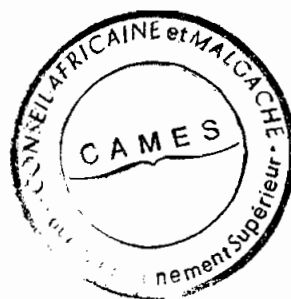


THÈSE



Présentée pour l'obtention du

DIPLOME DE DOCTEUR DE TROISIEME CYCLE

à

LA FACULTE DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITE FRANÇOIS RABELAIS
TOURS

Spécialité

PHARMACOCHEMIE

PAR

Kokou S. YOYO

CONSEIL AFRICAINE ET MALGACHE
POUR L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
C. A. M. E. S. — QUAGADOUGOU
Arrivée ... 10 OCT. 1995 ...
Enregistré sous n° ... # 0.18.1.3

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 10 DECEMBRE 1982

LES ALCALOÏDES QUINOLIZIDIINIQUES DES GRAINES DES LUPINS : CONTRIBUTION A UNE ETUDE PHARMACOLOGIQUE ET TOXICOLOGIQUE COMPAREE DE LA SPARTEINE ET DE LA LUPANINE

G. NARCISSE	Professeur à la Faculté de Pharmacie de TOURS	Président
M. BRETEAU	Professeur à la Faculté de Médecine de TOURS	
J. C. CHENIEUX	Professeur à la Faculté de Pharmacie de TOURS	
J. L. FRESLON	Assistant à la Faculté de Médecine de PARIS	

UNIVERSITE DE TOURS
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNÉE UNIVERSITAIRE 1981-1982

DOYEN : PR. JP. CHIRON
ASSESEUR : PR. M. LÉCUREUIL
SECRÉTAIRE : MME HATTON

PROFESSEURS

Mme BAUMERT-PARIS Joëlle	Pharmacie Galénique et Industrielle
M. CAVE Guy	Pharmacie Galénique et Industrielle
M. CEOLIN René	Chimie Générale et Minérale
M. CHENIEUX Jean-Claude	Botanique et Biologie Cellulaire
M. CHIRON Jean-Paul	Bactériologie, Virologie, Immunologie
M. CLANET Frank	Chimie Minérale et Hydrologie
M. COMBESCOT Charles	Parasitologie
M. CROUZAT-REYNES Gérard	Biophysique et Biomathématiques
M. DURAND Marc	Pharmacognosie
Mme FOUSSARD-BLANPIN Odette	Pharmacodynamie
M. LACROIX Roger	Chimie Thérapeutique
M. LAMY Jean	Biochimie
M. LECUREUIL Michel	Biophysique et Biomathématiques
M. LEVILLAIN Pierre	Chimie Analytique et Bromatologie
M. NARCISSE Guy	Hygiène et Toxicologie
M. NIVIERE Pierre	Chimie Organique
M. ROUGEREAU André	Physiologie
M. TRIVIN François	Biochimie

MAITRES-ASSISTANTS

M. BARIN Francis	Bactériologie, Virologie, Immunologie
Mme BARRABES Annie	Parasitologie
M. BRETAUDEAU Jean	Pharmacodynamie
M. DELONCLE Roger	Chimie Générale et Minérale
Mlle GIMONET Maryvonne	Pharmacie Galénique et Industrielle

Mme LACROIX Josyane	Chimie Thérapeutique
Mme LECUREUIL Nicole	Chimie Organique
M. LEJEUNE Bernard	Biophysique et Biomathématiques
Mlle LEVEAU Anne-Marie	Pharmacognosie
Mlle MARIAUD Michèle	Chimie Analytique et Bromatologie
M. PAUBEL Jean-Pierre	Chimie Organique
Mme POISSON Denise	Pharmacodynamie
Mme RAYNAUD Bernadette	Bactériologie, Virologie, Immunologie
Mme REYNOUARD Françoise	Parasitologie
Mme TROCHET Jeanine	Biophysique et Biomathématiques
X...	

CHEF DE TRAVAUX

Mlle BLUSSON Josette	Chimie Générale et Minérale
----------------------	-----------------------------

ASSISTANTS

Mme COMBESCOT Catherine	Parasitologie
M. CRECHE Joël	Botanique
M. DUBOIS Pierre	Chimie Analytique
Mme DUCOS-FONFREDE Simone	Hygiène, Hydrologie
M. ERNOUF Dominique	Toxicologie
Mme FONTAINE Jocelyne	Pharmacie Galénique et Industrielle
M. GORE Jacques	Physiologie
M. HOINARD Claude	Biophysique et Biomathématiques
M. MERILLON Jean-Michel	Botanique
Mme METMAN Claudie	Biochimie
Mme MONTAGU Monique	Chimie Analytique et Bromatologie
Mlle PORTES Denise	Biophysique et Biomathématiques
M. POTHIER Jacques	Pharmacognosie
Mme RENAUD Mauricette	Bactériologie, Virologie, Immunologie

*A mes parents, à ma famille,
en signe de reconnaissance et d'amour,*

*A mes frères et soeurs,
en témoignage de mon affection,*

*A tous mes amis
en gage de mon amitié,*

Je dédie cette thèse.

A notre Président de Jury

Monsieur le Professeur G. NARCISSE

Je sais ce que je vous dois dans la réalisation de ce travail. Non seulement vous avez mis à ma disposition, le matériel, le personnel compétent de votre laboratoire, non seulement vous m'avez guidé, conseillé, critiqué avec beaucoup de patience, mais aussi vous acceptez de le juger.

Soyez assuré de ma profonde gratitude et de ma respectueuse admiration.

A mon maître

Monsieur le Professeur M. BRETEAU

Cinq années passées dans votre laboratoire ont été pour moi une grande source d'enrichissement intellectuel. S'étant donné volontiers comme tâche de me former, vous n'avez ménagé aucun effort, financier en particulier, que ce soit pour mes cours à l'Institut de Pharmacologie à Paris ou pour les frais occasionnés par le présent travail.

Je reconnais votre esprit de rigueur scientifique et de critique constructif, aussi bien dans la conception de ce travail de thèse que dans les multiples expertises toxicologiques médico-légales que j'ai effectuées sous votre conduite et responsabilité. Vous êtes parvenu, non sans quelques difficultés, à m'inculquer cet esprit critique des résultats et surtout la notion de responsabilité dans ces affaires judiciaires qui vous ont été confiées.

Soyez assuré, cher Maître, de ma totale gratitude et de mon éternel attachement.

A notre juge

Monsieur le Professeur J.C. CHÉNIEUX

*Vous m'avez inspiré le sujet du présent travail.
En acceptant de le juger, vous exprimez tout l'intérêt que
vous lui avez porté.*

Soyez-en remercié.

A notre juge

Monsieur le Docteur J.L. FRESLON

Vous avez accepté volontiers de juger le présent travail, me témoignant toute votre sympathie.

Soyez-en remercié et assuré de mon amitié.

Je voudrais aussi exprimer tous mes remerciements, toutes mes amitiés, et mon au revoir -et non pas un adieu- à beaucoup de personnes qui, d'une manière ou d'une autre, m'ont aidé dans la réalisation technique de ce travail ou m'ont exprimé leur sympathie :

- Mon ami, Docteur F. HUGUET

Tu m'as franchement et avec désintéressement, beaucoup aidé, tant du point de vue technique que moral.

Je compte sincèrement sur cette amitié que je souhaite durable.

- Mon ami Y. FAVRO

Je te remercie sincèrement pour toute l'aide technique que tu m'as portée tout au long de la réalisation de ce travail.

Sois assuré de mon amitié.

- Monsieur J. POTHIER
Pharmacien-Assistant de Matière Médicale

Tu as bien voulu assurer l'extraction de la lupanine, ce que tu as fait avec beaucoup de gentillesse.

Sois assuré de mon amitié.

- Monsieur le Docteur PERROTIN

Pour toute l'aide que vous m'avez apportée dans l'étude de la toxicité cardiaque.

- Tout le personnel du Laboratoire d'Hygiène-Toxicologie de la Faculté de Pharmacie de TOURS, pour leur aide technique et leur soutien moral, en particulier F. BAKRI-LOGEAIS, C. DOREAU, A. ROUSSEAU, M.P. HUGUENY.

- Tout le personnel du Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie Cliniques de la Faculté de Médecine de TOURS, mon laboratoire au sein duquel j'ai eu plaisir à travailler dans une ambiance agréable.

Que chacun trouve dans ce travail le signe de mon amitié.

A Madame D. BOUTIN

Pour l'aide efficace et gentille que tu m'as apporté dans la présentation de ce travail.

En témoignage de mon amitié et de mes remerciements.

A Madame F. WOJCIEKOWSKI

Pour le dynamisme avec lequel tu as participé à la présentation de ce travail.

En témoignage de ma reconnaissance.

Aux Laboratoires SPECIA

et en particulier à Monsieur P. PAPAZOGLOU

pour l'aide qu'ils nous ont apportée dans la finition de ce travail.

Tous nos remerciements

PLAN

Pages

INTRODUCTION

1

1ÈRE PARTIE : DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LES ALCALOÏDES DES LUPINS

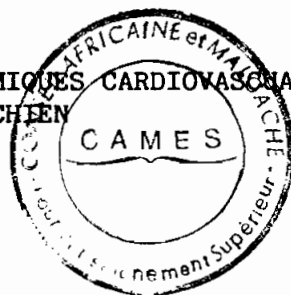
5

1	STRUCTURE ET PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES ALCALOIDES DES LUPINS	6
1-1	STRUCTURE	7
1-2	PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES	10
1-3	RELATIONS PHYSICO-CHIMIQUES ENTRE LA SPARTEINE ET LA LUPANINE	10
2	PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES ET TOXICOLOGIQUES DES ALCALOIDES DES LUPINS	12
2-1	HISTORIQUE	13
2-2	GENERALITES	14
2-3	LA SPARTEINE	16
2-4	LA LUPANINE	21

2ÈME PARTIE : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

22

3	TOXICOLOGIE	23
3-1	CONDITIONS GENERALES DES ESSAIS	24
3-2	ESSAIS PRELIMINAIRES	24
3-3	DETERMINATION DE LA DL ₅₀	35
3-4	ETUDE DE LA TOXICITE CARDIAQUE CHEZ LE COBAYE	41
3-5	CONCLUSIONS GENERALES A L'ETUDE TOXICOLOGIQUE	45
4	ETUDE DES EFFETS SYSTEMIQUES CARDIOVASCULAIRES ET RESPIRATOIRES CHEZ LE CHIEN	46
4-1	MATERIEL ET METHODE	47
4-2	RESULTATS PAR ANIMAL	48
4-3	RESULTATS GLOBAUX	50
4-4	DISCUSSION	55
4-5	CONCLUSIONS	56
5	ETUDE DES EFFETS SUR LA REACTIVITE DU SYSTEME NERVEUX AUTONOME CHEZ LE CHAT	58
5-1	PRINCIPE GENERAL	59
5-2	METHODOLOGIE	59



5-3	PROTOCOLE EXPERIMENTAL	60
5-4	RESULTATS	60
5-5	CONCLUSIONS GENERALES	86
6	ETUDE COMPAREE DES PROPRIETES GANGLIOPLEGIQUES CHEZ LE CHIEN	88
6-1	MATERIEL ET METHODE	89
6-2	STIMULATION DU NERF PNEUMOGASTRIQUE	90
6-3	SUPPRESSION DE L'ACTION NICOTINIQUE EXCITANTE	96
6-4	OCCLUSION DES CAROTIDES	99
6-5	CONCLUSIONS GENERALES	102
7	RECHERCHE D'UNE AFFINITE IN VITRO POUR LES RECEPTEURS CHOLINERGIQUES	103
7-1	PRINCIPE GENERAL ET DEFINITIONS	104
7-2	ETUDE SUR LES RECEPTEURS MUSCARINIQUES	106
7-3	ETUDE SUR LES RECEPTEURS NICOTINIQUES	107
7-4	DISCUSSION ET CONCLUSION	112
8	ETUDE DES EFFETS CENTRAUX : PROFIL PSYCHOPHARMACOLOGIQUE CHEZ LA SOURIS	115
8-1	PRINCIPE GENERAL	116
8-2	CONDITIONS GENERALES D'ETUDE	116
8-3	ACTIONS SUR LA TEMPERATURE RECTALE	116
8-4	INTERACTIONS AVEC L'AMPHETAMINE	117
8-5	INTERACTIONS AVEC LE PENTOBARBITAL	119
8-6	INTERACTIONS AVEC L'OXOTREMORINE	119
8-7	DISCUSSIONS ET CONCLUSIONS	121
9	ETUDE DES ACTIONS SUR LES FIBRES LISSES	125
9-1	ETUDE SUR LES FIBRES LISSES INTESTINALES	126
9-2	ETUDE SUR LES FIBRES LISSES UTERINES	132
9-3	CONCLUSIONS	134
	<u>CONCLUSION</u>	135
	<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	139
	<u>ANNEXES</u>	148
	<u>TABLE DES MATIERES</u>	159

ERRATA

<u>Pages</u>	<u>Au lieu de</u>	<u>Lire</u>
3	molécule ... "proche parenté"	"proche parente"
15	... si la diminution de la nourriture	diminution de la vitesse de croissance
16	... de certaines variétés	certaines espèces de Lupin
20	... Les travaux de	Des travaux
70	(VALETTE, 1964)	(VALETTE, 1963)
130	Figure 36 : duodénum isolé	Duodénum isolé de Rat
131	Figure 38 : Duodénum isolé de Rat : Intercation	Interaction

INTRODUCTION

La réputation du Lupin comme plante alimentaire est très ancienne. Depuis l'Amérique du Sud, sa culture s'est répandue en Europe Centrale et autour du Bassin méditerranéen, en U.R.S.S., en Allemagne Fédérale.

En France, des essais de culture de Lupins blancs sont effectués sous l'égide de l'Institut Technique de Cultures Fouragères. Depuis 1979, des séances d'études ont été consacrées au Lupin, en particulier :

- une séance d'études sur les divers programmes menés dans différents pays d'Europe, tenue à l'Institut de Recherches Agronomiques de Dijon les 28 et 29 Novembre 1979 sous l'égide de la Communauté Européenne.

- un Colloque International sur le Lupin, tenu au Pérou du 14 au 21 Avril 1980.

- la poursuite en France de l'effort de l'ex-D.G.R.S.T (Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique), actuellement M.R.I (Ministère de la Recherche et de l'Industrie) sur la valorisation des Lupins blancs.

En fait, le grand intérêt qu'on lui accorde se justifie par les potentialités alimentaires azotées et lipidiques de ses graines (WIEWIOROVSKI et SKOLIK, 1959 - HOVE, 1974 - POMPEI et LUCISANO, 1976 - JIMENEZ et Coll., 1978 - GUILLAUME et Coll., 1979) :

- . d'abord son rendement élevé qui va par hectare de 30 à 40 quintaux de graines (FRANCE AGRICOLE, 1980) à 50 quintaux (GUILLAUME, 1978) allié

- . à sa teneur en protéines allant de 28 à 48 %. Certaines espèces (L. albus ; L. luteus ; L. mutabilis) ont un taux supérieur à celui du soja qui est de 35 % (ORTIZ et Coll., 1975)

- . et à sa teneur en huile qui peut atteindre 25 % pour L. mutabilis (TELLO, 1976) et 20 % pour L. albus (GUILLAUME, 1980). Les huiles de ces 2 espèces contiennent un pourcentage en acide oléique et en acide linoléique qui les rapproche de l'huile d'arachide. LUCAS (1979), rapportant les travaux de HANSEN (1976) mentionne les taux suivants :

- chez L. albus : 50 % d'acide oléique (C 18 : 1) et 17,8 % d'acide linoléique (C 18 : 2)

- chez L. mutabilis : respectivement 37,7 % et 40 %

- pour l'huile d'arachide, taux compris respectivement entre 40 et 63 % et 19 et 35 % (POMPEI et LUCISANO, 1976).

- . Enfin sa teneur en sels minéraux est variable suivant les espèces et comprennent du calcium, du magnésium, du phosphore, du potassium et du sodium

(HILL, 1977). Le Lupin est un aliment riche en manganèse dont le taux y est jusqu'à la limite de la toxicité : 1735 p.p.m par rapport à la masse sèche (LACASSAGNE, 1979).

Toutes ces considérations, en plus de son adaptation au climat, sont à l'origine des efforts actuels en vue de son introduction en alimentation animale, voire même humaine. Mais son utilisation rencontre des difficultés en raison de la présence d'alcaloïdes contenus dans les graines. C'est pourquoi différentes techniques ont été mises au point, permettant de contrôler la teneur en alcaloïdes soit au cours des opérations de sélections de variétés dites "douces", à faible teneur en alcaloïdes (GLADSTONES, 1970 - HILL, 1977), soit après les essais de "désamérisation" dans le but d'extraire les alcaloïdes de la poudre des graines de Lupin avant son utilisation (LUCAS, 1979).

Dans un travail précédent (YOVO, 1981), nous avons mis au point une méthode de séparation et de dosage des deux principaux alcaloïdes, la spartéine et la lupanine, contenus dans les variétés (L. mutabilis et L. albus L) exploitables en France. En effet, les dosages d'alcaloïdes effectués sur ces deux variétés par chromatographie en phase gazeuse ont donné (YOVO, 1981) :

- pour la variété L. mutabilis LM 13 $0,87 \pm 0,13$ g % pour la spartéine et $2,60 \pm 0,20$ g % pour la lupanine.
- pour la variété L. albus Kalina $0,002 \pm 0,001$ g % pour la spartéine et $0,010 \pm 0,004$ g % pour la lupanine.

Si les propriétés pharmacologiques et toxicologiques de la spartéine sont connues depuis fort longtemps -puisqu'utilisée en thérapeutique- on dispose de peu de données contradictoires et éparées sur celles de la lupanine.

Notre travail, sans avoir l'ambition de proposer la lupanine comme médicament a pour but de rassembler quelques informations sur cette molécule, proche "parenté" chimiquement de la spartéine.

Il s'agit, à la lumière des propriétés pharmacologiques et toxicologiques de la spartéine, d'établir celles de la lupanine. Cette méthodologie choisie divise notre travail en 3 grandes parties :

- Une première partie comporte les données bibliographiques sur les alcaloïdes des Lupins et en particulier un résumé non exhaustif des principales propriétés de la spartéine.
- Une deuxième partie expérimentale comportant un aspect toxicologique qui débouche sur une étude pharmacologique.
- une conclusion générale essaiera de dégager les similitudes et les différences entre ces 2 alcaloïdes.

Toutes les études effectuées dans le présent travail ont porté simultanément sur la spartéine et la lupanine. Cette démarche a pour but de disposer d'éléments de comparaison dans nos conditions expérimentales. Nous avons utilisé pour nos expérimentations de la spartéine-base ou pour quelques expériences (chez le chien et le chat) du sulfate de spartéine du commerce.

La lupanine a été extraite à partir de graines de Lupin et son étude détaillée fait partie d'un autre travail (POTHIER, 1982).

Toutes les quantités de spartéine et de lupanine sont exprimées en alcaloïde-base.

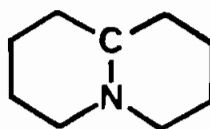
Spartéine-base SARSYNTEX 33701 Merignac
Spartéine-sulfate MERAM 77001 Melun

1ERE PARTIE :
DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES
SUR LES ALCALOIDES DES LUPINS

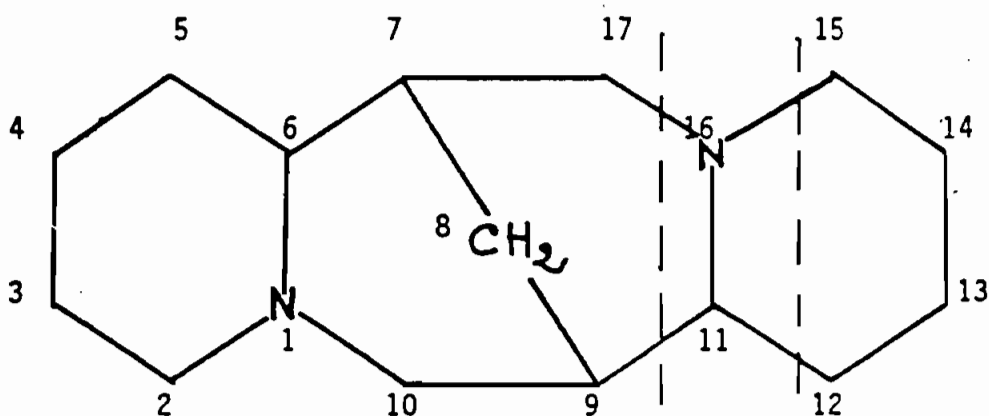
1 - STRUCTURE ET PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES
DES ALCALOIDES DES LUPINS

1. 1. Structure

La première donnée précise sur la chimie des alcaloïdes des Lupins résulte de la découverte, à partir de la lupinine du noyau octahydropyridocolinique, encore appelé norlupinane ou quinolizidine par KARRER et Coll. (1928) représenté sur la figure ci-dessous :



Actuellement on dénombre une trentaine d'alcaloïdes chez les Lupins, tous dérivant de ce noyau. Les principaux d'entre eux fréquemment rencontrés sont différents qualitativement et quantitativement (cf. tableau I), mais peuvent être regroupés en 3 grandes séries selon le nombre de cycles présents dans leur molécule.



