

Article original

**ETUDE DE LA TOXICITE SUB -CHRONIQUE DU DECOCTE
D'ARGEMONE *MEXICANA* L.**

***SANOGO R., ***DJIMDE A., **GUIROU C., ***DOUMBIA L., **MAIGA A., ***DOUMBO O.,
DIALLO D.

***Département des Affections Parasitaires.

**Département Médecine Traditionnelle INRSP, B.P. 1746 – Bamako ;

*Faculté de Médecine, de Pharmacie, et d'Odontostomatologie – Université de Bamako ;

Auteur correspondant : Prof Rokia Sanogo, Département Médecine Traditionnelle (DMT)

B.P. 1746 Bamako, Mali ; tél. 00223 66 74 65 34

Résumé

Au Mali, les recherches du Département Médecine Traditionnelle (DMT) ont abouti au MALARIAL, qui est un phytomédicament antipaludique moins schizonticide mais plus efficace contre des symptômes associés au *Plasmodium*. Des recherches ultérieures du DMT ont porté sur d'autres plantes antipaludiques dans la perspective de mettre au point un phytomédicament plus efficace que MALARIAL sur la parasitémie. En 2003, des enquêtes ont été menées sur la prise en charge du paludisme par les thérapeutes traditionnels. *Argemone mexicana* L. (*Papaveraceae*) a été retenue comme la plante la plus utilisée à Finkolo (Région de Sikasso, Mali) et la plus souvent associée à un résultat positif dans le traitement du paludisme. Une étude pré-clinique a permis de confirmer l'utilisation de *A. mexicana* contre le paludisme simple. En 2007, une étude clinique comparative entre les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine et le décocté de *A. mexicana* a confirmé l'efficacité de la plante dans le traitement du paludisme simple à niveau familial. Sur la base des ces premiers résultats encourageants, *A. mexicana* est une plante très prometteuse et un bon candidat pour la formulation d'un nouveau phytomédicament contre le paludisme simple. C'est pour cette raison que nous avons étudié la toxicité sub-chronique par voie orale du décocté des parties aériennes de *A. mexicana* chez les rats. Nous avons administré une fois par jour pendant 4 semaines des doses différentes du décocté à trois lots de rats. Avant et pendant toute la durée de l'étude, la prise de poids, la consommation d'eau et de nourriture ont été enregistrées. Nous avons également déterminé les paramètres biochimiques, hématologiques et histologiques des rats à la fin de l'étude. Les premiers résultats confirment l'innocuité du décocté de *Agemone mexicana* à la dose thérapeutique.

Mots clés : Pharmacopée Traditionnelle, *Argemone mexicana*, Toxicité, Paludisme.

Abstract

In Mali, research of Traditional Medicine Department (DMT) led to MALARIAL, which is less schizonticide but more effective against symptoms associated with Plasmodium. Further researches have been focused on other plants used in Mali with a view to developing a phytomedicines more effective than MALARIAL against parasitaemia.

In 2003, investigations were conducted on the management of malaria by traditional healers. *Argemone mexicana* L. (Papaveraceae) was chosen as the most used plant in Finkolo (Sikasso, Mali) and the most often associated with a positive outcome in the treatment of malaria. A pre-clinical study confirmed the use of *A. mexicana* against uncomplicated malaria. In 2007, a comparative clinical study between the artemisinin combined therapies (ACT) and the decoction of *A. mexicana* reaffirmed the effectiveness of the plant in the management of uncomplicated malaria at the household level. According to these encouraging results, *A. mexicana* is a very promising candidate for the formulation of a new antimalarial drug. In this work, we studied the sub-chronic toxicities of the decoction of the aerial parts of *A. mexicana* administrated orally in rats. We administered once daily three doses of the decoction to three groups of rats for 4 weeks. Before and during the study period, weight gain, consumption of food and water were recorded. We also determined the biochemical, haematological and histological parameters of rats at the end of the study. The results confirm the safety of the decoction of *Argemone mexicana* at the therapeutic dose.

Keywords: Traditional Pharmacopoeia, *Argemone mexicana*, sub-chronic toxicities, Malaria.

I. INTRODUCTION

Les plantes médicinales occupent une place importante dans le traitement de première intention des fièvres palustres. Au Mali, des recherches du Département Médecine Traditionnelle (DMT) ont abouti au MALARIAL, qui est un phytomédicament moins schizonticide mais plus efficace contre des symptômes associés au *Plasmodium* (Diallo et al, 2004).

