 3 fois plus importante que celle de *M. lucida* (DE₅₀ = 11,22 mg/kg de PC).

Remerciements

Les auteurs expriment leurs sincères remerciements au Professeur AKE-ASSI Laurent pour l'identification systématique des espèces végétales retenues.

Références

- [1] C.M. Lawes, H.S. Vander, A. Rodgers. The Lancet, 371 (2008) 1513-1518.
- [2] [2] E.Bertrand. Cardiovascular diseases in the tropics in: Manson's Tropical diseases (19th Ed.) Londres, Manson, 1987.
- [3] P. M. Kearney, M. Whelton, K. Reynolds, P. Muntner P. K. Whelton, J. He. The Lancet, 365(2005) 217-223.
- [4] R. F. Furchtgott, J. V. Zawadzki. Nature, 288 (1980) 373 -376.
- [5] L. Perlemuter, P. Obraska, J. Quevauvillier. Dictionnaire pratique de thérapeutique médicale, 6ème édition, Paris, Masson, (1990) 1608 p.
- [6] C. Konin, M. Adoh, I. Coulibaly, E. Kra moh, M. Safou, R. N'guetta, J. J. N'guessan, J. Koffi. L'observance thérapeutique et ses facteurs chez l'hypertendu, Cardiologie tropicale, Marseille, France, Institut de Cardiologie d'Abidjan, Côte d'Ivoire, 32 (2006) 52 -57.
- [7] J. Bruneton. Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales, Paris, Lavoisier,(1999) 1120 p.
- [8] E.Y. Ladyguina, L.N. Safronitch, V. E. Otriachenkova, I. A. Balandina, N. I. Grinkevitch. Analyse chimique des plantes médicinales. Ed. Moskva, Vischaya Chkola, (1983) 172 p.
- [9] A. Lhuillier. Contribution à l'étude phytochimique de quatres plantes Malgaches : *Agauria salicifolia* Hook. F Ex Olivier, *Agauria polphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences Pharmaceutiques- Université Paul Sabatier- Toulouse III, France, (2007).
- [10] A. H. N'guessan, C. E. D. Dago, J. A. Mamyrbékova-Békro, Y. A. Békro. European Journal of Scientific Research, vol. 66 (4) (2011) 575-585
- [11] N. Dohou, K. Yamni, S. Tahrouch, L. M. Idrissi Hassani, A. Badoc, N. Gmira. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 142 (2003) 61-78.
- [12] A. B. Kadja, J. A. Mamyrbékova-Békro, A. Bénié, B. B. Boua, K. C. N'gaman, Y. A. Békro. Journal of Medicinal Plants Research vol. 5 (27) (2011) 6273-6277
- [13] K. C. C. N'gaman, Y. A. Békro J. A. Mamyrbékova-Békro, A. Bénié, S. Gooré Bi. European Journal of Scientific Research, vol. 36 (2) (2009) 161-171
- [14] B. P. Georgievskii, N. F. Komissarenko, C. E. Dmitrour. Les composés bioactifs des plantes médicinales, Ed. Naouka, 1990.
- [15] M. Dekker. Coumarins: analysis by TLC. Encyclopedia of chromatography, (2002), 1-3.
- [16] E. Merck. Révélateurs pour la chromatographie en couches minces sur papier. Merck. Darmstadt, (1975).
- [17] R. Dawson, D. Elliott, W. Elliott, K. Jones. Dictionnaire de biochimiste, Moscou. Ed. Mir, 1991.
- [18] L. Lagnika. Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg (France), 2005.
- [19] H. Wagner, S. Bladt, E. Zgainski. Plant drug analysis, a thin-layer chromatography atlas. Springer N'Verlag, Berlin Heidelberg, 2nd Ed. New York, 1996.
- [20] K. J-C. Abo, K. J. Aka, E. E. Ehilé, G. F. Guina, F. Traoré. ABM, 5 (2000) 11-20.
- [21] Y.T. Soro, F. Traoré, S. O. Zahoui, P. P. Koné, Rev. Méd. Pham. Afr., 18 (2004) 59-70.
- [22] F. Traore, O. S. Zahoui, S. A. Néné-Bi, P. P. Koné. ABM, 7(2002) 39-49.
- [23] B. B. Boua. Etude phytochimique et du potentiel bioactif sur la dysfonction érectile de quatre plantes médicinales de la flore de Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat, Université d'Abobo-Adjamé, Côte d'Ivoire, (2008).
- [24] L. K. Kouakou, K. J-C. Abo, F. Traoré, E. E. Ehilé. Sciences et Nature, (2008) 29-37.
- [25] T. B. Bolton. Action of acetylcholine on smooth muscle membrane. In: Bulbringe, Ngrading A.F., Jones A.W. & Tomita T., Eds. Smooth muscle. London, GB: Edward Arnold, 1981.
- [26] http://fred.elie.free.fr/effets_benefiques_plantes.htm. Quelques plantes et leurs effets bénéfiques, (2004), consulté le 27 / 08 / 2009.
- [27] S. Beneto, D. Lopez, M. P. Sàiz, S. Buxaderas, J. Sànchez, P. Puig-Parellada, M. T. Mitjavila. J. Pharmacol., 135 (2000) 910-916.
- [28] W. Zenebe, O. Pechànovà, A. R. Andriantsitohain. Physiol. Res., 52 (2003) 425-432.
- [29] A. G. Gonzalez, A. Estevez-braun. Nat. Prod. Report, 14 (1997) 465-475.
- [30] D. Deliorman, L. Calis, H. Ergur. J. Ethnopharmacol, 72, (2000) 323-9.