Les alcaloïdes bicycliques
du groupe de la lupinine

Les alcaloïdes tricycliques
du groupe de la cytisine

Les alcaloïdes tétracycliques ou
bisquinolizidines du groupe de la spartéine

D'après WALLER et Coll. (1978)

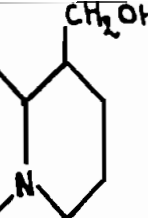
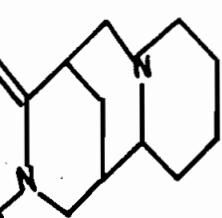
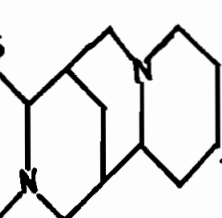
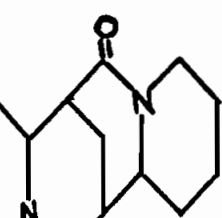
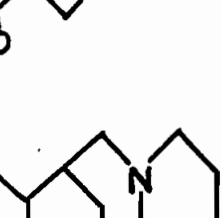
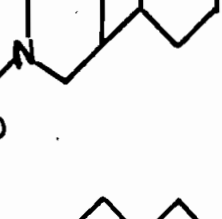
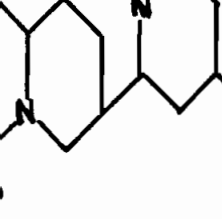
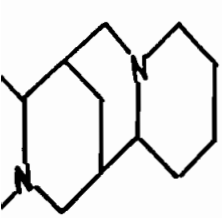
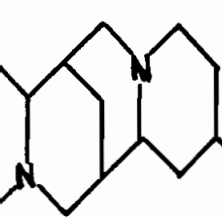
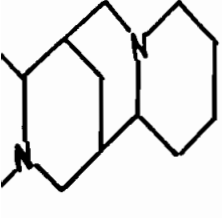
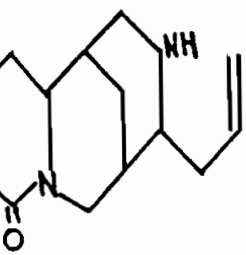
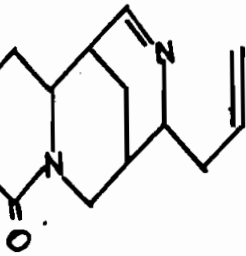
	Lupinine	Lupinus luteus, niger, palmeri albus, mutabilis
	Anagyrene	Lupinus caudatus, macounei, pusillus
	Multiflorine	Lupinus multiflorus, varius, albus, mutabilis
	Hydroxy 13 Multiflorine	Lupinus albus
	Dehydro 5 Hydroxy 13 Multiflorine	Lupinus albus
	Oxolupanine	Lupinus angustifolius
	Lupanine (d, l, dl)	Lupinus albus, angustifolius, luteus, arboreus, mutabilis, termis etc...
	Isolupanine	Lupinus angustifolius
	Hydroxy 13 Lupanine	Lupinus albus, angustifolius, wyethii hilarianus, polyphyllus, sericeus
	Spartéine (d, l, dl)	Lupinus albus, arboreus, luteus, mutabilis, niger etc...

TABLEAU I : Quelques alcaloïdes du Lupin



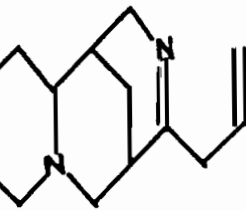
Angustifoline

Lupinus angustifolius, albus,
mutabilis



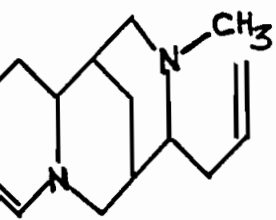
"W 102"

Lupinus albus



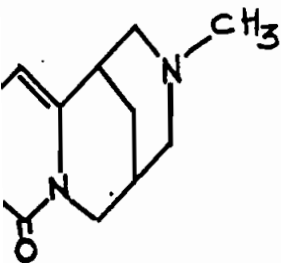
Déhydroalbine

Lupinus albus



N-méthylalbine

Lupinus albus



N-méthylcytisine

Lupinus Latifolius,
polycarpus

TABLEAU I (suite) : Quelques alcaloïdes du Lupin

1. 2. Propriétés physico-chimiques.

Les alcaloïdes des Lupins se différencient les uns des autres par leur nombre d'atomes d'azote à caractère basique. Certains, tels que la lupinine, l'épilupinine, la lupanine, l'hydroxylupanine, l'angustifoline, la multiflorine sont monobasiques alors que la spartéine est dibasique. Ils sont solubles dans les solvants organiques à l'état de base, mais cette solubilité est variable : par exemple, le chloroforme solubilise préférentiellement la lupanine et la lupinine, mais moins bien la spartéine parce que le chloroforme est un donneur faible de liaisons hydrogène. Par contre, la spartéine est beaucoup mieux solubilisée par l'éther et l'acétate d'éthyle.

La plupart des alcaloïdes des Lupins sont doués de pouvoir rotatoire, un même alcaloïde pouvant exister à l'état naturel sous différentes formes selon l'espèce dont il est issu.

Les alcaloïdes sont également doués d'autres propriétés physiques ou chimiques mises à profit dans diverses techniques de dosage :

- la formation de paires d'ions colorées entre un colorant acide et les alcaloïdes (WIEWIORSKI et Coll., 1959 - MERILLON, 1980)

- la précipitation des alcaloïdes par le réactif de Mayer (KEELER, 1973, 1976)

- l'absorption par les alcaloïdes en lumière ultraviolette ; c'est le cas de la lupanine qui présente un maximum à 207 nm (POMPEI et Coll., 1976)

- la fluorescence des alcaloïdes sous une excitation de 360 nm ; c'est le cas de la spartéine, l'hydroxy-13-lupanine, la lupinine, l'angustifoline et la lupanine (KARLSSON, 1978)

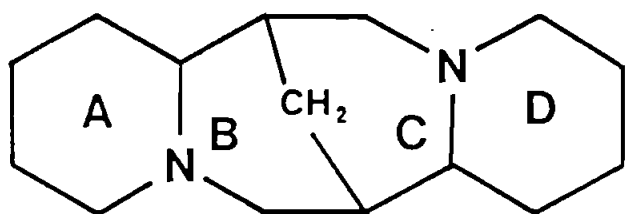
- la possibilité de séparation des alcaloïdes par chromatographie en phase gazeuse (POMPEI et Coll., 1976 - STEINEGGER et Coll., 1976 - RUIZ, 1978 YOVO, 1981).

1. 3. Relations physico-chimiques entre la spartéine et la lupanine.

Les relations entre les propriétés physico-chimiques de la spartéine et de la lupanine ont été établies dès 1933 (CLEMO et Coll., 1933). La spartéine et la lupanine ont une grande similitude structurale avec

l'anagyrine dont elles peuvent provenir naturellement. La lupanine résulte d'une simple saturation des doubles liaisons du noyau A, tandis que la spartéine provient d'une réduction de la fonction C=O du carbone n° 2 de ce même noyau.

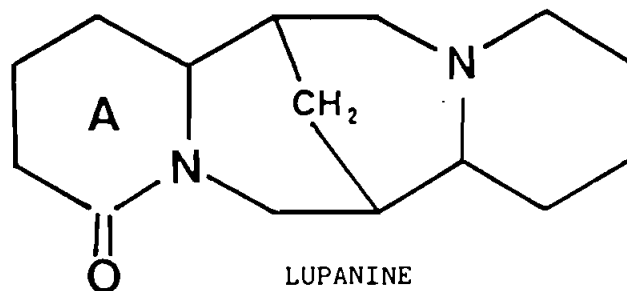
Dans ces conditions, la seule différence fondamentale entre la spartéine et la lupanine est donc un atome d'oxygène. Actuellement, on leur attribue, à l'état de base, les structures et formules suivantes :



SPARTEINE

$C_{15}H_{26}N_2$

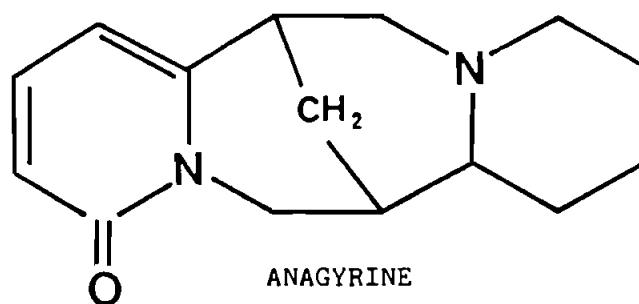
PM = 234



LUPANINE

$C_{15}H_{24}ON_2$

PM = 248



ANAGYRINE

$C_{15}H_{20}N_2O$

PM = 244

Les alcaloïdes des Lupins sont apparentés, de par leur squelette fondamental commun qui est celui de l'octahydropyridocoline. Toutefois, ils se différencient les uns des autres par des particularités physiques et chimiques qui sont bien établies.

2 - PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES ET TOXICOLOGIQUES DES ALCALOIDES DES LUPINS

Après un bref aperçu des propriétés pharmacologiques et toxicologiques de quelques alcaloïdes des Lupins à travers la littérature, nous détaillerons celles concernant la spartéine et la lupanine qui font l'objet du présent travail.

2. 1. HISTORIQUE

Les graines du Lupin auraient été utilisées depuis le Moyen-Age, sans doute à cause de leurs alcaloïdes. Comme en témoigne l'écrit suivant de FUCHS (XVI^e siècle), les Anciens reconnaissaient aux graines du Lupin des vertus thérapeutiques mises à profit dans le traitement de plusieurs affections.

Des Lupins.

B Le temperament.

L'excelsiue amertume. qui est au Lupin mōstre asses euidēmēt qu'il est chauld & sec.

Les vertus extraictes de Dioscoride.

Farine de Lupins reduicte en forme de looch avec miel poulse les vers hors du ventre. Autant font ilz apres qu'ilz ont trempé quelque peu, & qu'on les mange retenans encore de l'amertume. De pareille efficace est la decoction d'iceulx boullis avec Rue et poyure si on la prend en breuuage. Elle profite aussi a la ratelle. De ceste mesme decoction on peult vtilemēt arrouser gangrenes, vlceres noirs, gratelle tāt grosse que menue accōmançante, taches, rougeoilles, petites vairolles & teignes. Item ladicte decoction pourueu qu'on y adiouste myrrhe & miel, si d'elle on vse par dessoubz prouoque le flux menstrual & tire l'enfant hors du ventre. La farine des lupins mōdifie le cuir & marques C noires. Elle appaise inflammations, avec farine d'orge cuicte & eau: elle adoucit la sciatique & enflures, avec vinaigre. Elle cuicte en vinaigre & induicte par dessus consume toutes strumes, & ouure les charbons. Les Lupins cuictz en eau de pluye iusques a ce qui se fondent en suc, nectoyēt & mōdifient: il guerissent la rog avec la racine de Chameleon noir, si on les laue de la decoction ne du Lupin cuicte en eau & beue, prouoque a vriner. Apres amertume, si on les pile avec vinaigre puis on les boit, ilz font au appaisent facherie d'estomach.

Chap. CX

Lup



De Galien.

On mange le Lupin cuict, apres qu'il ha long temps deuant leans delaisse son amertume. Mais cest vne nourriture qui engrosses humeurs. D'auantage, si d'iceluy ainsi preparé que dict

2. 2. GENERALITES

Dans un récent travail, LUCAS (1979) rapporte que les alcaloïdes des graines des Lupins auraient été utilisés contre les parasites intestinaux, des douleurs abdominales et des maladies du foie : il était préconisé d'enduire le ventre des enfants avec un onguent à base de farine de Lupin et d'huile d'amande pour le débarrasser des vers.

Récemment encore, ANTOUN et Coll. (1977) ont montré que des extraits éthanoliques de *Lupinus termis* appliqués sur des lésions eczéma-teuses en ont permis la guérison définitive.

Les graines de Lupin figurent dans le recueil de la Pharmacopée Française (1965).

La toxicité des alcaloïdes des Lupins était également connue depuis longtemps. Les paysans Andins de l'empire Inca, qui consommaient les graines de Lupin, éliminaient d'abord les alcaloïdes par lavage-trempage de ces dernières dans les eaux de ruisseau. L'eau de lavage, riche en alcaloïde, servait d'insecticide, polluait les rivières et empoisonnait les poissons (TELLO, 1976).

Longtemps il a été décrit chez le bétail nourri à la farine brute de Lupin, une affection attribuée aux alcaloïdes et dénommée "Lupinose" (GLADSTONES, 1970). Débutant par une attaque hépatique, la forme aiguë est très souvent fatale. En cas d'intoxication chronique, la lupinose entraîne une fibrose hépatique, rendant le foie cirrhotique (GLADSTONES, 1977). Certaines formes de lupinose sont associées à une myopathie, entraînant une atrophie progressive de tous les muscles (ALLEN, 1978).

En fait, il a été démontré que la lupinose serait due, non pas aux alcaloïdes, mais à une aflatoxine produite par un champignon dénommé *Phomopsis leptostromiformis* (GLADSTONES, 1977 ; ALLEN, 1978).

Plusieurs travaux expérimentaux tendent néanmoins à attribuer une certaine influence des alcaloïdes sur l'alimentation de diverses espèces animales. Nous rapporterons quelques conclusions retenues à travers la littérature.

Sur des rats, HOVE (1974) a noté un meilleur gain de poids avec des graines trempées et bouillies, débarrassées de leurs alcaloïdes. Cependant d'autres auteurs (RUIZ et Coll., 1977) ont noté que le rat tolère l'addition en alcaloïdes de *Lupinus albus* doux jusqu'à 0,27 g % sans

variation significative du coefficient d'efficacité protéique et de la vitesse de croissance pondérale.

- Sur des porcs, KINGSBURY (1964) rapporte que la teneur en alcaloïdes de la ration alimentaire ne peut dépasser 0,03 % sous peine d'observer une diminution rapide du poids. Selon cet auteur, la sensibilité des porcs pourrait s'expliquer par la grande lenteur d'excrétion des alcaloïdes chez cette espèce animale.

- Sur des poussins, GUILLAUME et Coll. (1979) ont établi un lien entre une diminution de la consommation de nourriture, une diminution de la vitesse de croissance par rapport aux témoins nourris avec du soja et l'introduction en proportions croissantes de lupin amer riche en alcaloïdes dans leur ration alimentaire. En effet, ces auteurs ont remarqué que plus la ration alimentaire contenait du lupin amer, moins les animaux consommaient de nourriture et plus l'efficacité diminuait. L'hypothèse retenue par ces auteurs serait une diminution de l'appétit due à la présence d'alcaloïdes. Il y a cependant lieu de se demander si la diminution de nourriture est due à un effet anorexigène, d'origine centrale ou à une diminution de la consommation de nourriture par suite de l'amertume attribuée aux alcaloïdes.

A travers tous ces travaux, il est aisé de remarquer qu'aucun alcaloïde n'a été, ni nommément, ni isolément mis en cause. Or, dans les farines des graines des Lupins, il existe une multitude d'alcaloïdes dont les effets pourraient se surajouter.

Cependant, certains auteurs ont pu établir quelques propriétés spécifiques de certains d'entre eux.

- KEELER (1973, 1976) attribue à l'anagyrine des effets tératogènes, se traduisant par des malformations congénitales chez des veaux (Crooke Calf Disease). Cet auteur a remarqué que l'anagyrine était l'alcaloïde contenu en fortes proportions dans des farines de Lupin des zones où sévissait l'épidémie de cette affection. Ultérieurement, l'administration à des vaches gestantes d'extraits purifiés à 95 % d'anagyrine à différentes doses et à différentes périodes de gestation a démontré que les malformations congénitales étaient d'autant plus sévères que la dose administrée est plus grande.

- Des travaux anciens de COUCH (1926) rapportés par RUIZ (1978) attribuent à la lupinine une grande toxicité cardiaque.

- CLARKE (1975) rapportant des travaux de MITCHELL (1951) attribue à la cytisine des propriétés nicotiques avec une DL₅₀ (voir plus loin) comprise entre 3 et 4 mg/Kg chez le chien et le chat.

2. 3. LA SPARTEINE

La spartéine a été étudiée et utilisée au départ en tant qu'alcaloïde du genêt à balai (*Sarothamnus scoparius* KOCH, Légumineuses). Ce n'est que plus tard qu'elle a été identifiée et isolée de certaines variétés. Elle a fait l'objet de nombreux travaux toxicologiques et pharmacologiques qui justifient ou du moins ont justifié son utilisation thérapeutique. On trouve dans une littérature relativement ancienne des données détaillées sur les propriétés de cet alcaloïde (MERCIER, 1948 ; HAZARD, 1950).

2. 3. 1. Toxicologie.

Selon HAZARD (1950) la spartéine est relativement peu toxique. Le tableau clinique, en cas d'intoxication aiguë, est dominé par une paralysie du centre respiratoire et des muscles inspiratoires.

Du point de vue toxicité cardiaque, les fortes doses de spartéine provoquent la fibrillation du coeur si l'animal est maintenu en survie par la respiration artificielle. Certains auteurs ont établi les doses minimales mortelles de l'alcaloïde chez diverses espèces animales :

- Chez le lapin, 30 mg/Kg en intraveineuse et 100 mg/Kg en sous-cutanée (FLURY et Coll., 1928).

- Chez la souris, 120 mg/Kg en sous-cutanée (ZIPF et Coll., 1943).

2. 3. 2. Pharmacologie

La spartéine a été introduite en thérapeutique humaine grâce aux travaux expérimentaux en France de F. et J. L. MERCIER, de R. HAMET, de R. HAZARD et des cliniciens LABORDE, GERMAIN-SEE et LEGRIS (VALETTE, 1963).

Bien que cet alcaloïde possède des propriétés ganglioplégiques et ocytociques unanimement reconnues, ses actions cardiovasculaires ont suscité de vives controverses (MERCIER et Coll., 1932). Son action sur le système nerveux central ne s'observe qu'à fortes doses.

2. 3. 2. 1. Actions cardiovasculaires.

2. 3. 2. 1. a) Action sur le coeur.

L'action de la spartéine sur le coeur est liée en grande partie à son activité ganglioplégique et dépend avant tout de l'état fonctionnel préalable du myocarde et de l'influence respective du système cholinergique et adrénergique.

Depuis les travaux de F. et J. L. MERCIER (1925), la spartéine est reconnue comme un tonicardiaque à action très spéciale, isolant le coeur de toute cause de perturbation extrinsèque grâce à son action cardiaque et extracardiaque. Aux doses thérapeutiques, elle exerce une action inotrope positive, augmentant faiblement l'amplitude des contractions cardiaques.

En règle générale, la suppression de l'influence cholinergique prédominante sur le coeur par les ganglioplégiques se traduit par une tachycardie sinusale, d'une augmentation modérée de la vitesse de conduction et de la force de contraction ventriculaire (SCOTT et Coll., 1972). Dans le cas particulier de la spartéine, on observe des actions chronotrope, dromotrope et bathmotrope négatives. Un travail de MERCIER (1925) précise en outre que la spartéine entraîne un ralentissement et une augmentation d'amplitude des contractions de l'oreillette et du ventricule droits in situ, mais sans diminuer l'énergie du myocarde.

2. 3. 2. 1 b) Action sur le débit cardiaque.

Les propriétés ganglioplégiques qu'exerce la spartéine sur le coeur se traduisent d'une façon très variable sur le débit. Les changements observés dépendent surtout de l'état préalable du sujet.

Sur un coeur normal, lorsqu'une influence adrénergique prédomine, sa suppression entraînera une diminution modérée du débit. En effet, malgré l'inotropisme positif propre de la spartéine, la cause de la diminution du débit est une réduction du retour veineux au coeur, conséquence de la dilatation des vaisseaux de capacité. Globalement, c'est l'abaissement des pressions de remplissage qui rend compte de la diminution du débit.

A l'opposé, lorsque le coeur est soumis à une influence cholinergique prédominante, l'activité ganglioplégique se traduit par une augmentation du débit, du fait de la tachycardie favorisée par la chute de la pression artérielle.