Dans la perspective de mettre au point un phytomédicament plus efficace que MALARIAL sur la parasitémie, des résultats des enquêtes ethnobotaniques ont permis de sélectionner *Argemone mexicana* L. (Papaveraceae). *A. mexicana* est une des plantes utilisée avec succès dans le traitement du paludisme dans l'aire de santé de Finkolo (Région de Sikasso) (Diallo et al, 2007).

Les différents extraits des parties aériennes de *A. mexicana* testés *in vitro* ont présenté des concentrations inhibitrices 50 % (IC₅₀) comprises entre 1,00 et 6,22 µg/ml sur des souches de *Plasmodium* résistantes à la chloroquine (Diallo et al, 2007). Une étude pré-clinique en milieu rural a permis de confirmer l'évidence ethno-médicale de l'utilisation de *A. mexicana* contre le paludisme (Willcox et al, 2007). En 2007, une étude clinique comparative entre les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine et le décocté de *A. mexicana* a réaffirmé l'efficacité du décocté de la plante

dans la prise en charge du paludisme simple au niveau des ménages (Graz et al, 2009).

Sur la base de ces premiers résultats encourageants, *A. mexicana* est une plante très prometteuse et un bon candidat pour la formulation d'un nouveau phytomédicament contre le paludisme simple. L'objectif de ce travail était d'étudier la toxicité sub-chronique par voie orale du décocté de feuilles de *A. mexicana* chez les rats.

II. MATERIELS ET METHODES

2.1. Matériel végétal.

L'étude a été réalisée avec le "Sumafura" de Mr Tiemogo Bengaly, tradipraticien de santé de Missidougou. "Sumafura" est un phytomédicament à base de feuilles de *Argemone mexicana* et se présente sous la forme d'une confection de 21 sachets de 30 g de poudre chacun.

2.2. Préparation du décocté.

La préparation a été faite selon la méthode du tradipraticien de santé : 30 g de poudre ont été mises dans 500 ml d'eau distillée et l'ensemble a été porté à ébullition pendant 30 mn. Après refroidissement, le décocté a été filtré sur compresse, concentré puis lyophilisé. Le lyophilisat a été pesé et recueilli dans un flacon bien propre. Nous avons répété l'opération trois fois.

2.3. Matériel animal

Pour la toxicité aiguë, nous avons travaillé sur 24 souris blanches, albinos, de poids compris entre 25 et 30 g. Quatre lots de 6 souris mâles et femelles ont été constitués.

Pour la toxicité sub-chronique, 24 rats blancs de poids compris entre 165 et 312 g ont été utilisés. Les rats ont été repartis en 4 lots de 6 souris comportant un nombre égal de mâles et de femelles.

- **Phase d'observation**

Après l'acclimatation, avant l'administration de l'extrait, nous avons procédé à la prise de poids quotidienne des animaux pendant un mois afin de vérifier d'éventuelles variations pendant le traitement avec l'extrait.

2.4. Evaluation de la toxicité

- **Toxicité aiguë : détermination de la dose létale 50 (DL₅₀) par voie orale.**

Après un jeun de 18h, des lots de six souris ont été gavés avec l'extrait lyophilisé de *Argemone mexicana* aux doses de 1000, 2000 et 3000 mg/kg. De l'eau distillée a été administrée au lot témoin. Les animaux ont été mis en observation pendant les deux premières heures, pour noter les morts immédiates. Les animaux ont été mis en observation, chaque jour pendant 14 jours.

- **Toxicité sub-chronique**

Solution à administrer : Une solution du lyophilisat à la concentration de 100 mg / ml a été préparée. Les différents lots d'animaux ont été traités :

- ✓ Lot 1 : Témoin : Eau distillée 6 ml/kg;
- ✓ Lot 2 : 100 mg/kg de lyophilisat du décocté de *A. mexicana*.
- ✓ Lot 3 : 300 mg/kg,
- ✓ Lot 4 : 1500 mg/kg,

Après un jeun de 12 h, la solution a été administrée aux différentes doses par gavage, chaque matin, 5 jours sur 7 pendant 4 semaines. Les animaux ont été observés après administration et à la fin de chaque journée. Les animaux ont été également observés les samedis.

A 2 et à 4 semaines de traitement, des rats ont été sacrifiés, le sang a été prélevé pour des analyses hématologiques et biochimiques. Les organes (foie, rate, reins) ont été prélevés, pesés et ont servi pour l'analyse histopathologique.