Sur un coeur pathologique, du fait de l'hypertonie sympathique prédominante, les propriétés ganglioplégiques entraînent un abaissement

des résistances vasculaires et par voie de conséquence de la pression artérielle qui coïncident le plus souvent avec une augmentation du débit cardiaque (VIARS, 1979).

2. 3. 2. 1 c) Actions sur les vaisseaux et la pression artérielle.

Les actions de la spartéine sur les vaisseaux et la pression artérielle ont été à l'origine de nombreuses divergences entre les expérimentateurs. MERCIER et Coll., dès 1925 rapportent que des doses de spartéine de 5 à 10 mg/Kg chez le chien entraînent :

- soit une hypertension brusque et fugace avec retour rapide à la pression normale.

- soit une hypertension légère et d'autant plus marquée que l'injection intraveineuse est poussée plus rapidement avec retour à la pression normale en 10 à 15 minutes.

- soit aucune variation de la pression artérielle.

Si on augmente les doses, sortant alors des limites des doses thérapeutiques, on observe une chute progressive de la pression artérielle, coïncidant avec une vasodilatation périphérique. Quelques années plus tard, MERCIER (MERCIER et HAMET, 1932) a tenté d'expliquer cette action de la spartéine sur la pression artérielle et précise :

- les doses très faibles de spartéine (1 mg/Kg) injectées pour la première fois provoquent d'ordinaire chez le chien, une vasoconstriction indéniable mais faible ;

- les doses moyennes, injectées pour la première fois, produisent généralement une vasoconstriction assez marquée, mais parfois elles provoquent déjà une faible vasodilatation.

- les fortes doses déterminent toujours une vasodilatation extrêmement marquée.

De son côté, LU (1952) rapporte à travers des résultats expérimentaux obtenus sur un groupe de plusieurs chiens que la spartéine entraîne une hypotension prédominante et un ralentissement cardiaque. Dans certaines conditions, on observe une légère hypertension fugace (0,5 à 2 minutes) après des doses répétées de spartéine avec bradycardie, mais elle peut être observée chez certains animaux à la première dose.

L'hypothèse avancée et confirmée pour expliquer cette dualité d'action est une vasoconstriction due à une stimulation directe du muscle lisse des vaisseaux -puisqu'inhibée par la papavérine- d'où l'hypertension passagère, avant que ne se manifeste l'effet ganglioplégique -par suppression du tonus vasculaire- qui entraîne une vasodilatation périphérique diffuse d'où hypotension (LU, 1952).

L'action de la spartéine sur la pression artérielle est variable suivant l'espèce animale. A travers une série de travaux, HAZARD et Coll. (1963) ont pu établir que la spartéine est hypotensive chez le chien, le lapin, hypertensive chez le chat et le cobaye.

Un caractère particulier de cette action chez le chat est que la spartéine ne renouvelle pas ses effets hypertensifs. (HAZARD et Coll., 1963)

2. 3. 2. 2. Propriétés ganglioplégiques.

Il a été longuement fait mention dans le paragraphe précédent de l'influence de l'activité ganglioplégique sur les modifications cardiovasculaires observées après administration de spartéine.

La spartéine apparaît être la substance de référence des ganglioplégiques qui bloquent d'emblée et de façon plus ou moins prolongée les récepteurs nicotiques de la synapse ganglionnaire (VIARS, 1979). Ce blocage ganglionnaire affecte aussi, et ce de façon diffuse, l'ensemble des ganglions des systèmes parasympathique et orthosympathique, voire même par extrapolation fonctionnelle, la médullosurrénale.

Nous rapporterons ici, les conclusions des travaux qui ont été consacrés spécifiquement à la spartéine, en rapport avec ses propriétés ganglioplégiques :

- Elle provoque la dépression des réflexes vasomoteurs sino-carotidiens et pour des doses suffisantes leur blocage (VALETTE, 1963). De ce fait, elle diminue les variations de la pression artérielle ayant pour origine les zones baroréflexes et chimiosensibles.

- Elle rend inefficace l'excitation électrique du pneumogastrique en direction cardiaque au niveau préganglionnaire (HAZARD, 1950).

- L'excitation électrique du nerf splanchnique, vasoconstricteur et adrénalinosecréteur devient inefficace, mais l'action hypertensive et vasoconstrictive rénale de l'adrénaline devient plus intense et plus prolongée (HAZARD, 1933).

- Suppression de l'action hypertensive d'une forte dose d'acétylcholine chez le chien atropiné, mais contrairement à certains ganglioplégiques la spartéine n'exerce pas cette action mais entraîne plutôt une inversion d'action c'est-à-dire une hypotension (LU, 1952).

2. 3. 2. 3. Actions sur le système nerveux central.

La première question qui vient à l'esprit est de savoir si la spartéine pénètre dans le système nerveux central car très souvent, la plupart des ganglioplégiques ne possèdent pas cette propriété. HAZARD (1950) rapporte que la spartéine à dose forte exerce une action inhibitrice centrale. Au niveau du bulbe elle excite d'abord le centre respiratoire par l'intermédiaire du sinus carotidien à dose forte, elle le déprime. Elle n'exerce qu'une action antagoniste peu marquée à l'égard des dépresseurs respiratoires.

Son action inhibitrice s'exerce également sur le centre thermorégulateur, provoquant l'hypothermie. Or, on sait qu'en général, les ganglioplégiques de par la vasodilatation périphérique importante qu'ils induisent, entraînent une nette diminution de la température centrale (VIARS, 1979).

Les travaux de psychopharmacologie (NUCIFORA et MALONE, 1971) avaient établi chez le rat qu'à des doses comprises entre 5 et 55,5 mg/Kg, la spartéine n'apparaît pas comme étant un dépresseur du système nerveux central, mais les auteurs ont observé une diminution de l'activité motrice, une dépression respiratoire et une hypothermie.

Un cas d'intoxication aiguë à la spartéine a été signalé (PEBAY-PEYROULA, et Coll., 1971), intoxication au cours de laquelle il a été trouvé dans le cerveau, un taux de 24 mg/Kg de spartéine.

Il y a tout lieu de penser que la spartéine pénètre dans le système nerveux central, mais que ce passage dépend de la dose de spartéine administrée.

2. 3. 2. 4. Propriétés ocytociques.

Les propriétés ocytociques de la spartéine sont connues depuis fort longtemps. Expérimentalement, elle exerce sur l'utérus un effet excitant utilisé en obstétrique. Elle accélère progressivement et régularise le rythme des contractions, augmente leur intensité sans amener de contracture à certaines doses (HAZARD, 1950).

2. 3. 2. 5. Autres actions.

La spartéine exerce sur l'intestin une action qui varie suivant les animaux, les conditions opératoires (intestin in situ ou isolé), les concentrations. Elle exerce une action diurétique qui porte sur l'eau et surtout sur le chlore urinaire. La diurèse aqueuse est augmentée mais de manière variable, tandis que la teneur de l'urine en chlorures est fortement augmentée.

2. 3. 2. 6. Conclusions.

Les propriétés pharmacodynamiques de la spartéine ont fait l'objet de nombreux travaux. L'accord s'est fait sur un certain nombre de ses propriétés qui justifient son utilisation thérapeutique, le plus souvent sous forme de sulfate, comme médicament des cures interdigitaliques, comme antifibrillant et comme ocytocique.

2. 4. LA LUPANINE.

Contrairement à la spartéine, la lupanine n'a pas, à vrai dire, bénéficié de travaux pharmacodynamiques poussés. Elle est absente des livres classiques de Pharmacologie, ce qui témoigne du peu d'intérêt qu'elle a suscité auprès des expérimentateurs. Et pourtant, elle posséderait des propriétés indéniables :

- Du point de vue toxicologique, LATAWIEK (1958) rapportant les travaux de COUCH (1926) attribue à la lupanine la plus grande toxicité parmi tous les alcaloïdes des Lupins.

Il n'existe pas à proprement parler d'importantes données bibliographiques concernant les propriétés pharmacodynamiques de la lupanine.

2EME PARTIE :
ETUDE EXPERIMENTALE

3 - TOXICOLOGIE

3. 1. CONDITIONS GENERALES DES ESSAIS

L'activité pharmacodynamique d'une substance est fonction de nombreux facteurs. Pour pallier la variabilité du réactif animal et obtenir des résultats reproductibles, même qualitativement, il est recommandé d'expérimenter sur un matériel animal bien déterminé (HAZARD, 1951) placé dans des conditions standardisées (QUEVAUVILLER, 1972).

Les expérimentations ont porté sur la souris Swiss C.F EOPS (Exempt d'Organismes Pathogènes Spécifiques) provenant du Centre d'Elevage R. JANVIER, Le Genest, issues de Carworth Farms, New-City, U.S.A.

Les Souris de sexe mâle, pesant 18 à 22 g, âgées de 4-5 semaines, sont maintenues avant les expérimentations pendant 3 jours au moins dans l'animalerie dont la température ambiante varie entre 20 et 22° C et le degré hygrométrique de l'air oscille entre 50 et 60 % d'humidité relative.

Les Souris sont regroupées dans des cages en Makrolon, garnies d'une litière spéciale (Litalabo) pour animaux de laboratoire, obtenue à partir de copeaux de bois blanc. L'alimentation est standard U.A.R (Usine d'Alimentation Rationnelle) pour Souris et Rats et l'eau de boisson est dispensée ad libitum.

Les substances étudiées (Spartéine et Lupanine) sont mises en solution dans du soluté isotonique de chlorure de sodium à 9 g/l, administrées soit par voie intrapéritonéale (IP), soit par voie orale (per os) sous un volume constant de 0,5 ml/20 g de poids corporel. Une seringue de type insuline permet d'ajuster avec précision le volume administré par rapport au poids de chaque animal.

3. 2. ESSAIS PRELIMINAIRES.

Ils ont été effectués sur la Souris. La voie intra-péritonéale a été choisie afin d'avoir rapidement une idée des doses toxiques de chaque alcaloïde.

3. 2. 1. Détermination de la DL_0 (dose maximum toujours tolérée) et de la DL_{100} (dose minimum toujours mortelle) chez la Souris.

3. 2. 1. 1. Protocole.

Dans un premier temps, un lot homogène de souris est divisé en groupes de cinq animaux qui reçoivent des doses croissantes de spartéine et de lupanine afin de détecter pour chaque substance la dose maximum toujours tolérée (DL_0) et la dose minimum toujours mortelle (DL_{100}).

Un lot de 5 souris ayant reçu seulement du soluté isotonique de chlorure de sodium à 9 g/l sert de lot témoin.

Dans chaque groupe d'animaux correspondant à une dose de substance administrée, on note le nombre de morts immédiats, puis en 24 heures, ensuite en 48 heures et enfin au cours des 14 jours consécutifs à l'administration.

Nous obtenons ainsi pour chaque substance, deux doses qui délimitent grossièrement la zone dans laquelle devra s'effectuer l'essai définitif en vue de l'établissement de la DL_{50} (dose létale 50).

3. 2. 1. 2. Choix des doses.

Pour la spartéine, les doses ont été choisies en tenant compte :

- des données de la littérature ; ZIPF et TRILLER (1943) ont trouvé une DL_{50} de 120 mg/Kg chez la souris mais par voie sous-cutanée.
- des limites de solubilité de la spartéine-base dans le soluté isotonique de chlorure de sodium (3 mg/ml au maximum). Dans nos conditions expérimentales, la dose la plus forte ne pouvait être que de 75 mg/Kg. Les autres doses ont été obtenues par une progression géométrique de raison 0,8.

Quant à la lupanine, devant l'absence de données bibliographiques, nous avons choisi au hasard les doses suivantes en mg/Kg : 50 - 100 - 150 - 175 - 200 - 225 - 250.

3. 2. 1. 3. Résultats.

Dans nos conditions expérimentales, on obtient les valeurs rassemblées dans les tableaux 1 et 2.

3. 2. 1. 4. Discussion.

Les résultats obtenus ne sont qu'une indication approximative des doses toxiques de chaque alcaloïde. Ils n'ont pas été soumis à une étude statistique, en raison du faible nombre d'animaux par dose.

PS	NOMBRE DE MORTS						CUMUL DES MORTS
	5 min.	15 min.	1 h.	2 h.	24 h.	48 h.	14 j.
ES mg/Kg	-	-	-	-	-	-	-
5	4	1	-	-	-	-	5
0	2	3	-	-	-	-	5
8	2	2	-	-	-	-	4
8,4	0	1	2	-	-	-	3
0,7	0	0	0	0	0	0	0

TABLEAU 1 : DL₀ et DL₁₀₀ de la SPARTEINE par voie I.P (5 souris par dose).

EMPS	NOMBRE DE MORTS						CUMUL DES MORTS
	5 min.	10 min.	15 min.	20 min.	24 h.	48 h.	
S mg/Kg	-	-	-	-	-	-	-
250	0	4	1	-	-	-	5
225	0	2	3	-	-	-	5
200	0	0	0	1	2	-	3
175	0	0	0	0	1	1	2
150	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0

TABLEAU 2: DL₀ et DL₁₀₀ de la LIPANINE par voie I.P (5 souris par dose).

3. 2. 2. Observation des animaux.

Au cours des essais préliminaires, l'observation des animaux apporte des renseignements, non seulement sur la létalité, mais aussi sur un certain nombre de symptômes qui font suspecter une éventuelle activité dans le domaine des systèmes nerveux central et autonome.

3. 2. 2. 1. Principe.

La méthodologie suivie s'inspire de celle décrite initialement par IRWIN (1962, 1964). Afin de guider l'expérimentateur, IRWIN a préconisé la recherche d'un certain nombre de signes révélateurs d'une activité et une échelle de cotation dont le tableau de l'annexe n° 2 représente un extrait. Ces observations demandent beaucoup de temps ; aussi bon nombre de laboratoires s'inspirent de la méthode d'IRWIN, mais ne retiennent que certains signes dominants et adoptent une échelle personnelle de cotation.

Pour notre part, au cours de l'expérimentation, nous avons recherché relevé et quantifié les symptômes et réactions suivants :

PASSIVITE

On chiffre l'état de passivité de l'animal suivant son comportement lorsqu'il est saisi par l'une ou l'autre partie de son corps :

- 0 la souris normale s'applatit quand on la prend par la peau du cou
- 2 l'animal reste suspendu inerte par la peau du cou
- 4 l'animal reste retourné horizontalement sur le dos de la main.

ACTIVITE SPONTANEE

L'activité spontanée est normalement cotée 4 chez les témoins (animaux non traités)

- 2 position allongée avec éveil
- 0 apparence de sommeil

REACTION AU TOUCHER

Les souris étant dans leur habitacle, on note l'importance de leurs réactions en réponse à une stimulation tactile.

- 4 réaction normale (sursauts et bonds)
- 2 réaction intermédiaire
- 0 absence de réaction

REACTION A LA DOULEUR

Quand on pince la base de la queue de la souris, elle s'agite et essaie de se retourner pour mordre, attitude normale cotée 4

2 attitude plus ou moins perturbée

0 disparition totale de cette réaction

PHENOMENE DE STRAUB

Le phénomène de STRAUB est caractéristique des animaux traités par la morphine : la queue raidie fait un angle aigu avec le dos

0 absence de phénomène

4 existence du phénomène

TREMBLEMENTS

Les tremblements caractérisent une activité de type cholinergique et spécifiquement nicotinique

0 chez les animaux normaux

4 apparition de tremblements

CONVULSIONS

Les convulsions toniques ou cloniques sont des mouvements anormaux

0 chez les animaux normaux

4 apparition de convulsions toniques ou cloniques

POSITION DES PATTES - DEMARCHE ANORMALE

Observation des modifications entraînant une paralysie du train postérieur et plus ou moins un affaissement de l'animal.

La démarche anormale est cotée 4 si elle apparaît.

REFLEXE DE REDRESSEMENT

La souris normale se redresse aussitôt si on tente de la renverser sur le dos : attitude normale cotée 0. L'absence de ce réflexe est cotée 4.

REFLEXE AURICULAIRE

La stimulation, ou quand on effleure la face interne du pavillon de l'oreille provoque chez la souris normale des secousses des oreilles et de la tête (cotation 4). La disparition de ce réflexe est cotée 0.

REFLEXE CORNEEN

Les attouchements des paupières chez la souris normale provoquent un réflexe de fermeture de l'oeil (comportement normal coté 4).

La disparition de ce réflexe est cotée 0.

CATALEPSIE

C'est un état d'immobilité accompagné de la possibilité de garder les positions prises : croisement des pattes homolatérales (BOISSIER et SIMON, 1963).

0 chez les animaux normaux

4 apparition de catalepsie

RYTHME RESPIRATOIRE

Observation de l'animal en recherchant la manifestation des signes d'étouffement ou de détresse respiratoire.

Le rythme normal est coté 4

0 rythme accéléré

2 rythme déprimé

MORTS AIGUE ET TARDIVE

La mort est aigue si elle intervient aussitôt après l'administration de la substance, tardive si elle a lieu bien après, mais dans la période d'observation.

3. 2. 2. 2. Protocole.

L'observation a été faite en aveugle, l'expérimentateur ne sachant pas la correspondance entre les lots de souris et, d'une part la nature de la substance reçue, d'autre part la dose administrée.

Compte-tenu du temps de latence et de la durée différents des effets en fonction des doses croissantes, nous avons adopté des intervalles de temps différents pour la présentation des résultats d'observation.

3. 2. 2. 3. Résultats.

Les chiffres correspondent à la somme des cotations individuelles de tous les animaux ayant reçu la même dose, puis divisée par 5 (5 souris/lot/dose). Les résultats sont rassemblés dans les tableaux n° 3 et n° 4 .

En examinant les fiches de comportement, nous constatons que la spartéine et la lupanine ont une cinétique d'action différente suivant les doses, mais entraînent qualitativement des symptômes généraux similaires :

- L'activité spontanée, de même que les réactions au toucher et à la douleur ne sont pas modifiées, sauf très légèrement au stade terminal précédant de peu la mort pour les doses toxiques.

- Nous n'avons noté, quelle que soit la dose, ni de phénomène de STRAUB, ni de catalepsie.

- Les réflexes de retournement, auriculaire et cornéen ne sont pratiquement pas affectés.

- La position des pattes n'est généralement pas modifiée et une démarche anormale n'apparaît que dans les dernières minutes qui précèdent la mort de l'animal.

Par contre, les symptômes évidents et dominants de l'intoxication sont les tremblements et les convulsions tonico-cloniques. Les tremblements précèdent toujours les convulsions et comprennent, d'une part des mouvements généralisés de tout le corps et, d'autre part, un type particulier de tremblement que nous avons dénommé "marteau-piqueur" : la souris effectue des mouvements verticaux stéréotypés de la tête jusqu'à l'apparition de convulsions qui précèdent la mort. Cependant tous les animaux n'ont pas présenté ce symptôme.

3. 2. 3. Evolution de la croissance des animaux. (figures 1 et 2)

Comme nous l'avons souligné antérieurement, bon nombre d'auteurs (YULE et Mc BRIDE, 1976 ; GUILLAUME et Coll., 1979) ont évoqué une influence des alcaloïdes sur la croissance d'animaux nourris avec la farine de Lupin. Ces alcaloïdes seraient responsables du goût amer de la farine et déprimeraient la croissance des animaux. S'agit-il d'un effet anorexique ?

Nous avons voulu vérifier cette hypothèse sur des souris en suivant l'évolution de la croissance de celles qui ont survécu lors de la détermination de la DL_0 et de la DL_{100} .

SPARTEINE

	75 mg/Kg						60 mg/Kg					48 mg/Kg					38,4 mg/Kg					30,7 mg/Kg				
PARAMETRES	N	1mn	2mn	3mn	4mn	5mn	1mn	2 mn	5 mn	10mn	15mn	10mn	20mn	30mn	45mn	1 h	15mn	30mn	45mn	1 h	2 h	2h.	4h.	6h.	24h	48h
ACTIVITE	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
ACTIVITE SPONTANEE	4	4	4	4	2	2	4	4	4	2	2	4	4	4	0	2	4	4	4	4	2	4	4	4	4	4
REACTIVATION AU TOUCHER	4	4	4	4	4	0	4	4	4	2	0	4	4	4	4	2	4	4	4	4	2	4	4	4	4	4
REACTIVATION A LA DOULEUR	4	4	4	4	2	0	4	4	4	2	0	4	4	4	4	2	4	4	4	4	2	4	4	4	4	4
PHENOMENE DE STRAUB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
REFLEXES	0	0	4	4	4	4	0	0	4	4	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0
REFLEXIONS	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0
REACTIVATION DES PATTES	4	4	4	4	4	0	4	4	4	4	0	4	4	4	4	0	4	4	4	4	4	0	4	4	4	4
ARCHERIE ANORMALE	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0
REFLEXE DE REDRESSEMENT	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0
REFLEXE AURICULAIRE	4	4	4	4	4	0	4	4	4	4	0	4	4	4	4	0	4	4	4	4	4	0	4	4	4	4
REFLEXE CORNEEN	4	4	4	4	4	0	4	4	4	4	0	4	4	4	4	0	4	4	4	4	4	0	4	4	4	4
PLEPSIE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RESPIRATOIRE	4	4	4	0	0	2	4	4	0	2	2	4	4	4	0	2	4	4	4	0	2	4	4	4	4	4
SAISIES AIGUES	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0
SAISIES TARDIVES	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

TABLEAU 3 : TESTS D'OBSERVATION DES ANIMAUX.