2.5. Effet de l'extrait sur la diurèse de base

Nous avons également vérifié l'effet du décocté sur la diurèse de base en situation de surcharge hydrique.

- ✓ Le lot témoin a reçu de l'eau distillée à la dose de 50 ml/kg

- ✓ Le lot traité a reçu le décocté extemporané à la dose de 50 ml/kg.

Immédiatement après traitement, les animaux ont été mis dans la cage métabolique pendant 4 h. Les volumes d'urines ont été mesurés. Les paramètres suivants de l'urine ont été analysés avec des bandelettes Cromatest Linear URS-10 : densité, pH, présence de glucose et de sang.

20.6. Expression des résultats

La réaction différente des animaux selon le sexe, n'a pas permis de faire une analyse statistique des données par lot. Les résultats ont été donc exprimés en moyennes de valeurs obtenues sur 3 rats mâles et sur 3 rats femelles.

III. RESULTATS

3.1. Rendement moyen de l'extraction. Le rendement moyen est de 23,33 %. La décoction dégage une odeur caractéristique qui rappelle celle du tabac. Le lyophilisat a une couleur marron et de saveur amère.

3.2. Paramètres de la phase d'observation.

Le changement de poids des animaux pendant la phase d'observation après l'acclimatation, est mentionné dans le **tableau I**

3.2. Toxicité

- **Toxicité aiguë**

Au bout de 14 jours, aucune mort n'a été enregistrée chez les différents lots traités par le décocté de *Argemone mexicana*. La DL₅₀ est donc supérieure 3000 mg/kg, donc faiblement toxique (classe III de l'OMS).

- **Toxicité sub-chronique**

Dans l'ensemble les femelles ont mieux supporté le décocté que les mâles, car il y a eu 2 rats mâles morts contre une femelle pour la dose de 1500 mg/kg, au début du test, probablement à cause d'indigestion.

a) Effet du décocté de *Argemone mexicana* sur le poids corporel et les organes.

Au bout de 2 semaines de traitement avec le décocté de *A. mexicana*, il n'y a pas eu de différence significative des différents paramètres entre les rats du lot témoin et les trois lots traités avec le décocté. La variation de poids corporel des animaux après 4 semaines de traitement avec le décocté de l'extrait de *A. mexicana*, est reporté dans le **tableau II**. Le **tableau III** reporte le poids des organes (foie, rate et reins), prélevés après administration du décocté de *A. mexicana* pendant 4 semaines. Il n'existe pas de différences entre le lot témoin et les groupes traités.

b) Effet du décocté de *Argemone mexicana* sur les paramètres biochimiques et hématologiques.

L'administration du décocté de *A. mexicana* pendant 2 et 4 semaines ne provoque de variations significatives des paramètres biochimiques et hématologiques chez le lot témoin et les lots traités. Les valeurs de ces paramètres ont été reportées dans le **tableau IV**. Les valeurs des transaminases sont élevées après administration de la dose de 1500 mg/kg. Aucune anémie n'a été observée chez les rats au bout de 4 semaines.

c) Effet du décocté de *Argemone mexicana* sur les paramètres histologiques.

Un certain nombre de modifications histopathologiques ont été observées au niveau du foie et des reins des rats

traités avec le décocté d'*Argemone mexicana* pendant 4 semaines.

Chez les rats mâles, les trois doses de l'extrait ont provoqué une hépatite et une hépatite congestive au niveau du foie et une néphrite et néphrite congestive au niveau des reins.

Chez les rats femelles, le foie est resté normal à la dose de 100 mg/kg. Les doses de 300 mg/kg et de 1500 mg/kg ont provoqué respectivement une hépatite congestive et une hépatite subaiguë congestive. Au niveau des reins, les trois doses de l'extrait ont provoqué une néphrite congestive

Tableau I : Variations de poids pendant la phase d'observation avant administration de l'extrait.

Lots/doses	Variations de poids corporel en g	
	rats mâles	rats femelles
Lot 1	+ 15,50	+ 51,50
Lot 2	+ 42,96	+ 27,55
Lot 3	+ 35, 50	+ 30,34
Lot 4	+42,53	+15,96

Valeurs exprimées en moyennes de 3 rats mâles et de 3 rats femelles.

3.3. Effet de l'extrait sur la diurèse de base. Le décocté extemporané de *Argemone mexicana* a provoqué une alcalinisation des urines et une baisse du

volume des urines. Les autres paramètres analysés n'ont pas varié.

Tableau II : Variations de poids après 4 semaines de traitement avec le décocté de *A. mexicana*.

Lots/doses	Variations de poids corporel en g	
	rats mâles	rats femelles
Lot 1 témoin	- 21,50	- 15,04
Lot 2 (100 mg/kg)	-72,60	+ 04,74
Lot 3 (300 mg/kg)	- 34,42	+ 00,51
Lot 4 (1500 mg/kg)	+0,29	-08,28

Valeurs exprimées en moyennes de 3 rats mâles et de 3 rats femelles

IV. DISCUSSION

Le rendement moyen de l'extraction est de 23%, montre que l'eau extrait un grand nombre de constituants de feuilles de *Argemone mexicana* (Sidibé, 2006).

Aucun signe particulier de toxicité aiguë n'a été observé chez les souris pendant les 14 jours (Sidibé, 2006). La DL₅₀ a été supérieure à 3000 mg/kg faiblement toxique, ce qui présage une sécurité d'emploi du décocté de *Argemone mexicana*. Pour la toxicité sub-chronique, à partir des résultats obtenus nous avons pu faire un certain nombre de constats :

Pour le poids corporel, pendant la phase d'observation de 4 semaines, avant l'administration de l'extrait, nous avons constaté un gain de poids chez tous les rats. Nous avons, par contre constaté une perte de poids chez les rats traités avec l'extrait de *Argemone mexicana* chaque jour pendant 4 semaines (Guirou, 2008).

Lors de l'étude de la toxicité sub-chronique avec l'administration quotidienne du décocté aux différentes doses de *Argemone mexicana*, nous avons constaté en général une baisse de poids chez les rats mâles et femelles au bout des quatre semaines. Nous avons cependant noté une augmentation de leurs consommations de nourritures et d'eau par semaine (Guirou, 2008).

Pour les poids des organes, il n'a pas été enregistré de différence significative entre le lot témoin et les lots traités. Les résultats des analyses biochimiques réalisées ont montré une élévation du taux de transaminases chez les rats traités avec la plus forte dose à la fin des 4 semaines. Les transaminases sont des enzymes ayant une activité métabolique importante à l'intérieur des cellules. Leur augmentation reflète une lésion cellulaire ; en particulier au niveau hépatique, cardiaque, rénal ou musculaire. Ces élévations de transaminases ont été confirmées par les conclusions des analyses histopathologiques qui ont montré chez les mâles (1500 mg/kg) une hépatite congestive (inflammation des cellules hépatiques avec présence de sang) et une néphrite congestive (inflammation des cellules rénales avec présence de sang). A la dose thérapeutique (300 mg/kg) nous avons seulement constaté une hépatite et une néphrite chez les rats. Chez le lot des femelles traitées avec la dose de 100 mg/kg, le foie était normal ; les femelles des autres lots traités présentaient une hépatite congestive ou sub-aiguë et une néphrite congestive. Des études de toxicité sur le décocté de *Argemone mexicana* ont montré que

Tableau III : Poids des organes (foie, rate et reins), prélevés après administration du décocté de *A. mexicana* pendant quatre semaines

Lots/Doses	Poids en gramme			
	Corporel	Foie	Rate	Reins
Lot 1 témoin	M 220,47	5,57	0,68	0,50
	F 186,50	4,29	0,50	0,48
Lot 2 (100 mg/kg)	M 327,18	8,05	0,77	0,81
	F 180,55	3,94	0,59	0,41
Lot 3 (300 mg/kg)	M 181,31	5,03	0,76	0,50
	F 174,03	4,20	0,44	0,38
Lot 4 (1500 mg/kg)	M 286,41	6,80	0,74	0,60
	F 188,12	4,80	0,58	0,40

M = mâle ; F = femelle. Valeurs exprimées en moyennes de 3 rats mâles et de 3 rats femelles

Tableau IV : Valeurs des paramètres biochimiques et hématologiques des rats témoins et traités après administration du décocté d'*Argemone mexicana* pendant quatre semaines.