LUPANINE

PARAMETRES	N	250 mg/Kg					225 mg/Kg					200 mg/Kg					175 mg/Kg					150 mg/Kg					100 mg/Kg					50 mg/Kg							
		1 mn	2mn	3mn	5mn	10mn	1mn	2mn	5mn	10mn	20mn	15mn	30mn	45mn	1 h	24h	30mn	45mn	1h	24h	48h	30mn	45mn	1h	24h	48h	30mn	45mn	1h	24h	48h	30mn	45mn	1 h	24 h	48			
PASSIVITE	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	2	-	0	0	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ACTIVITE SPONTANEE	4	4	4	4	2	2	4	4	4	4	2	4	4	4	4	-	4	4	2	-	-	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
REACTION AU TOUCHER	4	4	4	4	4	0	4	4	4	4	0	4	4	4	4	-	4	4	4	-	-	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
REACTION A LA DOULEUR	4	4	4	4	2	0	4	4	2	2	0	4	4	4	4	-	4	4	4	-	-	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
PHENOMENE DE STRAUB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
TREMBLEMENTS	0	0	0	4	4	4	0	0	0	4	4	0	0	0	4	-	0	4	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
CONVULSIONS	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	-	0	0	4	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
POSITION DES PATTES	4	4	4	4	0	0	4	4	4	4	0	4	4	4	0	-	4	4	4	-	-	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
DEMARCHE ANORMALE	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	-	0	0	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
REFLEXE DE REDRES-	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	-	0	0	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
REFLEXE AURICULAIRE	4	4	4	4	4	0	4	4	4	4	0	4	4	4	4	-	4	4	4	-	-	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
REFLEXE CORNEEN	4	4	4	4	4	0	4	4	4	4	0	4	4	4	4	-	4	4	4	-	-	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
CATALEPSIE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
RYTHME RESPIRATOIRE	4	4	4	0	0	2	4	4	0	2	2	4	4	4	4	-	4	4	0	-	-	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
MORTS AIGUES	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	4	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
MORTS TARDIVES	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

TABLEAU 4: Tests d'observation des animaux.

oids en g

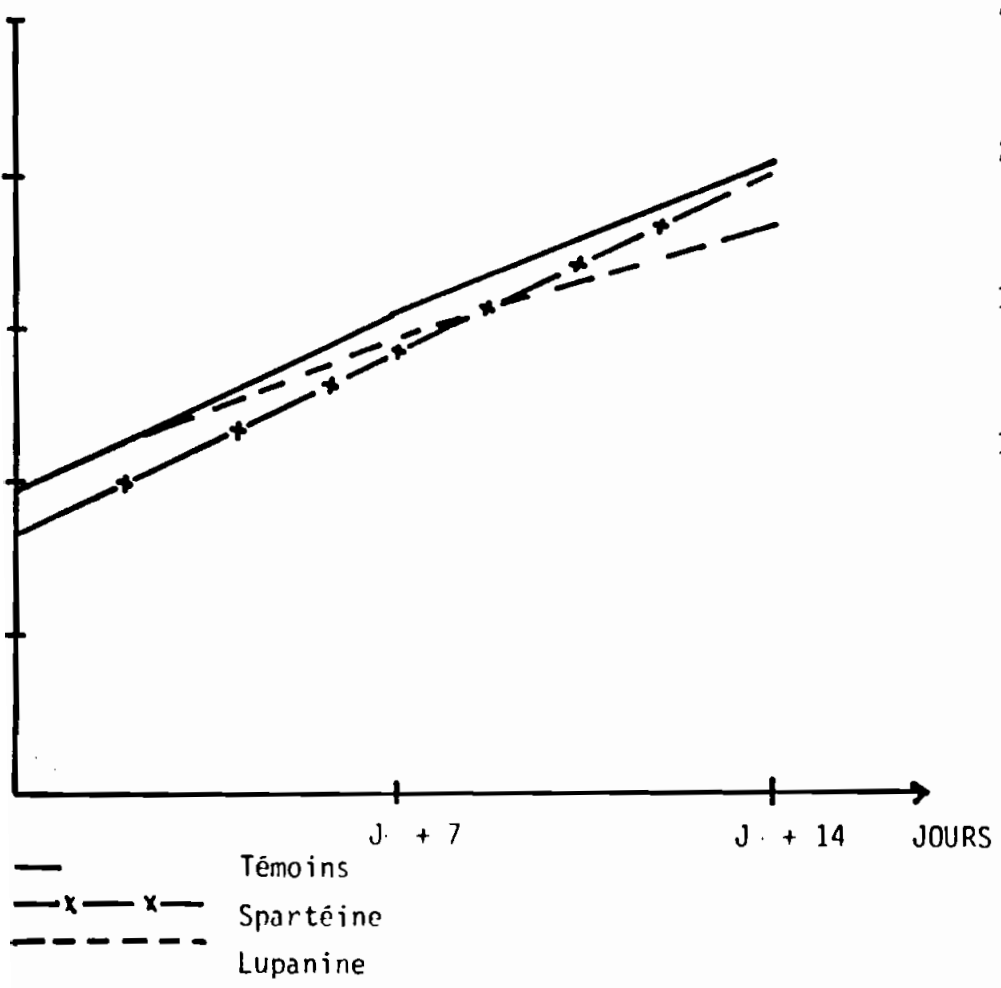


Fig. 1 : Courbes de croissance des souris

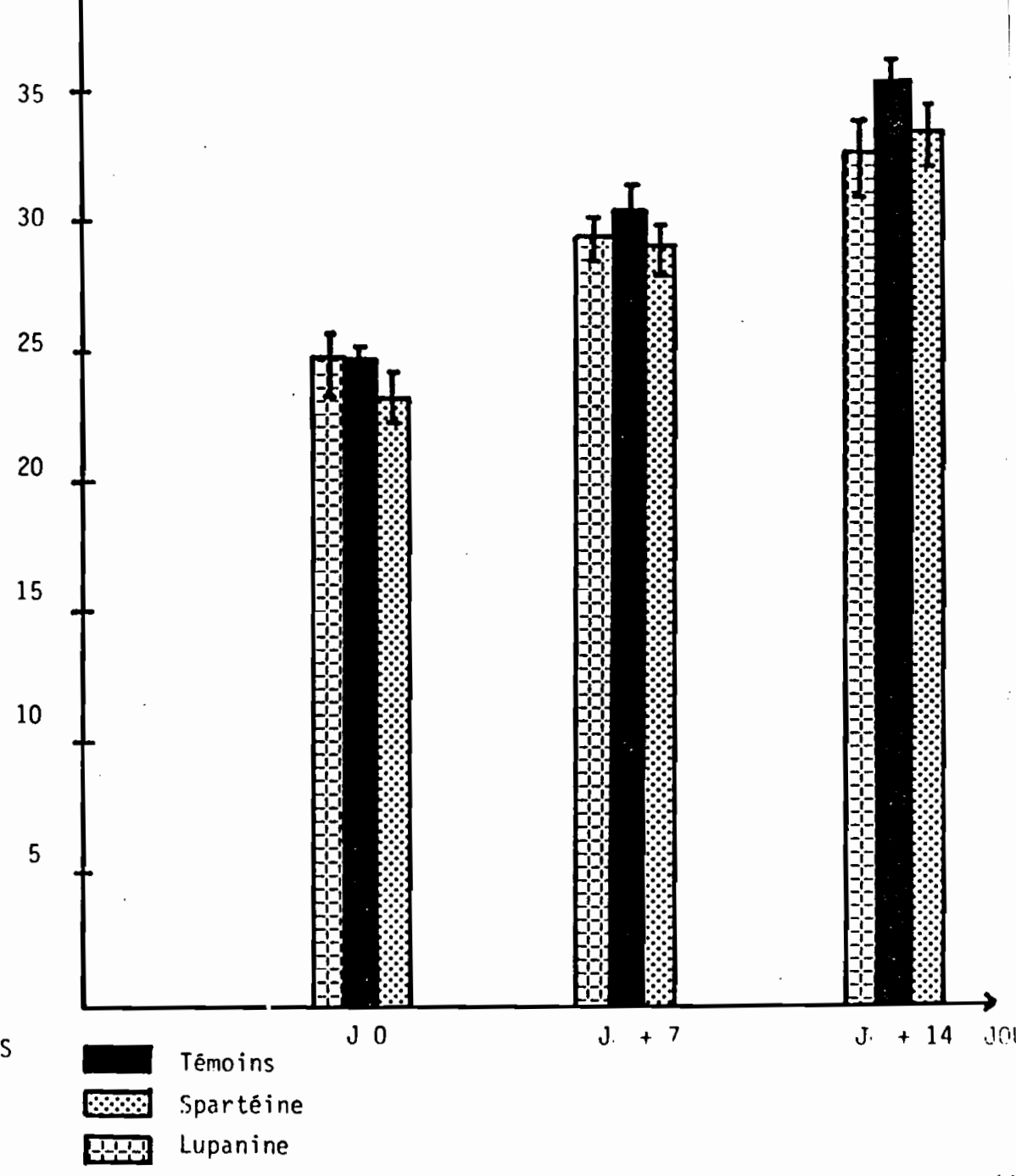


Fig. 2 : Histogramme des poids des souris

3. 2. 3. 1. Méthodologie.

Afin d'avoir des moyennes de poids comparables, nous avons choisi les lots de souris ayant reçu la DL₀ dans nos conditions expérimentales, soit 30,7 mg/Kg pour la spartéine et 150 mg/Kg pour la lupanine.

Les souris sont pesées toutes les semaines à la même heure pendant les 14 jours consécutifs à l'administration des substances. Elles ont de l'eau de boisson et de la nourriture ad libitum.

3. 2. 3. 2. Résultats.

Les moyennes de poids des souris de chaque lot sont représentées dans le tableau 5 et sur les figures 1 et 2 par des courbes et des histogrammes.

Traitement	POIDS en grammes		
	J0	J + 7	J + 14
Témoins	24,8 ± 0,8	30,40 ± 1,3	35,4 ± 0,5
Spartéine	23,20 ± 1,30	29 ± 1	33,20 ± 0,83
Lupanine	24,8 ± 1,3	29,4 ± 0,8	32,50 ± 1,29

TABLEAU 5 : Moyennes ± écart-types des poids des souris

3. 2. 3. 3. Discussion.

Les différences entre les poids moyens des souris témoins et ceux des traitées ne sont pas significatives et il apparaît très difficile, dans ces conditions, de dire l'influence exercée par la spartéine et la lupanine sur la croissance.

D'autre part, nous ne pouvons comparer nos résultats avec ceux des auteurs précédemment cités :

- Nous n'avons effectué qu'une administration unique en aiguë, alors que dans les autres travaux, les alcaloïdes se trouvaient dans la nourriture quotidienne des animaux. Il s'agirait donc plutôt d'un effet chronique.

- La voie d'administration utilisée (intrapéritonéale) exclut à priori l'implication d'un goût amer invoqué dans l'effet anorexique.

- Notre étude concerne l'influence séparée de la spartéine et de la lupanine alors que dans les farines elles se trouvent ensemble et exerceraient leur effet d'une manière synergique avec celui des autres alcaloïdes.

3. 2. 4. Conclusions.

Les essais préliminaires ont permis de mettre en évidence une activité pharmacodynamique, voire toxicologique en fonction de la dose, de la spartéine et de la lupanine. Ils ont également permis de noter, eu égard aux DL_0 et DL_{100} , la moindre toxicité de la lupanine par rapport à la spartéine. Dans la suite du travail, cette toxicité sera quantifiée par la détermination de la DL_{50} de chaque substance par voie intrapéritonéale (IP) et par voie orale (PO). Une étude comparative des valeurs trouvées sera faite avant d'envisager les différentes propriétés qui feront l'objet du présent travail.

3. 3. DETERMINATION DE LA DL_{50}

Toute étude pharmacologique et toxicologique comporte avant tout la détermination de la DL_{50} (dose létale 50) c'est-à-dire la dose de substance capable d'entraîner la mort de 50 % des animaux. Elle constitue une précieuse indication pour les expérimentations ultérieures, permet de distinguer les effets pharmacologiques de ceux qui sont toxiques et d'établir une marge de sécurité pour les molécules justiciables d'application thérapeutique. Les essais préliminaires ont permis de trouver la gamme de doses à l'intérieur de laquelle la DL_{50} de chaque substance se trouverait.

3. 3. 1. DL_{50} par voie I.P.

3. 3. 1. 1. Méthodologie.

Les conditions générales des essais sont celles décrites précédemment (§ 3. 1.). Un lot homogène de souris Swiss, de sexe mâle, réparties en groupe de 10, reçoit des doses croissantes espacées et comprises entre

les DL_0 et les DL_{100} observées précédemment. Mais, vu le nombre important d'animaux par lot, il a fallu, d'une part affiner la létalité en choisissant des doses très voisines, d'autre part et au besoin, dépasser légèrement la DL_{100} afin d'obtenir une mortalité de 100 %. Dans ces conditions, les doses suivantes en mg/Kg de poids corporel ont été administrés :

- pour la spartéine : 30 - 32 - 34 - 36 - 38 - 40 et 42
- pour la lupanine : 100 - 150 - 175 - 200 - 225 - 250 et 300.

3. 3. 1. 2. Résultats.

Les courbes de toxicité sont représentées à la figure n°

La dose létale 50 (DL_{50}) a été calculée par la méthode de LITCHFIELD et WILCOXON (1949), décrite par C. DUPONT (1970).

Cette méthode a permis de trouver les valeurs suivantes avec un seuil de probabilité $p = 0,05$.

S P A R T E I N E

$DL_{50} = 36 (34,95 - 37,08) \text{ mg/Kg/IP/souris}$

L U P A N I N E

$DL_{50} = 175 (154 - 197) \text{ mg/Kg/IP/souris}$

Les chiffres entre parenthèses indiquent les limites de confiance. Ces valeurs seront discutées au § 3. 3. 3. de la discussion générale (voir plus loin).

3. 3. 2. DL_{50} par voie per os.

3. 3. 2. 1. Méthodologie.

La méthodologie est la même que celle décrite précédemment, mais les animaux ont été soumis à un jeûne préalable de 18 h. D'autre part, comme il est classiquement admis que la toxicité est moindre par voie per os que par voie parentérale, nous avons considéré les DL_{50} en I.P comme étant les doses les plus faibles, soit :

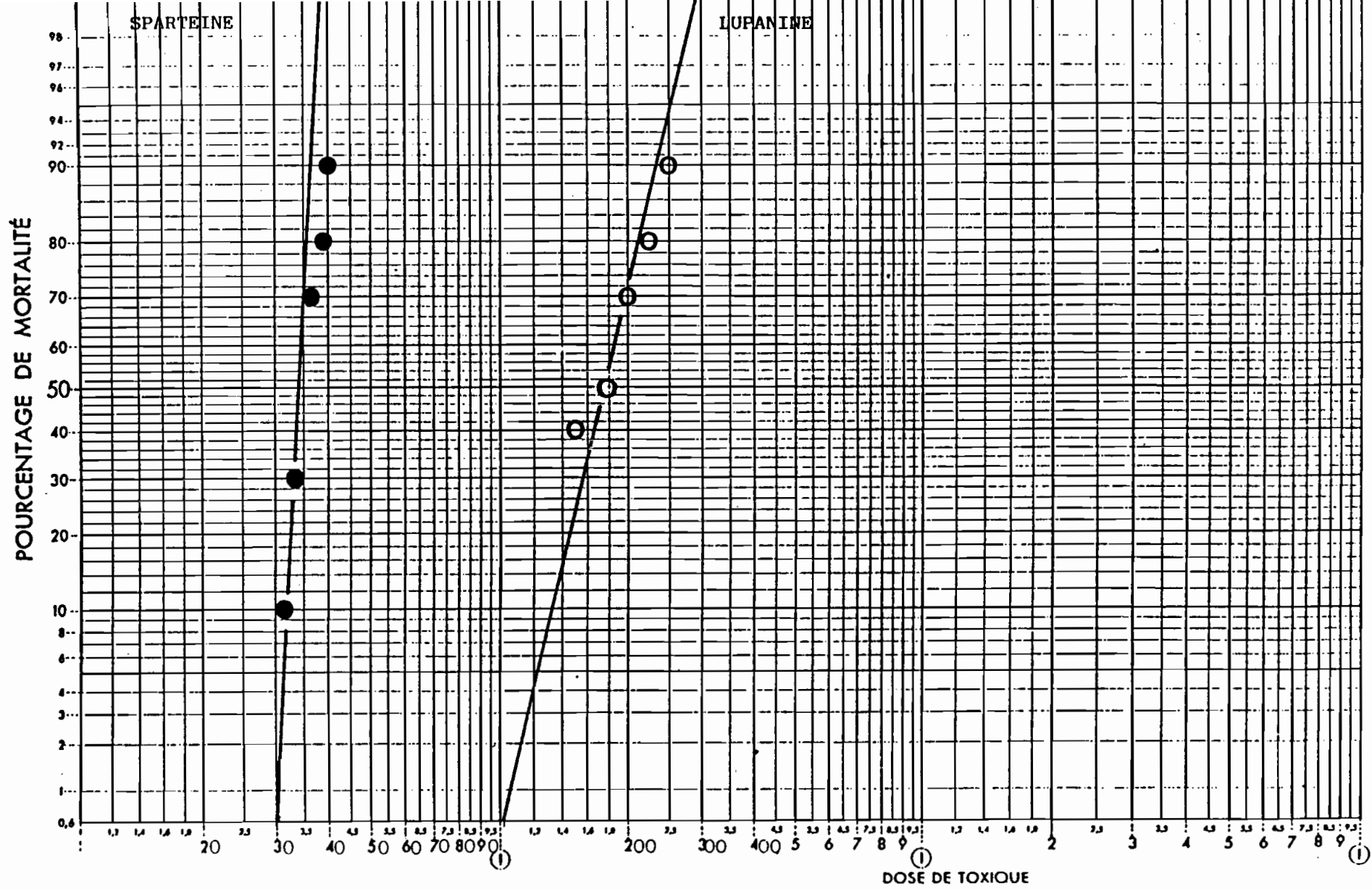


Fig. 3 : TOXICITE AIGUE PAR VOIE INTRAPERITONEALE

- Pour la spartéine : 40 - 80 - 160 - 240 - 320 - 480 mg/Kg
- Pour la lupanine : 175 - 350 - 500 - 600 - 700 mg/Kg.

Les administrations ont été pratiquées par voie digestive, sous un volume constant de suspensions gommeuses à 3 %.

3. 3. 2. 2. Résultats.

Les courbes de toxicité sont représentées sur la figure n° 4

Comme pour la voie I.P, la méthode de LITCHFIELD et WILCOXON (1949) permet de trouver les valeurs suivantes avec un seuil de probabilité $p = 0,05$.

S P A R T E I N E

DL₅₀ = 220 (180 - 268) mg/Kg/P.O/souris

L U P A N I N E

DL₅₀ = 410 (341 - 492) mg/Kg/P.O/souris

Les chiffres entre parenthèses indiquent les limites de confiance.

3. 3. 3. Etude comparative et discussion générale.

L'étude comparative des différentes DL₅₀ repose sur la méthodologie suivante :

- Un test de parallélisme des courbes de toxicité permet de savoir si la comparaison entre les 2 substances étudiées est possible, c'est-à-dire si les toxicités sont de même type ou procèdent du même mécanisme.
- Le calcul du rapport de puissance permet de comparer l'une des 2 substances par rapport à l'autre. Cette méthodologie a été appliquée pour effectuer les comparaisons suivantes :

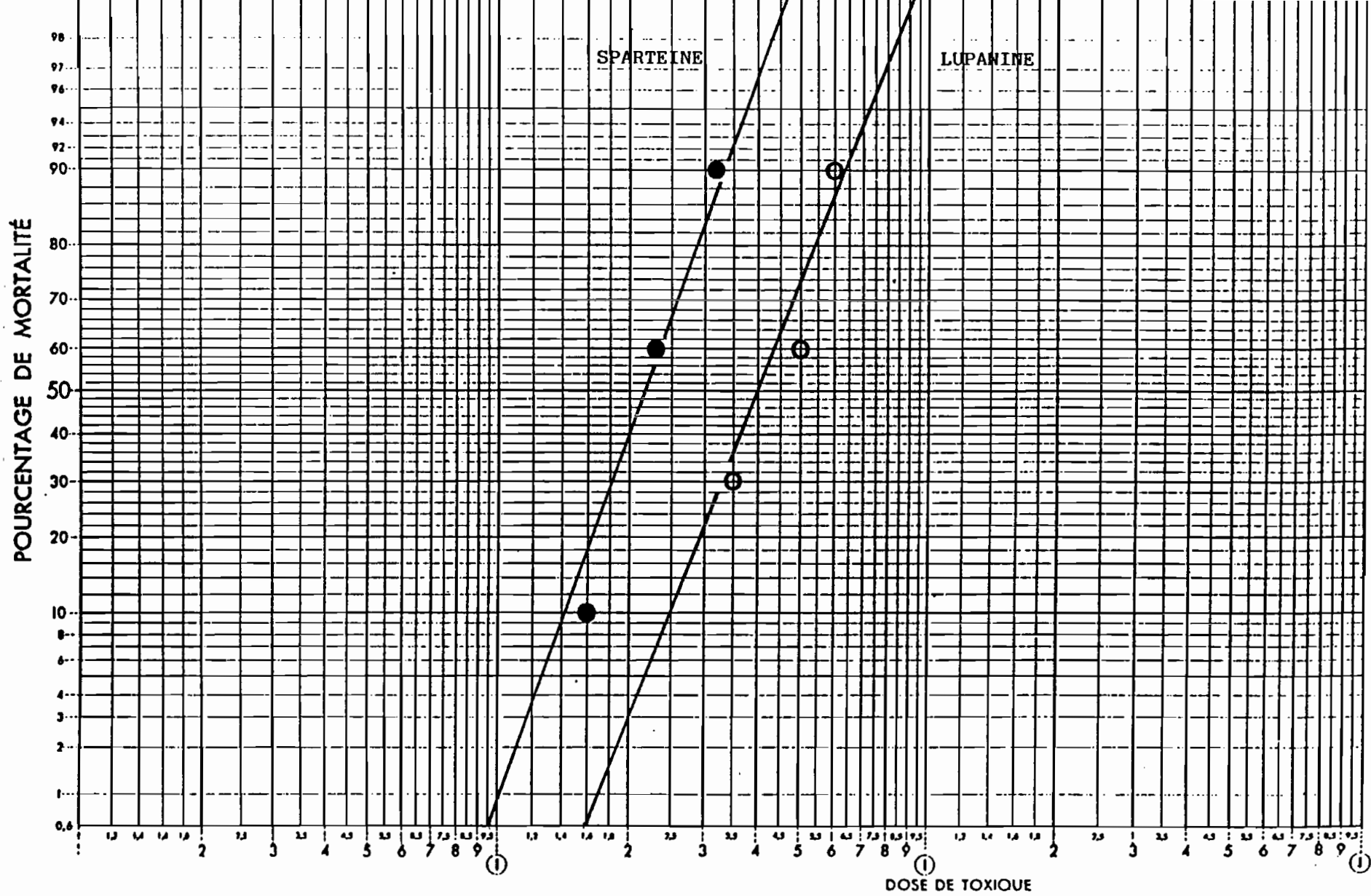


Fig. 4 : TOXICITE AIGUE PAR VOIE ORALE

3. 3. 3. 1. SPARTEINE I.P/LUPANINE I.P.

Il apparaît que les courbes de toxicité ne diffèrent pas significativement du point de vue de leur parallélisme au seuil de $p = 0,05$. Les effets toxiques de la spartéine et de la lupanine procèdent donc du même type : la spartéine serait 4,8 fois plus toxique que la lupanine par voie intrapéritonéale avec une limite de confiance comprise entre 4,3 et 5,2.

Nos résultats sont contraires à ceux de COUCH (1926) qui attribue la plus grande toxicité à la lupanine.

3. 3. 3. 2. SPARTEINE P.O/LUPANINE P.O.

La plus grande toxicité de la spartéine par rapport à la lupanine est confirmée, mais dans un rapport relativement plus faible. En effet, le calcul du rapport de puissance permet de conclure que par voie orale, la spartéine ne serait plus que 1,86 fois plus toxique que la lupanine avec une limite de confiance de 1,69 et 2. Cette différence de toxicité suivant la voie pourrait s'expliquer par une différence de résorption. Nous pensons, à la lumière de ces résultats que la spartéine serait moins résorbée que la lupanine. Afin de confirmer cette hypothèse, une étude comparative par les deux voies d'administration de chaque alcaloïde s'avère nécessaire.

3. 3. 3. 3. SPARTEINE I.P/SPARTEINE P.O

Il existe un rapport de 6 entre la DL_{50} P.O et la DL_{50} I.P, rapport compris entre 4,8 et 7,5.

3. 3. 3. 4. LUPANINE I.P/LUPANINE P.O.

Le rapport de puissance de la toxicité de la lupanine par ces deux voies n'est que de 2,3 avec une limite de confiance comprise entre 1,84 et 2,8.

3. 3. 4. Conclusions.

De ces études sur la détermination des DL_{50} il se dégage dans nos conditions expérimentales :

- que la spartéine est environ 5 fois plus toxique que la lupanine chez la souris, en administration intrapéritonéale.

- que cette différence de toxicité se réduit si les alcaloïdes sont administrés par voie orale. Cette diminution de toxicité pourrait s'expliquer, à notre avis, par des paramètres pharmacocinétiques, notamment au niveau de la résorption. L'absence de données bibliographiques sur la

résorption de la spartéine ne permet pas de déterminer le facteur le plus en cause, la voie usuelle d'utilisation de la spartéine excluant la résorption.

Somme toute, il paraît nécessaire d'étudier qualitativement la cinétique des effets toxiques des deux alcaloïdes. Cette étude sera effectuée sur le Cobaye.

3. 4. ETUDE DE LA TOXICITE CARDIAQUE CHEZ LE COBAYE.

Les propriétés cardiaques de la spartéine, généralement reconnues, nous ont amené à rechercher les éventuelles modifications provoquées par les 2 alcaloïdes sur l'électrocardiogramme de cobaye, maintenu sous perfusion continue jusqu'à la mort.

3. 4. 1. Matériel et méthode

La méthodologie utilisée s'inspire de celle décrite par BOISSIER et Coll., (1965) et qui préconise le cobaye en raison de la similitude existant entre l'électrocardiogramme de cet animal et celui de l'homme d'une part et de la reproductibilité des résultats d'autre part. Les conditions d'hébergement des animaux sont identiques à celles décrites antérieurement (paragraphe 3. 1.) sauf la nourriture qui est celle pour Lapins et Cobayes (U.A.R).

Des cobayes mâles pesant 300 à 500 g sont anesthésiés à l'uréthane (1 g/Kg de poids corporel) par voie intrapéritonéale. La perfusion des alcaloïdes a été faite en continu dans une veine jugulaire au moyen d'une pompe (Perfuseur Braun Original Perfusor V, Sprite 50 ml) à un débit constant de 0,5 ml/mn. Les enregistrements de l'électrocardiogramme ont été réalisés simultanément en dérivation D_1 D_2 D_3 à l'aide d'un enregistreur ECG 3 pistes (Siemens Elema Minograf minor 3). Ils ont lieu toutes les minutes jusqu'à la mort de l'animal, ou éventuellement jusqu'à l'obtention d'un tracé E.C.G plat.

Des essais préliminaires avaient permis de déterminer les concentrations des solutions de chaque alcaloïde, susceptibles d'entraîner la mort sans changement notable de la volémie. Nous avons ainsi choisi de perfuser la spartéine à 4 mg/ml et la lupanine à 10 mg/ml dans du soluté isotonique de chlorure de sodium à 9 g/l. Les animaux sont réchauffés tout au long de la perfusion.

3. 4. 2. Interprétation des enregistrements électrocardiographiques

Elle a reposé sur la recherche des paramètres suivants :

- Modifications de la fréquence cardiaque
- Modifications de l'axe QRS et détermination du temps d'apparition de sa rotation.
 - Détermination du temps d'apparition des troubles de la repolarisation (ischémie de lésion sous-épicaudique ou sous-endocardique).
 - Détermination du temps d'apparition des troubles de la conduction intraventriculaire (bloc intraventriculaire)
 - Détermination du temps d'apparition des troubles de la conduction auriculo-ventriculaire.
 - Détermination du temps de perfusion pour obtenir l'arrêt respiratoire, et dans certains cas, l'arrêt cardiaque total.

3. 4. 3. Résultats.

3. 4. 3. 1. Modifications de l'électrocardiogramme.

Les divers paramètres enregistrés sous l'action de chaque alcaloïde sont regroupés dans le tableau n°6.

3. 4. 3. 1. 1. Avec la spartéine

a) Cobaye n° 1, mâle, 330 g.

Dès la 2ème minute, apparaît une diminution nette, rapide et persistante de la fréquence cardiaque. A partir de la 5ème minute, on note une discrète lésion sous-épicaudique qui s'accroît progressivement et devient prononcée à la 9ème minute. A la 11ème minute, la fréquence cardiaque qui était au départ de 250 battements/minute passe à 120 ("tracé métabolique") et l'arrêt respiratoire intervient à la 12ème minute. L'axe QRS ne subit, par contre, aucune modification.

b) Cobaye n° 2, mâle, 355 g.

Ce cobaye a été intubé avant le début de la perfusion afin de compenser la détresse respiratoire.

Après une accélération initiale, la fréquence cardiaque initiale (200 bts/mn) chute dès la 3ème minute (190 bts/mn) pour n'être que de 150 bts/mn à la 10ème minute. Simultanément, était apparue à la 8ème minute, une ischémie sous-épicaudique puis une lésion sous-endocardique dès la 9ème minute, devenant nette à la 11ème minute et précédant de peu l'arrêt

N° ANIMAL	SUBSTANCE	FREQUENCE CARDIAQUE				Rot QRS	TROUBLES CARDIAQUES		
		0 mn	5 mn	10 mn	15 mn		Rep	CIV	CAV
1	SPARTEINE	250	160	140	-	-	5	-	-
2	SPARTEINE	200	170	150	-	-	7	-	-
3	SPARTEINE	160	120	110	-	-	8	12	-
4	LUPANINE	175	175	130	130	-	-	14	-
5	LUPANINE	225	180	200	170	-	4e - 8e	-	-
6	LUPANINE	215	190	170	-	-	-	-	-

Tableau 6 : Temps d'apparition des troubles cardiaques

Fréquence cardiaque en battements par minute

Rep : Troubles de la repolarisation

CIV : Troubles de la conduction intraventriculaire

CAV : Troubles de la conduction auriculoventriculaire.

N° ANIMAL	POIDS EN g	SUBSTANCE	TEMPS DE PERFUSION POUR		DOSES MORTELLES
			ARRÊT RESPIRATOIRE	ARRÊT CARDIAQUE	
1	330	SPARTEINE	12 min	> 12 min	24 mg
2	355	SPARTEINE	12 min	13 min 50 sec	24 mg
3	580	SPARTEINE	14 min	> 14 min	28 mg
SPARTEINE Dose mortelle moyenne = 25,3 mg					
4	350	LUPANINE	17 min	> 17 min	85 mg
5	380	LUPANINE	15 min	17 min	75 mg
6	400	LUPANINE	13 min	> 13 min	65 mg
LUPANINE Dose mortelle moyenne = 75 mg *					

Tableau 7 : Temps d'apparition de l'arrêt respiratoire et de l'arrêt cardiaque

Doses mortelles individuelles et moyennes nécessaires pour obtenir l'arrêt respiratoire

* $p < 0,01$ test "t" de Student
(pour les valeurs non appariées)

respiratoire qui intervient à la 12ème minute. L'arrêt cardiaque intervient bien après l'arrêt respiratoire, soit 13 mn 50 sec. L'axe QRS n'a subi aucune variation.

c) Cobaye n° 3, mâle, 580 g.

Cet animal présente à l'enregistrement témoin, une fréquence cardiaque à 160 bts/mn et une ischémie sous-épicaudique en D1 D2 D3. A partir de la 3ème minute, on note une bradycardie (125 bts/mn) et une diminution de l'ischémie en D1 faisant place à une onde T à la 4ème minute. Cette diminution de l'ischémie en D1 signifie l'apparition d'une ischémie sous-endocardique dès la 3ème minute. A la 5ème minute, l'ischémie disparaît en D2 et D3, la fréquence cardiaque passant à 110 bts/mn à la 8ème minute où l'on observe une lésion sous-épicaudique qui s'accroît à la 9ème minute. La bradycardie s'accroît, la fréquence cardiaque n'étant plus que de 100 bts/mn à la 11ème minute. A partir de la 12ème minute, apparaît un bloc intraventriculaire précédant de 2 minutes l'arrêt respiratoire qui intervient à la 14ème minute.

3. 4. 3. 1. 2. Avec la lupanine.

a) Cobaye n° 4, mâle,

La fréquence cardiaque initiale (175 bts/mn) est demeurée stable jusqu'à la 8ème minute, à partir de laquelle on observe une bradycardie (150 bts/mn) et une discrète diminution de l'amplitude du complexe QRS. Cette bradycardie se poursuit progressivement jusqu'à la 14ème minute (120 bts/mn) où l'on observe un élargissement du complexe QRS signifiant un bloc intraventriculaire. Entre la 15ème et la 16ème minute, le bloc intraventriculaire s'accroît et l'arrêt respiratoire survient à la 17ème minute. L'axe QRS n'a subi aucune variation.

b) Cobaye n° 5, mâle

Cet animal qui a été intubé (pour prévenir la détresse respiratoire) présente dès le départ une ischémie sous-épicaudique en D1 avec une fréquence initiale de 225 bts/mn. Après une tachycardie transitoire entre la 1ère et la 2ème minute, on observe une normalisation du tracé, avec une bradycardie à partir de la 4ème minute. Entre la 4ème et la 8ème minute, apparition d'une ischémie transitoire, mais avec une repolarisation presque normale jusqu'à la 12ème minute. A partir de la 15ème minute, on note une diminution de l'amplitude du complexe QRS, ensuite une ischémie sous-endocardique qui précède de peu la mort. L'axe QRS ne subit aucune variation. Malgré l'arrêt respiratoire, le coeur continue toujours de battre et l'arrêt cardiaque n'intervient qu'à la 17ème minute.

c) Cobaye n° 6, mâle, 400 g.

Jusqu'à l'arrêt respiratoire à la 13ème minute, on observe une diminution progressive de la fréquence cardiaque qui passe de 215 bts/mn à 155 bts/mn. On n'observe aucune autre variation par ailleurs.

3. 4. 3. 2. Dose minimum mortelle.

En fait il s'agit de la dose nécessaire pour obtenir l'arrêt respiratoire car dans certains cas, la perfusion est arrêtée avant l'arrêt cardiaque.

Connaissant la concentration de la solution de chaque alcaloïde, la vitesse de perfusion et le temps au bout duquel intervient l'arrêt respiratoire il est possible de calculer la dose minimum mortelle. Les résultats, regroupés dans le tableau n° 7 font apparaître les doses mortelles individuelles par animal, ainsi que les doses mortelles moyennes de chaque alcaloïde.

L'étude statistique à l'aide du test t de Student pour les valeurs non appariées permet de conclure à une différence significative entre la spartéine et la lupanine au seuil de $p < 0,01$.

La lupanine est moins toxique que la spartéine pour entraîner l'arrêt respiratoire chez le cobaye.

3. 4. 4. Discussion

En analysant les résultats, on remarque que, ni la spartéine, ni la lupanine n'entraînent une modification de l'axe QRS. Les modifications subies par le rythme cardiaque consistent essentiellement en une bradycardie plus précoce avec la spartéine qu'avec la lupanine. En considérant la moyenne de la diminution de la fréquence cardiaque dans chaque lot de cobayes à la 10ème minute, on s'aperçoit qu'elle est de 70 bts/mn pour la spartéine mais de 40 bts/mn pour la lupanine. Le pouvoir bradycardisant de la spartéine est donc plus précoce, plus intense que celui de la lupanine.

En ce qui concerne les troubles primaires de la repolarisation, ils sont constants et durables avec la spartéine (observés 3 fois sur 3) alors qu'ils n'ont été constatés qu'une seule fois avec la lupanine, et ce d'une manière transitoire. Ce sont surtout des lésions sous-épicaudiques, dues à une ischémie traduisant le degré de souffrance myocardique. L'absence de troubles secondaires de la repolarisation prouve donc que la dépolarisation ventriculaire n'est pas affectée.

En effet, comme on pourrait le remarquer, l'arrêt respiratoire intervient toujours avant l'arrêt cardiaque. La mise sous respiration artificielle, pour compenser la détresse respiratoire constatée chez tous les animaux permettrait de retarder ces troubles et la mort cardiaque. On aurait pu étudier la réversibilité des troubles de la repolarisation en pratiquant des perfusions intermittentes, comme dans la technique sus-citée (BOISSIER et Coll., 1965). Les troubles de la conduction ne sont pas fréquents (1 fois dans chaque lot) et apparaissent tardivement dans les rares fois qu'ils ont été observés. En définitive, cette étude a permis de constater que :

- la spartéine est plus toxique que la lupanine
- les manifestations toxiques (bradycardie, troubles de la repolarisation ...) de la spartéine sont plus précoces que celles de la lupanine.

3. 5. CONCLUSIONS GENERALES A L'ETUDE TOXICOLOGIQUE.

Dans la partie de notre travail consacrée à l'étude toxicologique, nous avons effectué pour les deux alcaloïdes :

- la détermination de la DL_0 et de la DL_{100} chez la souris par voie I.P.
- la détermination de la DL_{50} par voie I.P et par voie P.O.
- l'étude de la toxicité cardiaque chez le cobaye
- la détermination de la dose minimum mortelle chez le cobaye.

A travers tous ces essais, la spartéine se révèle plus toxique que la lupanine. Nos résultats infirment donc ceux de COUCH (1926) qui attribue la plus grande toxicité à la lupanine.

Dans la suite de ce travail, il est étudié quelques aspects de la pharmacologie des deux alcaloïdes, en faisant appel à des doses faibles non létales.

4 - ETUDE DES EFFETS SYSTEMIQUES CARDIOVASCULAIRES
ET RESPIRATOIRES CHEZ LE CHIEN

4. 1. MATERIEL ET METHODE

4. 1. 1. Principe général.

Cette étude a été effectuée chez le chien chloralosé (120 mg/Kg I.V). Sur un physiograph MK III (NARCO BIO-SYSTEMS, HOUSTON, U.S.A) les paramètres suivants ont été enregistrés :

- Pression artérielle carotidienne par voie sanglante (cathétérisme de l'artère carotide gauche - capteur de pression à jauge de contrainte) (Pressure Transducer RP 1500 NARCO).

- Electrocardiogramme (ECG) en dérivation D2 (Cardiac coupler type 7176 NARCO)

- Dynamique respiratoire par pneumographe d'impédance (Impedance Pneumograph Coupler type 7212 NARCO).

La fréquence cardiaque (FC) est déterminée à partir de l'enregistrement ECG ou à l'aide d'un dispositif d'intégration des signaux de la pression artérielle (Biotachometer Coupler type 7302 NARCO).

Les pressions artérielles systolique (PAS) et diastolique (PAD) sont déterminées graphiquement et la pression artérielle moyenne (PAM) est calculée selon la formule suivante :

$$PAM = PAD + \frac{PAS - PAD}{3}$$

4. 1. 2. Protocole expérimental

L'étude des effets de la spartéine et de la lupanine sur les paramètres cardiovasculaires et respiratoires a été menée chez 4 chiens bâtards (2 mâles et 2 femelles) numérotés de 1 à 4 et pesant de 8,5 à 12,5 kg.

Les divers enregistrements et déterminations sont pratiqués avant et après administration de spartéine ou de lupanine par voie intraveineuse (veine saphène externe) aux doses de 1, 2,5 , 5 et 7,5 mg/kg.

Les enregistrements sont pratiqués à 1, 5, 10, 20, 30, 45 minutes après les doses de 1 et 2,5 mg/Kg et jusqu'à 120 minutes après les doses de 5 et 7,5 mg/Kg.

En cas de besoin, l'anesthésie est parfaite par injection intraveineuse supplémentaire de chloralose à raison du tiers de la dose initiale.

4. 2. RESULTATS PAR ANIMAL

Les résultats sont regroupés sous forme de tableaux (cf annexes n° 3 à n° 10) dans lesquels figurent les variations des divers paramètres cardiovasculaires et respiratoires avant et après administration de spartéine ou de lupanine. Les enregistrements témoins (avant chaque dose de lupanine ou de spartéine) permettent de calculer un pourcentage de variation en + (augmentation) ou en - (diminution) des paramètres suivants :

- Pressions artérielles systolique (PAS), diastolique (PAD) et moyenne (PAM) exprimées en mm Hg.
- Fréquence cardiaque (FC) exprimée en battements par minute.
- Fréquence respiratoire (FR) exprimée en mouvements inspiratoires par minute.