Paramètres	Lot témoin		100mg/kg		300mg/kg		1500mg/kg	
	M	F	M	F	M	F	M	F
AST (U/L)	230	240	292	200	231	281	293	311
ALT (U/L)	58	63	64	53	67	54	110	80
Créatinine(mmol/l)	72,19	71,72	70,54	82,99	66,22	92,84	63,03	80,29

Glycémie(mmol/l)	5,39	5,40	5,63	4,91	5,13	6,21	4,40	4,31
GB (10 ² /mm ³)	54	51	52	40	50	41	41	54
GR (10 ⁶ /mm ³)	7,66	7,87	8,87	8,02	7,89	7,97	8,28	7,37
HGB (g/dl)	15,1	15,6	15,6	15,0	15,3	15,7	14,9	15,7
HCT (%)	43,9	48,9	48,9	47,2	42,8	47,2	45,5	46,7

M = mâle ; F = femelle. Valeurs exprimées en moyennes de 3 rats mâles et de 3 rats femelles

ces hépatites et néphrites sont réversibles à l'arrêt du traitement (Guissou, 2007). En outre, il faut signaler que le traitement antipaludique est administré pour une courte période. A la fin des 4 semaines, nous avons constaté une augmentation de globules rouges chez les rats traités avec le décocté d'*Argemone mexicana*, ce qui serait bénéfique dans la prévention de l'anémie souvent associée à la présence du plasmodium chez les patients. Les autres paramètres biochimiques et hématologiques n'ont pas montré de différence entre le lot témoin et les lots traités avec le décocté. L'effet du décocté sur la diurèse normale de rat a montré une diminution du volume d'urine et une alcalinisation d'urine par rapport au rat témoin. Des études supplémentaires seraient nécessaires pour confirmer l'effet diurétique ou anti-diurétique du décocté d'*Argemone mexicana*.

Des études supplémentaires sont nécessaires sur des lots homogènes de rats mâles et femelles afin de permettre l'analyse statistique des résultats.

V. CONCLUSION

Cette étude a apporté une contribution pour une meilleure connaissance de la toxicité sub-chronique de *Argemone mexicana* utilisée pour le traitement du paludisme simple au Mali. L'ensemble des résultats obtenus est en faveur d'une sécurité d'emploi du décocté de *Argemone mexicana* à la dose thérapeutique pour une courte durée, dans la prise en charge du paludisme.

Le décocté de feuilles de *Argemone mexicana* est un bon candidat pour la mise au point d'un sirop antipaludique, actuellement en cours au niveau du DMT.

VII. REFERENCES

Diallo D., Maiga A., Diakité C., Willcox M. (2004). Malaria-5, Development of an antimalarial phytomedicine in Mali in Traditional Herbal Medicines for Modern times: Traditional medicinal plants and Malaria edited by Merlin Willcox, Gerard Bodeker and Philippe Rasoanaivo, CRC PRESS, London, pp. 117-130.

Diallo D., Diakité C., Mounkoro PP., Sangaré D., Graz B., Falquet J., Giani S. (2007). La prise en charge du paludisme par les thérapeutes traditionnels dans les

aires de santé de Kendié (Bandiagara) et de Finkolo (Sikasso) au Mali. *Mali Médical*, 22 (4) : 1-8.

Guirou C. (2008). Etude de la toxicité sub - chronique de *Argemone mexicana* utilisée dans le traitement traditionnelle du paludisme. Thèse de Pharmacie, FMPOS, Université de Bamako, 82 p.

Guissou IP. (2007). Evaluation de la toxicité et du pouvoir irritant d'un décocté aqueux de feuilles de *Argemone mexicana* (Papaveraceae), produit du DMT, sis Bamako, Mali, Rapport d'expertise toxicologique de l'Institut de Recherche des Sciences de la Santé, 7 p.

Graz B., Willcox ML., Diakite C., Falquet J., Dackuo F., Sidibe O., Giani S., Diallo D. (2009). *Argemone mexicana* decoction versus artesunate-amodiaquine for the management of malaria in Mali: policy and public-health implications. *Trans R Soc Trop Med Hyg. in press.*

Sidibé O. (2006). Etude de *Argemone mexicana* dans le traitement traditionnel du paludisme non compliqué dans le village de Missidougou (Sikasso). Thèse de Pharmacie, FMPOS, Université de Bamako. 128 p.

Willcox ML, Graz B, Falquet J, Sidibé O, Forster M, Diallo D. (2007). *Argemone mexicana* decoction for the treatment of uncomplicated falciparum malaria, *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 101(12) : 1190-1198.

REMERCIEMENTS :

Ce travail a été effectué dans le cadre du projet financé par le Rectorat de l'Université de Bamako.