4. 2. 1. Chien n° 1, mâle, 10 kg:

A la dose de 1 mg/Kg, la spartéine (cf. annexe n°3) produit une légère hypertension passagère d'une durée de 5 minutes environ, concomitante d'une légère augmentation de la PAD.

La fréquence cardiaque n'est pratiquement pas modifiée, de même que la fréquence respiratoire.

A partir de la 20ème minute, les variations sensibles observées ne semblent pas être dues à une action de la spartéine, mais plutôt à une réaction de réveil de l'animal.

La lupanine, à la dose de 2,5 mg/Kg (annexe n°4) entraîne dès la première minute après l'administration, une diminution nette de la PAS et de la PAD, une tachycardie et une augmentation de la fréquence respiratoire. La pression artérielle moyenne ne retrouve sa valeur initiale qu'après 45 minutes environ.

4. 2. 2. Chien n° 2, femelle, 12,5 kg

La spartéine, à la dose de 2,5 mg/Kg (annexe n°5) entraîne dès la première minute suivant l'administration, une légère augmentation de la PAS et de la PAD, d'où une hypertension modérée. A partir de la 5ème minute, la PAS s'inverse tandis que la PAD demeure toujours positive. Cette inversion de la PAS s'accompagne d'une augmentation de la fréquence respiratoire, mais par contre, on n'observe aucune modification de la fréquence cardiaque.

A partir de la 10ème minute, alors que la PAD retrouve sa valeur normale, la diminution de la PAS entraîne une légère hypotension qui dure jusqu'à ce que la PAM retrouve sa valeur initiale, soit 20 minutes environ.

Après 1 mg/Kg de lupanine (annexe n° 6) s'installe immédiatement une hypotension maximale à la 5ème minute, simultanée d'une diminution de la PAS et de la PAD, mais la lupanine, à cette dose, semble affecter beaucoup plus la PAS (- 15,2 %) que la PAD (- 3 %). Cette hypotension s'accompagne d'une augmentation modérée de la fréquence cardiaque et d'une dépression respiratoire.

4. 2. 3. Chien n° 3, femelle, 8,5 Kg.

Ce chien reçoit les mêmes doses de chaque alcaloïde, soit 5 mg/Kg. A cette dose, la spartéine (annexe n° 7) entraîne dès la première minute une hypotension -par suite d'une diminution simultanée de la PAS et de la PAD- associée à une bradycardie et à une augmentation de la fréquence respiratoire. A la 20ème minute, alors que la PAS retrouve sa valeur initiale, la PAD reste toujours négative jusqu'à la 30ème minute où l'on observe plus aucune variation.

A cette même dose de 5 mg/Kg, la lupanine (annexe n° 8) entraîne une hypotension beaucoup plus marquée que celle due à la spartéine à la même dose. Cette hypotension est sans nul doute le résultat des variations beaucoup plus importantes portant à la fois sur la PAS et la PAD. La bradycardie, de même que la fréquence respiratoire sont beaucoup plus prononcées que dans le cas de la spartéine.

4. 2. 4. Chien n° 4, mâle, 10 kg.

La spartéine, à la dose de 7,5 mg/Kg (annexe n° 9) reste toujours hypotensive, malgré une très brève tachycardie qui fait aussitôt place à une bradycardie beaucoup plus durable. Cette hypotension s'explique par une diminution relativement importante de la PAD par rapport à la PAS. On note également une augmentation de la fréquence respiratoire qui semble être consécutive à l'hypotension. En outre, le rythme cardiaque de ce chien qui était fortement variable est devenu régulier.

La lupanine, à cette même dose (annexe n° 10), entraîne également une hypotension beaucoup plus marquée et plus durable que celle due à la spartéine. Cette hypotension est concomitante d'une chute simultanée dans les mêmes proportions de la PAS et de la PAD. L'évolution de la fréquence respiratoire est pratiquement la même que dans le cas de la spartéine, mais la bradycardie est beaucoup moins importante.

4. 3. RESULTATS GLOBAUX

Afin d'éliminer les modifications dues à une réaction de réveil des animaux, nous allons considérer les pourcentages de variation des trois paramètres dans les 20 premières minutes suivant l'administration de chaque alcaloïde. Les valeurs des PAS, PAD et PAM sont regroupées dans le tableau n°8 celles de la fréquence cardiaque et la fréquence respiratoire figurent respectivement dans les tableaux n°9 et n°10.

4. 3. 1. La pression artérielle systolique.

La spartéine, aux doses de 1 et 2,5 mg/Kg entraîne immédiatement après l'injection, une augmentation modérée de la PAS, action très fugace qui fait place à une chute. A des doses plus fortes (5 et 7,5 mg/Kg) on observe d'emblée après l'injection, une diminution notable de la PAS.

Quant à la lupanine, à toutes les doses étudiées, elle entraîne systématiquement une réduction de la PAS.

4. 3. 2. La pression artérielle diastolique.

L'augmentation de la PAS aux doses de 1 et 2,5 mg/Kg de spartéine est simultanée d'une élévation beaucoup plus importante de la PAD, en intensité et en durée. Aux doses de 5 et 7,5 mg/Kg, la PAD chute également, mais dans des proportions beaucoup plus importantes que celles subies par la PAS.

La lupanine, à toutes les doses, entraîne une diminution intense et prolongée de la PAD, mais il apparaît qu'aux fortes doses, cette diminution est proportionnelle à celle subie par la PAS.

4. 3. 3. Conséquences sur la pression artérielle moyenne.(fig. 5 et

Les actions de la spartéine et de la lupanine sur la PAS et la PAD sont à l'origine des modifications de la pression artérielle moyenne :

- Dans le cas de la spartéine, l'hypertension passagère observée après les doses de 1 et 2,5 mg/kg semble être due à l'augmentation de la PAD, associée dans certains cas à une élévation transitoire de la PAS. Cependant, cette hypertension s'observe également, du seul fait de l'élévation de la PAD alors que la PAS est à sa valeur initiale. Par contre, aux doses plus fortes, la spartéine est toujours hypotensive du fait de la diminution simultanée de la PAS et de la PAD.

TEMPS en minutes	DOSES en mg/Kg	1			2,5			5			7,5		
		PAS	PAD	PAM	PAS	PAD	PAM	PAS	PAD	PAM	PAS	PAD	PAM
1	Spartéine	+ 2,7 (1)	+ 3,4 (1)	+ 3 (1)	+ 2,7 (2)	+ 3,2 (2)	+ 3 (2)	- 2 (3)	- 5,8 (3)	- 4 (3)	- 3,6 (4)	- 11 (4)	- 8 (4)
	Lupanine	- 7 (2)	0 (2)	- 2,8 (2)	-13,8 (1)	-15,7 (1)	-15 (1)	-32 (3)	-37 (3)	-35 (3)	-36 (4)	-43 (4)	-41 (4)
5	Spartéine	0 (1)	+ 2 (1)	+ 1,3 (1)	- 2,7 (2)	+ 3,2 (2)	+ 0,6 (2)	- 1,4 (3)	- 2,9 (3)	- 2,7 (3)	- 2,7 (4)	- 9 (4)	- 6 (4)
	Lupanine	-15,2 (2)	- 3 (2)	- 8 (2)	-12 (1)	-14,3 (1)	-13 (1)	-21 (3)	-25 (3)	-23 (3)	-29 (4)	-28 (4)	-28 (4)
10	Spartéine	0 (1)	0 (1)	0 (1)	- 2,7 (2)	0 (2)	- 1,22 (2)	- 1,4 (3)	- 2,9 (3)	- 2,7 (3)	- 1,3 (4)	- 9 (4)	- 5,9 (4)
	Lupanine	- 7 (2)	0 (2)	- 2,8 (2)	-13,8 (1)	- 7 (1)	- 9 (1)	-23 (3)	-28 (3)	-26 (3)	-31 (4)	-31 (4)	-31 (4)
20	Spartéine	0 (1)	+ 2 (1)	+ 1,2 (1)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (3)	- 2,9 (3)	- 1 (3)	- 1,3 (4)	- 9 (4)	- 5,9 (4)
	Lupanine	0 (2)	0 (2)	0 (2)	- 5,5 (1)	0 (1)	- 1,9 (1)	-28 (3)	-31 (3)	-30 (3)	-26 (4)	-28 (4)	-27 (4)

TABLEAU 8: Pourcentages de variation de la PAS, de la PAD, de la PAM en fonction de différentes doses de Lupanine et de spartéine chez différents chiens. Les chiffres () correspondent aux numéros des chiens et renvoient aux annexes correspondantes.

Temps en minutes	Doses en mg/Kg	1	2,5	5	7,5
1	Spartéine	0	0	- 16	+ 19
	Lupanine	+ 12	-	- 28	- 2
5	Spartéine	0	0	- 16	- 40
	Lupanine	+ 7	-	- 28	- 10
10	Spartéine	0	0	- 16	- 40
	Lupanine	-	+ 9	- 32	- 13
20	Spartéine	- 7	0	- 16	- 42
	Lupanine	0	+ 13,6	- 32	- 7

TABLEAU 9 : Pourcentages de variation de la fréquence cardiaque en fonction de différentes doses de Lupanine et de Spartéine chez différents chiens.

Temps en minutes	Doses en mg/Kg	1	2,5	5	7,5
1	Spartéine	0	0	+ 27	+ 83
	Lupanine	- 9,5	+ 22	+ 44	+ 50
5	Spartéine	- 4	+ 20	+ 18	+ 16
	Lupanine	- 33	+ 16	+ 40	+ 33
10	Spartéine	-	+ 20	+ 18	+ 16
	Lupanine	-	+ 11	+ 37	+ 16
20	Spartéine	+ 15	+ 20	+ 27	+ 33
	Lupanine	- 33	+ 11	+ 37	+ 16

TABLEAU 10: Pourcentages de variation de la fréquence respiratoire en fonction de différentes doses de Spartéine et de Lupanine chez différents chiens.

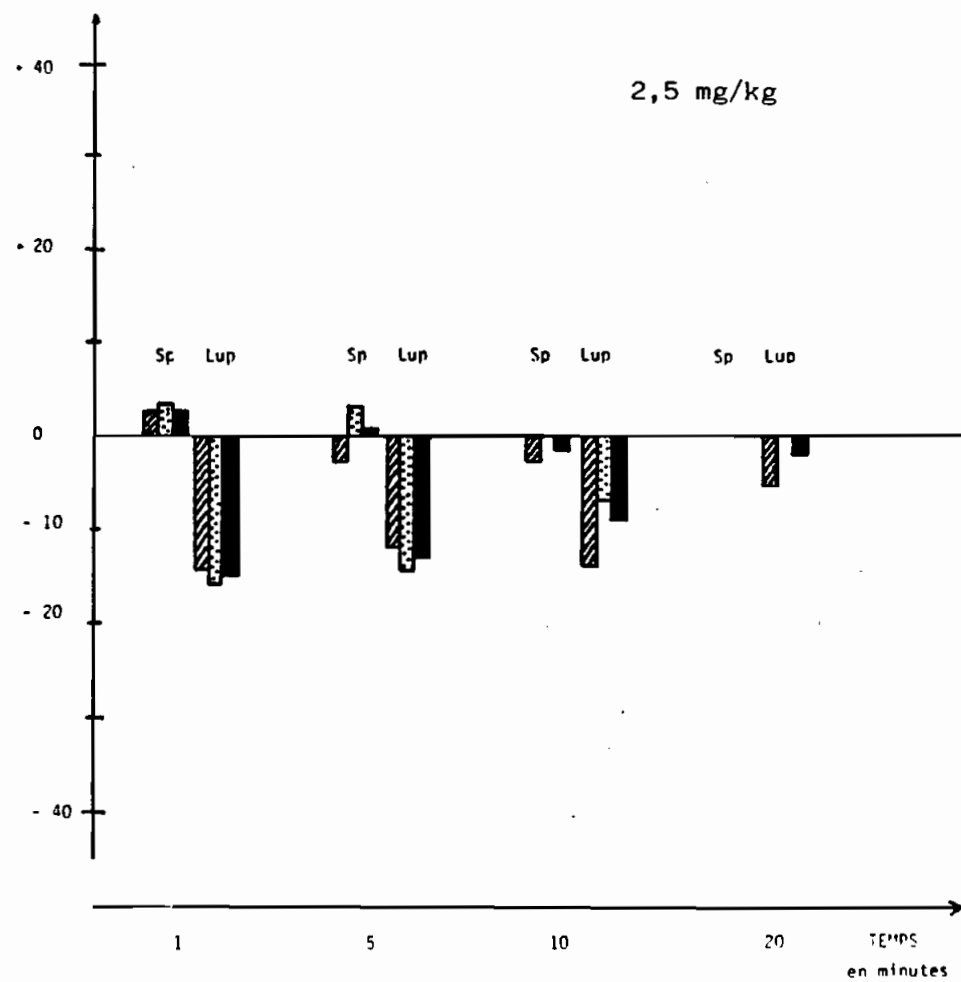
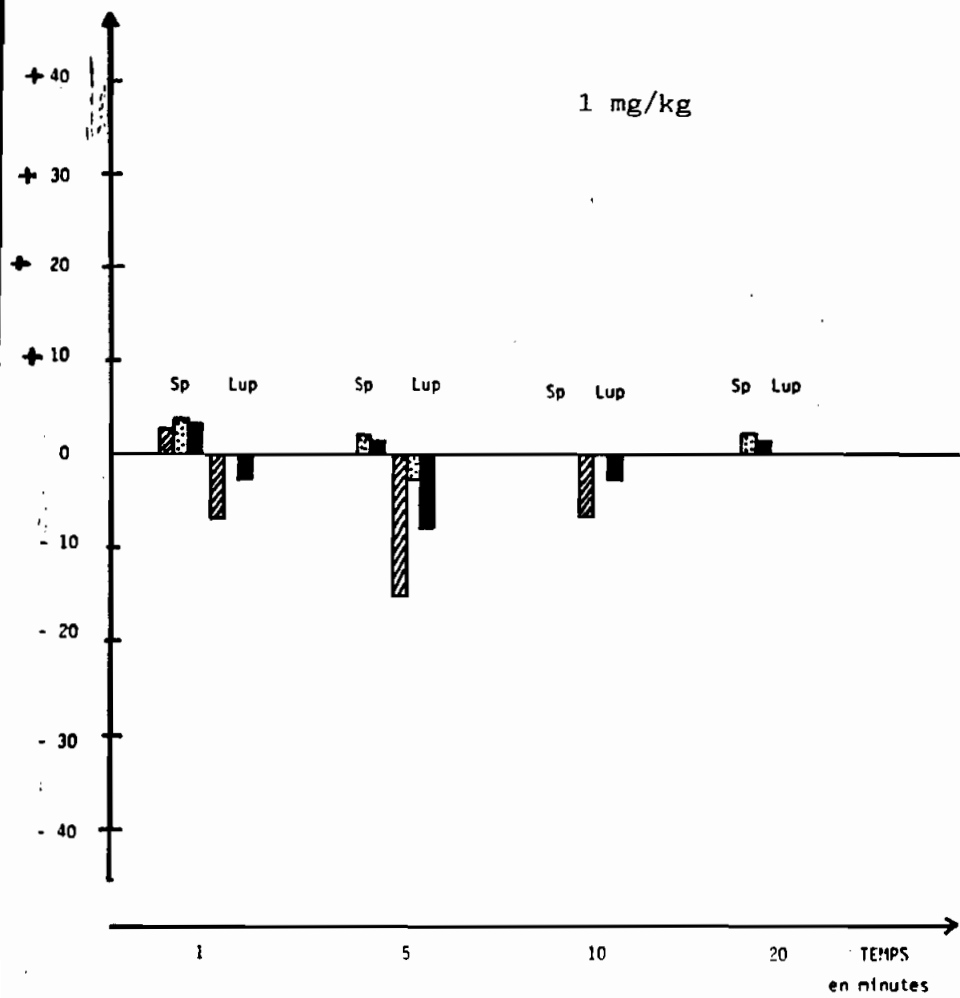
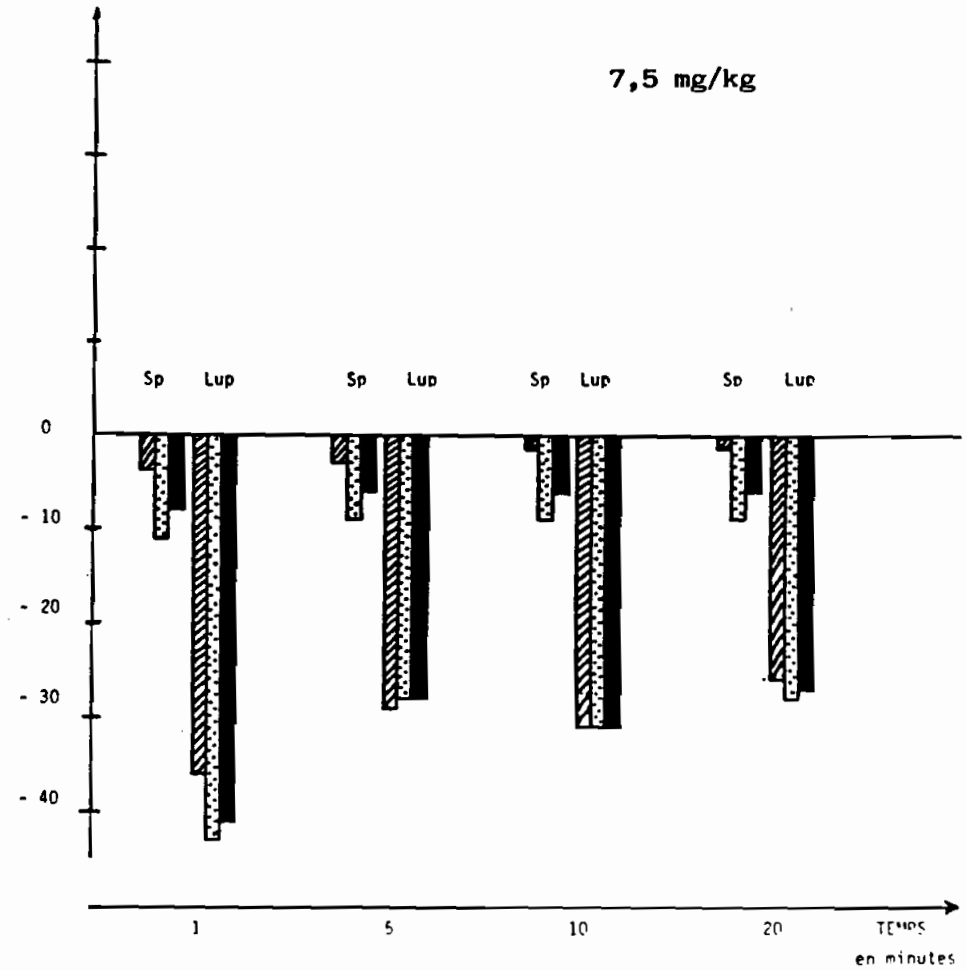
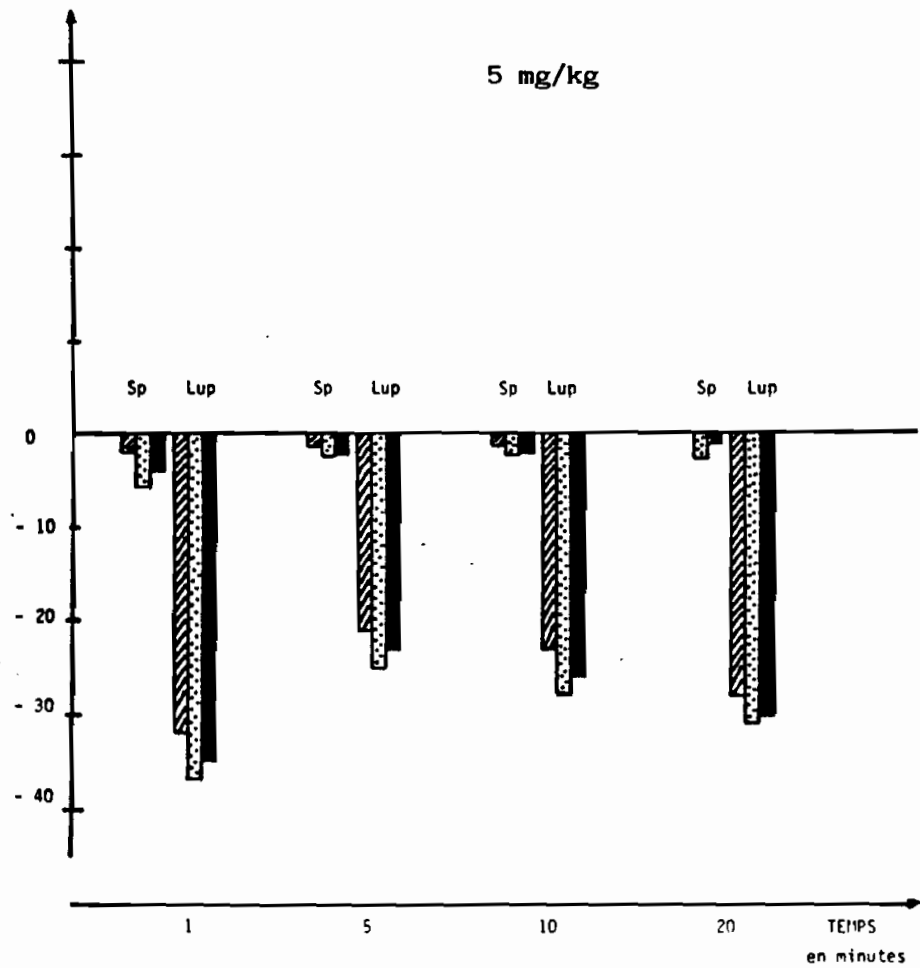


Fig. 5 : CONSEQUENCES DES VARIATIONS DE LA PAS ET DE LA PAD SUR LA PAM



PAS

PAD

PAM

Fig. 6 : CONSEQUENCES DES VARIATIONS DE LA PAS ET DE LA PAD SUR LA PAM

- La lupanine, quelle que soit la dose est toujours hypotensive, résultat de la diminution de la PAS et de la PAD.

L'origine de cette dualité d'action de la spartéine et les mécanismes s'y rapportant seront invoqués au paragraphe de la discussion.

4. 3. 4. La fréquence cardiaque.

L'analyse du tableau 9 montre que les faibles doses de spartéine (1 et 2,5 mg/Kg) n'ont pratiquement pas affecté la fréquence cardiaque alors qu'on observe un effet tachycardisant avec les mêmes doses de lupanine. A partir de 5 mg/Kg, apparaît une bradycardie pour les deux alcaloïdes et celle due à la spartéine paraît plus importante à 7,5 mg/Kg.

4. 3. 5. La fréquence respiratoire.

Les résultats obtenus sont rassemblés sur le tableau n°10. A partir de 2,5 mg/kg s'installe une nette tendance à une stimulation des mouvements inspiratoires probablement consécutive à l'effet hypotenseur des 2 alcaloïdes.

4. 4. DISCUSSION

Comme il a été mentionné dans la littérature (LU, 1952), les modifications provoquées par la spartéine sur les paramètres cardiovasculaires s'expliquent d'une part par l'action directe sur les fibres lisses des vaisseaux, d'autre part par les propriétés ganglioplégiques.

L'élévation transitoire de la PAD, observée aux faibles doses est le reflet d'une augmentation des résistances périphériques due à l'action vasoconstrictrice déjà décrite (MERCIER et Coll., 1932 ; LU, 1952).

L'hypotension qui s'observe aux fortes doses s'explique essentiellement par les propriétés ganglioplégiques qui affectent à la fois le débit cardiaque et les résistances périphériques totales. Au niveau cardiaque, la spartéine, comme beaucoup de ganglioplégiques, produirait une réduction du débit cardiaque par suite d'une diminution du retour veineux vers le coeur. Cette réduction du retour veineux est la conséquence d'une dilatation des vaisseaux de capacité par suite d'une inhibition de leur tonus sympathique en particulier, mais aussi de celui de tous les vaisseaux en général, d'où une diminution des résistances périphériques.

La diminution du débit cardiaque et celle des résistances périphériques totales expliquent la chute de la PAS et de la PAD qui est à l'origine de l'hypotension. Participent également à cette action hypotensive, les effets bradycardisants (MERCIER et Coll., 1925) de la spartéine malgré l'inotropisme positif propre qu'elle entraîne (HAZARD, 1950). En nous référant aux hypothèses avancées antérieurement (MERCIER et Coll., 1931; LU, 1952) concernant les actions de la spartéine, actions que nous avons retrouvées, nous tenterons d'expliquer les différences observées d'avec la lupanine dans nos conditions expérimentales :

- La lupanine, aux faibles doses, n'entraîne pas d'hypertension. Elle ne posséderait donc pas une action vaso-constrictrice directe.

- Quelle que soit la dose, la lupanine entraîne une diminution nette simultanée de la PAS et de la PAD, mais les variations portant sur la PAD sont beaucoup plus importantes. Elle abaisse donc les résistances périphériques, de même que le débit cardiaque.

- Comparativement à la spartéine, les variations provoquées par la lupanine sont beaucoup plus précoces et beaucoup plus durables, témoignant d'une cinétique d'action différente.

- La lupanine est bradycardisante aux fortes doses, tout comme la spartéine, mais à faibles doses, on observe une légère tachycardie qui n'influence pas son action hypotensive. D'ailleurs, cet effet n'a été observé que d'une façon transitoire, en dehors de tout effet ganglioplégique.

4. 5. CONCLUSIONS

Dans nos conditions expérimentales, la spartéine et la lupanine modifient les paramètres cardiovasculaires et respiratoires chez le Chien :

- Sur la pression artérielle, les deux alcaloïdes exercent un effet hypotenseur. La seule différence majeure est une hypotension précoce, intense et plus durable provoquée par la lupanine, alors que la spartéine entraîne aux faibles doses, une élévation passagère de la pression artérielle précédant une hypotension modérée et de courte durée.

- Sur la fréquence cardiaque, l'action provoquée par les deux alcaloïdes dépend de l'état de stimulation du système nerveux autonome, mais on observe une nette prédominance de la bradycardie.

- Sur la fréquence respiratoire, les deux alcaloïdes provoquent une augmentation du rythme simultanée de l'hypotension qu'ils entraînent.

5. 1. PRINCIPE GENERAL

L'étude a été conduite chez le chat chloralosé (75 mg/Kg I.P) dans les mêmes conditions techniques que celles concernant les effets directs sur le chien (paragraphe 4. 1.).

Les divers paramètres (pression artérielle systolique = PAS ; pression artérielle diastolique = PAD ; fréquence cardiaque = FC) et leurs variations consécutives à diverses injections ou stimulations mesurant la réactivité du système nerveux autonome sont enregistrés avant (étalonnage de l'animal) et après l'administration de spartéine ou de lupanine à différentes doses.

5. 2. METHODOLOGIE

Les injections et stimulations suivantes ont été pratiquées :

5. 2. 1. Exploration du système sympathique.

- Adrénaline : ADR 5 mcg/Kg : effets $\beta 1$, $\beta 2$
- Noradrénaline : NAD 5 mcg/Kg : effets $\beta 1$
- Néosynéphrine : NEOSY 5 mcg/Kg : effets
- Isoprénaline : ISOP 1 mcg/Kg : effets $\beta 1$, $\beta 2$
- Occlusion de la carotide libre (20 secondes) : OC : déclenchement d'un réflexe sympathomimétique central.

5. 2. 2. Exploration du système parasympathique.

- Stimulation électrique d'un nerf pneumogastrique (X) en direction périphérique cardiaque (Xp)
- Acétylcholine : ACH 1 mcg/Kg : effets muscariniques.

5. 2. 3. Exploration du système histaminergique.

L'histamine est injectée à 1 mcg/Kg pour la mise en évidence d'un éventuel effet antihistaminique.

5. 3. PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

Toutes les injections de réactifs pharmacologiques sont pratiquées par voie intraveineuse rapide (5 à 10 sec.) après un intervalle de temps constant.

Par contre, les administrations de lupanine ou de spartéine sont faites en injection lente (1 min.).

La détermination de la réactivité du système nerveux autonome avant et après administration de lupanine ou de spartéine a été menée chez 3 chats (2 femelles et 1 mâle numérotés de 1 à 3) selon les modalités générales suivantes :

- étalonnage de l'animal
- injection de spartéine ou de lupanine
- tests après traitement selon le même ordre d'étalonnage
- repos de l'animal 45 minutes environ et nouvelle anesthésie éventuelle
- nouvel étalonnage de l'animal et ainsi de suite ...

La batterie totale des tests définie précédemment demande environ 90 à 120 minutes, chaque injection ou stimulation étant pratiquée après retour à la normale (si possible) des paramètres cardiovasculaires.

Les alcaloïdes ont été étudiés aux doses de : 0,5 - 1 - 1,5 - 2 - 4 mg/Kg pour la spartéine et 1 - 2 - 3 - 4 - 5 mg/Kg pour la lupanine.

5. 4. RESULTATS

Les résultats sont présentés sous forme de tableaux et d'histogrammes où figurent les différences entre les valeurs des PAS et PAD, respectivement avant et après l'administration des différentes doses de chaque alcaloïde. Pour plus de clarté, nous avons regroupé les résultats par réactif pharmacologique.

5. 4. 1. Actions sur la PAS et la PAD.

5. 4. 1. 1. LA SPARTEINE

5. 4. 1. 1. 1. Résultats des interactions.

a) Interaction avec l'adrénaline (figure n° 7 et tableau n°11).

CHAT N°	1		1		3		3		3	
DIFFERENCE mm Hg	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
AVANT	+ 85	+ 70	+ 50	+ 40	+ 40	+ 20	+ 40	+ 20	+ 35	+ 20
SPARTEINE mg/Kg I.V	0,5		1		1,5		2		4	
APRES	+ 110	+ 50	+ 45	+ 40	+ 35	+ 25	+ 40	+ 20	+ 45	+ 25

+ : augmentation

Tableau 11 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC L'ADRENALINE

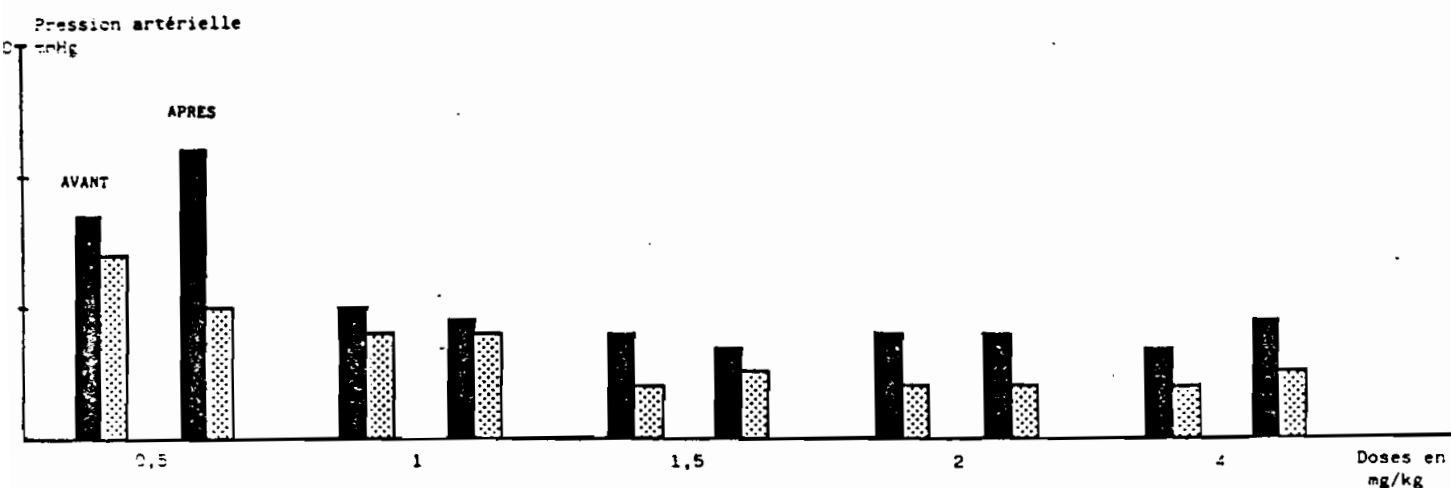


Fig. 7 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC L'ADRENALINE

— PAS

... PAD

Chez le chat n° 1, à la dose de 0,5 mg/Kg on note une légère potentialisation* de la PAS, mais par contre un petit antagonisme vis à vis de la PAD. Cette action n'a pas été retrouvée lors de l'administration d'une dose double (1 mg/Kg) sur le même animal. Sur le Chat n° 3, les doses de 1,5 - 2 - 2,5 mg/Kg n'ont entraîné aucune variation notable portant sur la PAS et la PAD de cet animal.

b) Interaction avec la noradrénaline (fig. n°8 et tableau n°12)

Les doses de 0,5 - 1 - 1,5 et 2 mg/Kg de spartéine n'ont pas entraîné de variation dans les valeurs des PAS et PAD sous l'action de la noradrénaline. Cependant la dose de 4 mg/Kg (chat n° 3) a entraîné une potentialisation simultanée des PAS et PAD, les valeurs passant du simple au double.

c) Interaction avec la néosynéphrine (fig. n° 9 et tableau n°13).

Si la dose de 1 mg/Kg (chat n° 1) n'a entraîné aucune variation, on note par contre une légère potentialisation de l'élévation de la PAS et de la PAD surtout à la dose de 2 mg/Kg.

d) Interaction avec l'isoprénaline (fig. n°10 et tableau n°14).

On note à 1,5 et 2 mg/Kg, une légère potentialisation de la chute de la PAS et de la PAD, mais cette action n'a pas été renouvelée à 4 mg/Kg où les différences entre les valeurs avant et après spartéine sont strictement identiques.

e) Interaction avec l'acétylcholine (fig. n°11 et tableau n°15).

Après toutes les doses de spartéine, l'acétylcholine a toujours entraîné une chute simultanée de la PAS et de la PAD dans les mêmes proportions qu'avant l'administration de l'alcaloïde.

f) Interaction avec l'histamine (fig. n°12 et tableau n°16)

On n'observe aucune variation de la PAS et de la PAD quelle que soit la dose de spartéine.

g) Interaction avec l'occlusion carotidienne (fig. n° 13 et tableau n°17).

L'interaction des différentes doses de spartéine avec l'élévation de la PAS et de la PAD, due à l'occlusion carotidienne n'entraîne pas de variation importante par rapport à leur valeur avant l'administration de l'alcaloïde. Cependant, on note un petit antagonisme de l'hypertension à la plus forte dose étudiée (4 mg/Kg chez le chat n° 3).

* potentialisation de l'élévation de la PAS.

CHAT N°	1		1		3		3		3	
DIFFERENCE mm Hg	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
AVANT	+ 125	+ 80	+ 110	+ 70	+ 90	+ 60	+ 80	+ 55	+ 35	+ 20
SPARTEINE mg/Kg I.V	0,5		1		1,5		2		4	
APRES	+ 125	+ 70	+ 110	+ 80	+ 72	+ 68	+ 85	+ 65	+ 70	+ 45

+ : augmentation

Tableau 12 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC LA NORADRENALINE

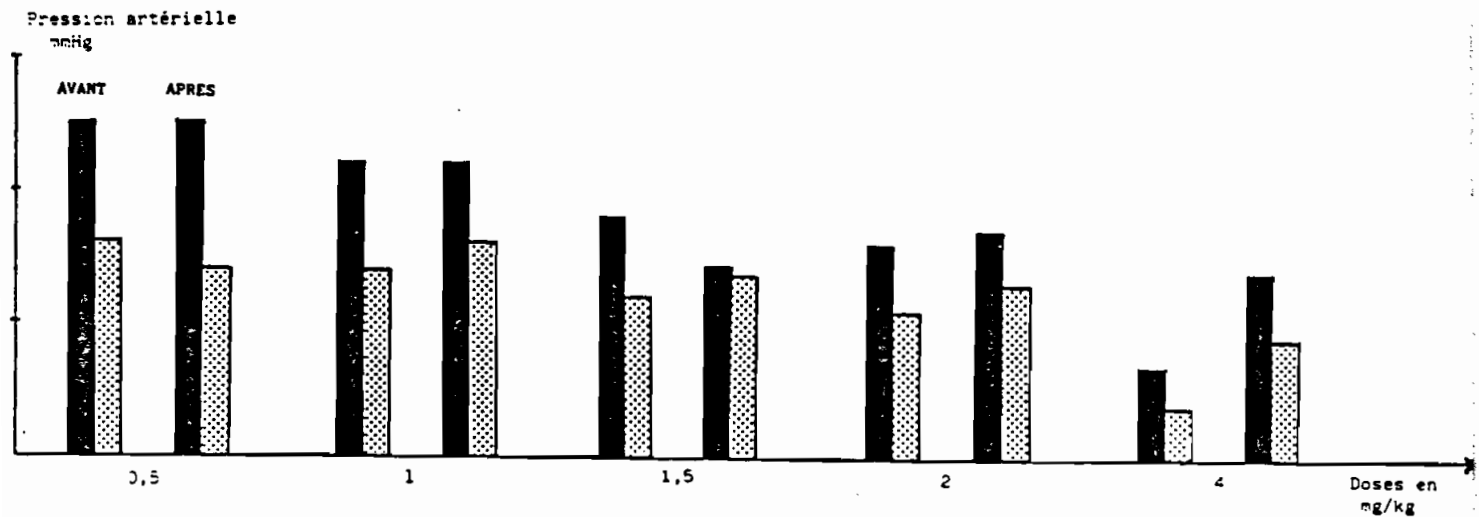


Fig. 8 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC LA NORADRENALINE

— PAS
 PAD

CHAT N°	1		1		3		3		3	
DIFFERENCE mm Hg	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
AVANT	-	-	+ 60	+ 50	+ 20	+ 15	+ 20	+ 15	+ 25	+ 25
SPARTEINE mg/Kg I.V.	0,5		1		1,5		2		4	
APRES	-	-	+ 55	+ 45	+ 32	+ 20	+ 40	+ 30	+ 35	+ 25

+ : augmentation

Tableau 13 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC LA NEOSYNEPHRINE

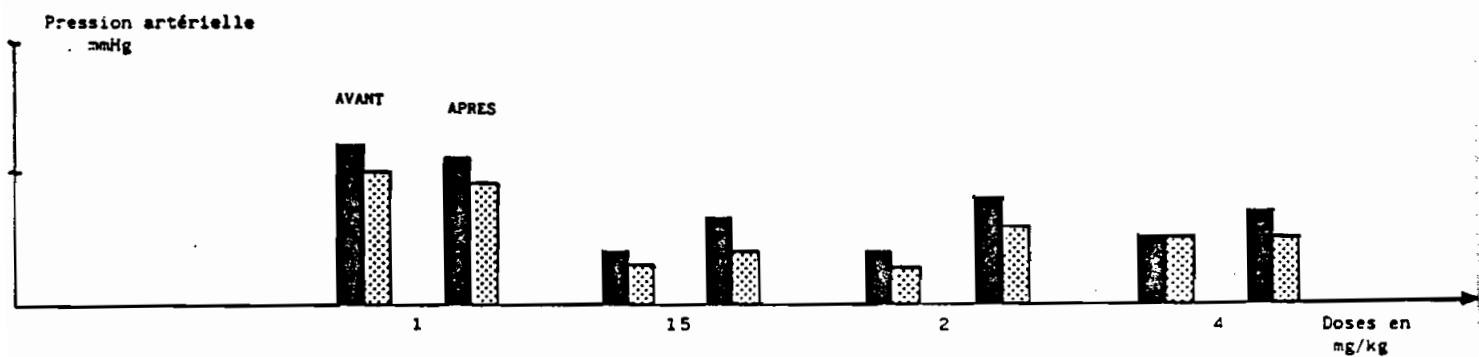


Fig. 9 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC LA NEOSYNEPHRINE

— PAS

.... PAD

CHAT N°	1		1		3		3		3	
DIFFERENCE mm Hg	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
AVANT	- 10	- 45	- 15	- 60	- 25	- 45	- 25	- 60	- 40	- 60
SPARTEINE mg/Kg I.V	0,5		1		1,5		2		4	
APRES	- 5	- 60	- 20	- 60	- 40	- 70	- 40	- 70	- 40	- 65

- : diminution

Tableau 14 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC L'ISOPRENALINE

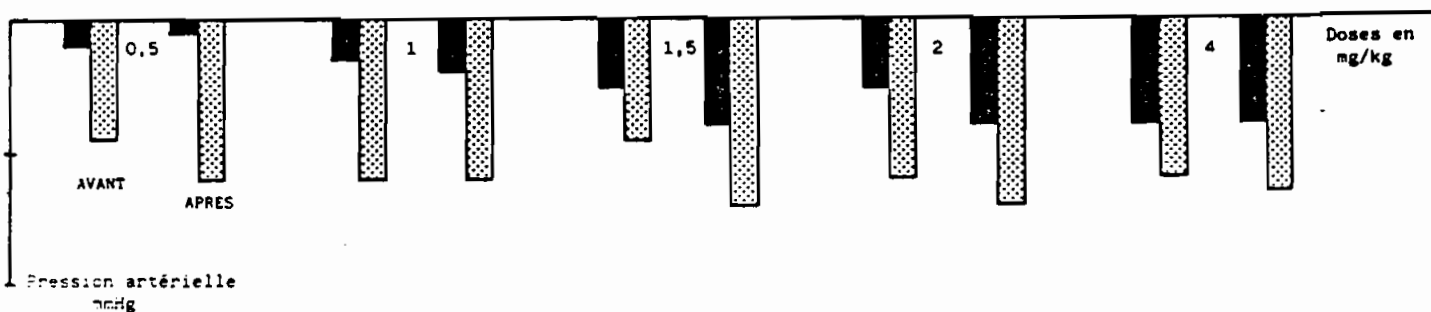


Fig. 10 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC L'ISOPRENALINE

— PAS
 PAD

CHAT N°	1		1		3		3		3	
DIFFERENCE mm Hg	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
AVANT	- 40	- 55	- 53	- 60	- 55	- 60	- 50	- 60	- 62	- 65
SPARTEINE mg/Kg I.V	0,5		1		1,5		2		4	
APRES	- 50	- 60	- 50	- 55	- 60	- 65	- 60	- 65	- 60	- 67

- : diminution

Tableau 15 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC L'ACETYLCHOLINE

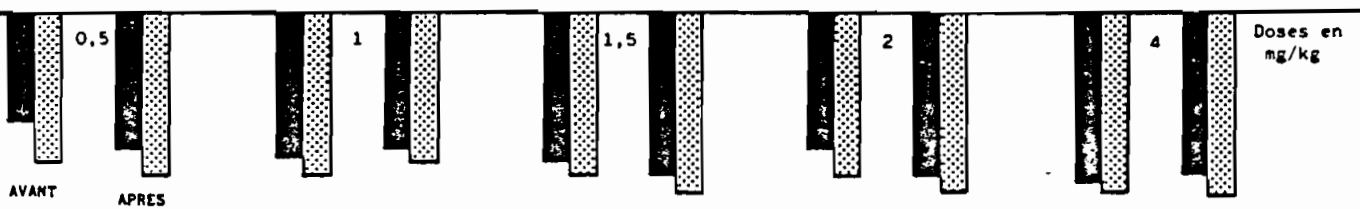


Fig. 11 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC L'ACETYLCHOLINE

— PAS
 PAD

Pression artérielle
 mmHg

CHAT N°	1		1		3		3		3	
	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
DIFFERENCE mm Hg	- 25	- 55	- 25	- 50	- 45	- 60	- 55	- 65	- 52	- 65
SPARTEINE mg/Kg I.V	0,5		1		1,5		2		4	
APRES	- 30	- 65	- 30	- 55	- 50	- 65	- 60	- 70	- 55	- 60

- : diminution

Tableau 16 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC L'HISTAMINE

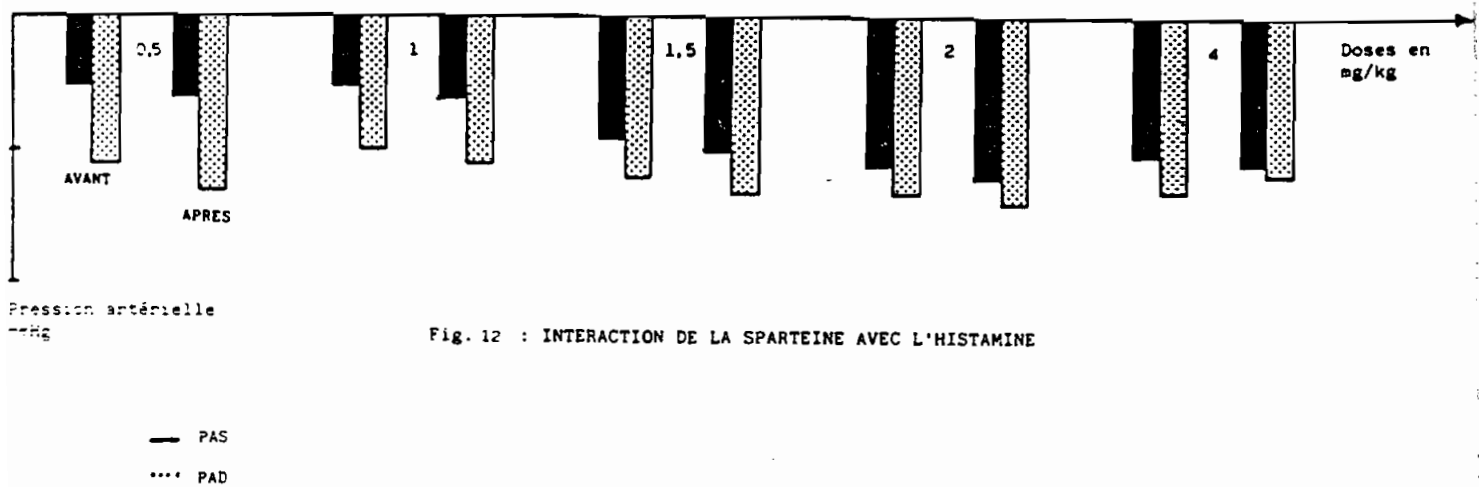


Fig. 12 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC L'HISTAMINE

CHAT N°	1		1		3		3		3	
DIFFERENCE mm Hg	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
AVANT	+ 35	+ 40	+ 25	+ 30	+ 35	+ 30	+ 60	+ 45	+ 70	+ 50
SPARTEINE mg/Kg I.V	0,5		1		1,5		2		4	
APRES	+ 35	+ 35	+ 30	+ 27	+ 40	+ 30	+ 55	+ 50	+ 50	+ 35

+ : augmentation

Tableau 17 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC L'OCLUSION DE LA CAROTIDE

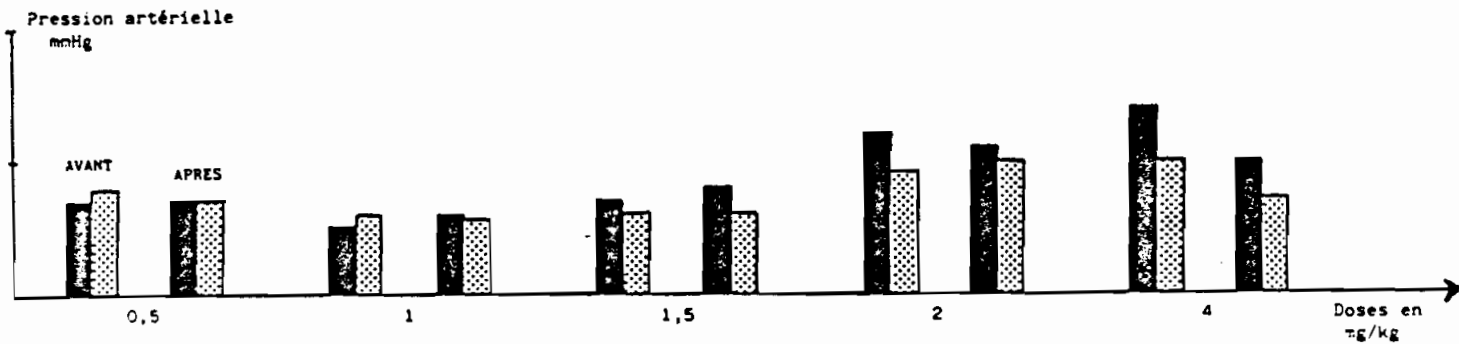


Fig. 13 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC L'OCLUSION DE LA CAROTIDE

— PAS
 PAD

h) Interaction avec la stimulation du pneumogastrique (fig. n° 14 et tableau n° 18).

La stimulation du nerf pneumogastrique en direction cardiaque annulant la PAS, seule la PAD a été mesurée. Ce n'est qu'à 4 mg/Kg qu'on observe un léger antagonisme vis à vis de la chute de la PAD induite par la stimulation de ce nerf.

5. 4. 1. 1. 2. Synthèse et discussion.

L'analyse des résultats obtenus dans nos conditions expérimentales montre que :

- dans le domaine du système sympathique, la spartéine aurait tendance à exercer une action potentialisatrice, portant simultanément sur la PAS et la PAD. Vis à vis de l'adrénaline et de la noradrénaline en particulier, cette action potentialisatrice de la spartéine, décrite antérieurement (HAZARD, 1932, 1933, 1950) est interprétée d'une part comme une sensibilisation des terminaisons adrénérgiques à leurs excitants habituels et d'autre part par un effet vasoconstricteur propre de la spartéine. La spartéine interviendrait même pour amplifier et prolonger leur action hypertensive cardiovasculaire. Une autre propriété à rapprocher de cette constatation est que la spartéine, contrairement à ce qui s'observe chez le chien est hypertensive chez le chat (HAZARD et Coll., 1962) et son action propre s'ajoute à celle des catécholamines. Cette action ne peut être étudiée en fonction de différentes doses de spartéine sur le même animal en raison du fait que la spartéine ne renouvelle pas ses effets tensionnels chez le chat (HAZARD et Coll., 1962). A ces résultats, devront s'ajouter ceux obtenus avec l'isoprénaline, la néosynéphrine et l'occlusion carotidienne. Avec l'isoprénaline, la spartéine n'a entraîné aucun changement des actions classiques (hypotension par stimulation des récepteurs β 2 inotropisme positif ...). La légère potentialisation observée avec la néosynéphrine est à rapprocher des résultats obtenus par HAZARD et Coll. (1962) : la spartéine est un antagoniste de la yohimbine (α^-), action lui attribuant de discrètes propriétés α^+ .

Quant à ce qui concerne le blocage du réflexe de l'occlusion carotidienne observé sur un seul animal, on doit rapprocher ce résultat de l'action inhibitrice que provoque la spartéine sur les réflexes vasomoteurs sinocarotidiens (VALETTE, 1964) qui mettent en jeu le ganglion sympathique cervical. Cette action n'a été observée par LU (1952) qu'à partir d'une dose de 5 mg/Kg.

CHAT N°	1		1		3		3		3	
	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
DIFFERENCE mm Hg	-	- 75	-	- 90	-	- 40	-	- 45	-	- 45
SPARTEINE mg/Kg I.V	0,5		1		1,5		2		4	
APRES	-	- 80	-	- 80	-	- 40	-	- 45	-	- 30

- : diminution

Tableau 18 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC LA STIMULATION DU PNEUMOGASTRIQUE

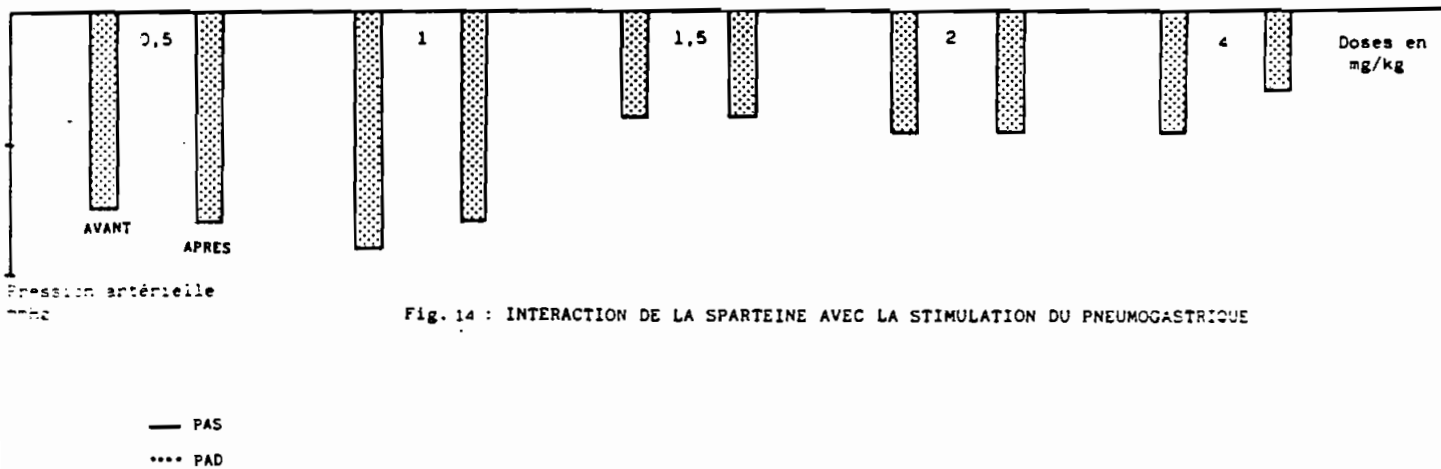


Fig. 14 : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC LA STIMULATION DU PNEUMOGASTRIQUE

- dans le domaine du système parasympathique, la spartéine n'interfère pas avec les actions muscariniques hypotensives de l'acétylcholine, ni ne les antagonise, ni ne les potentialise. Par contre, la plus forte dose étudiée (4 mg/Kg) a entraîné un antagonisme partiel de la chute de la pression artérielle diastolique lors de la stimulation du pneumogastrique en direction cardiaque.

Cette différence d'action sur les effets périphériques muscariniques de l'acétylcholine d'une part, et sur la transmission ganglionnaire d'autre part, témoigne des propriétés ganglioplégiques de la spartéine, largement exposées au paragraphe 2. 3. 2. 2.

A ces propriétés ganglioplégiques, doit être également rattachée l'action inhibitrice partielle qu'exerce la spartéine sur le réflexe de l'occlusion carotidienne. Mais, comme on peut le constater en analysant nos résultats, les doses susceptibles d'exercer un début d'antagonisme vis à vis de la stimulation du pneumogastrique respectent le réflexe de l'occlusion carotidienne. L'antagonisme de ce dernier n'apparaît, dans ces conditions qu'à des doses auxquelles celui de la stimulation du nerf vague était déjà évident. Il nous semble possible de rapprocher cette observation de celle de MERCIER (1948) qui écrit : "... chez la grenouille, la spartéine, comme la conicine, paralyse le vague, mais laisse subsister l'excitabilité du sinus ...".

D'autre part, HAZARD (1950) rapporte que la spartéine coupe la conduction au niveau des ganglions sympathiques, mais les terminaisons sympathiques restent sensibles ou sont rendues plus sensibles à l'excitation.

A notre avis, tout se passe comme s'il existait une différence de sensibilité entre le système sympathique et le système parasympathique vis à vis des effets de la spartéine.

- Enfin, quant à l'histamine, devant l'absence d'interférence de la spartéine et des effets tensionnels de l'histamine exogène, aucune donnée ne nous permet de conclure quant aux autres actions de cette amine.

5. 4. 1. 2. LA LUPANINE.

Bien que la présente étude soit consacrée à l'étude des interactions de la lupanine avec divers réactifs pharmacologiques, il est possible, avant le début des tests, d'objectiver son action propre sur les paramètres cardiovasculaires du chat. L'analyse des tracés obtenus permet de conclure à un effet hypotenseur conséquence de la chute simultanée de la PAS et de la PAD.

Il faudra donc souligner, qu'à la différence de la spartéine qui est hypertensive chez le chat (HAZARD et Coll., 1963) -action que nous avons retrouvée- la lupanine est hypotensive chez ce même animal.

5. 4. 1. 2. 1. Résultats des interactions.

a) Interaction avec l'adrénaline (fig. n° 15 et tableau n°19)

On observe sur tous les animaux une nette potentialisation de l'élévation, aussi bien de la PAS que de la PAD. Cette potentialisation semble être dose-dépendante, les plus fortes doses entraînant les plus grandes différences entre les valeurs d'avant test et celles d'après test.

b) Interaction avec la noradrénaline (fig. n°16 et tableau n°20)

La potentialisation observée avec l'adrénaline se retrouve, mais elle est beaucoup moins prononcée.

c) Interaction avec la néosynéphrine (fig. n° 17 et tableau n° 21)

Ce n'est qu'à la dose de 5 mg/Kg (chat n° 2) qu'on observe une légère potentialisation de l'élévation de la PAS et de la PAD.

d) Interaction avec l'isoprénaline (fig. n° 18 et tableau n°22).

Les variations observées, bien que négligeables, portent beaucoup plus sur la PAS que la PAD. Il s'agit en général d'un antagonisme partiel.

e) Interaction avec l'acétylcholine (fig. n° 19 et tableau n° 23).

La lupanine, quelle que soit la dose, entraîne peu de variations vis à vis de la chute de la PAS et de la PAD, sauf à la dose de 3 mg/Kg (chat n° 2) à laquelle on observe une légère potentialisation de la chute de la PAS.

f) Interaction avec l'histamine (fig. n° 20 et tableau n° 24).

Les variations observées entre les valeurs de la PAS et de la PAD d'avant test et celles d'après test sont négligeables.

CHAT N°	1		1		2		2		2	
DIFFERENCE mm Hg	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
AVANT	+ 40	+ 30	+ 60	+ 30	+ 75	+ 45	+ 63	+ 35	+ 120	+ 95
LUPANINE mg/kg I.V.	1		2		3		4		5	
APRES	+ 65	+ 55	+ 105	+ 75	+ 120	+ 90	+ 150	+100	+ 150	+128

+ : augmentation

Tableau 19 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC L'ADRENALINE

Pression artérielle
en mmHg

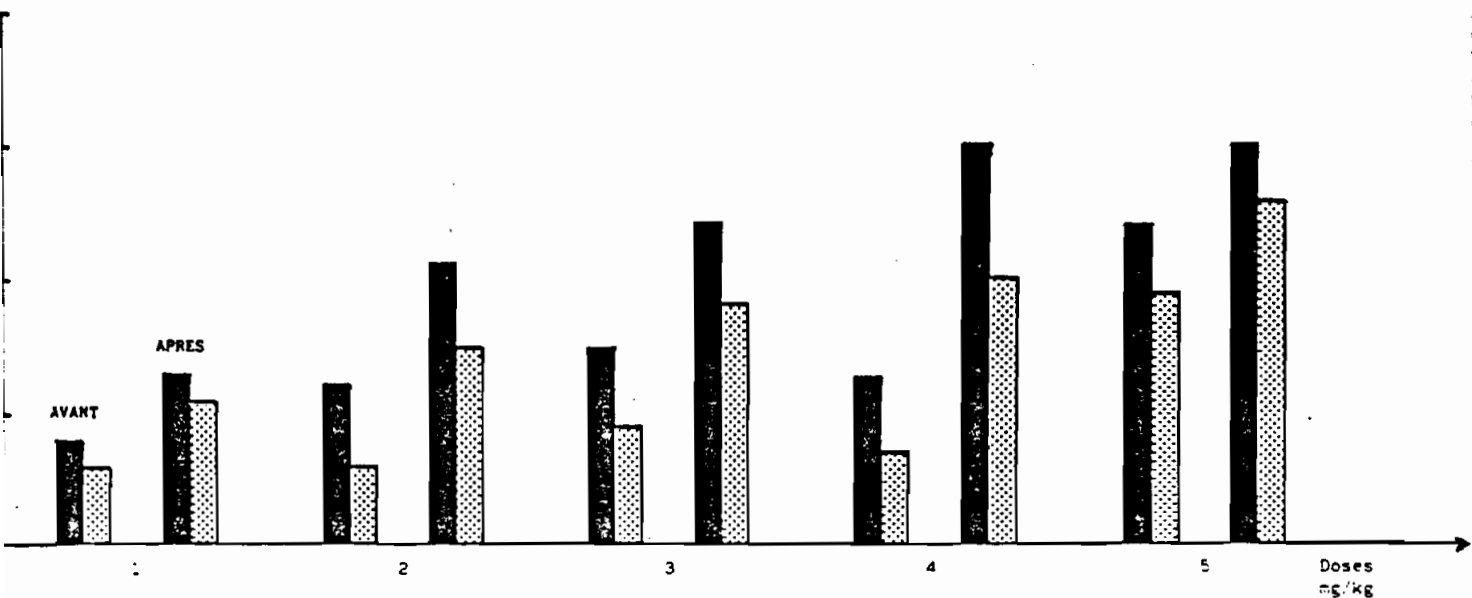


Fig 15 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC L'ADRENALINE

— PAS
.... PAD

CHAT N°	1		1		2		2		2	
DIFFERENCE mm Hg	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
AVANT	+ 102	+ 60	+ 110	+ 65	+ 91	+ 52	+ 82	+ 48	+ 120	+ 85
LUPANINE mg/Kg I.V	1		2		3		4		5	
APRES	+ 125	+ 90	+ 120	+ 85	+ 140	+ 95	+ 160	+ 105	+ 175	+ 125

+ : augmentation

Tableau 20 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC LA NORADRENALINE

Pression artérielle
mmHg

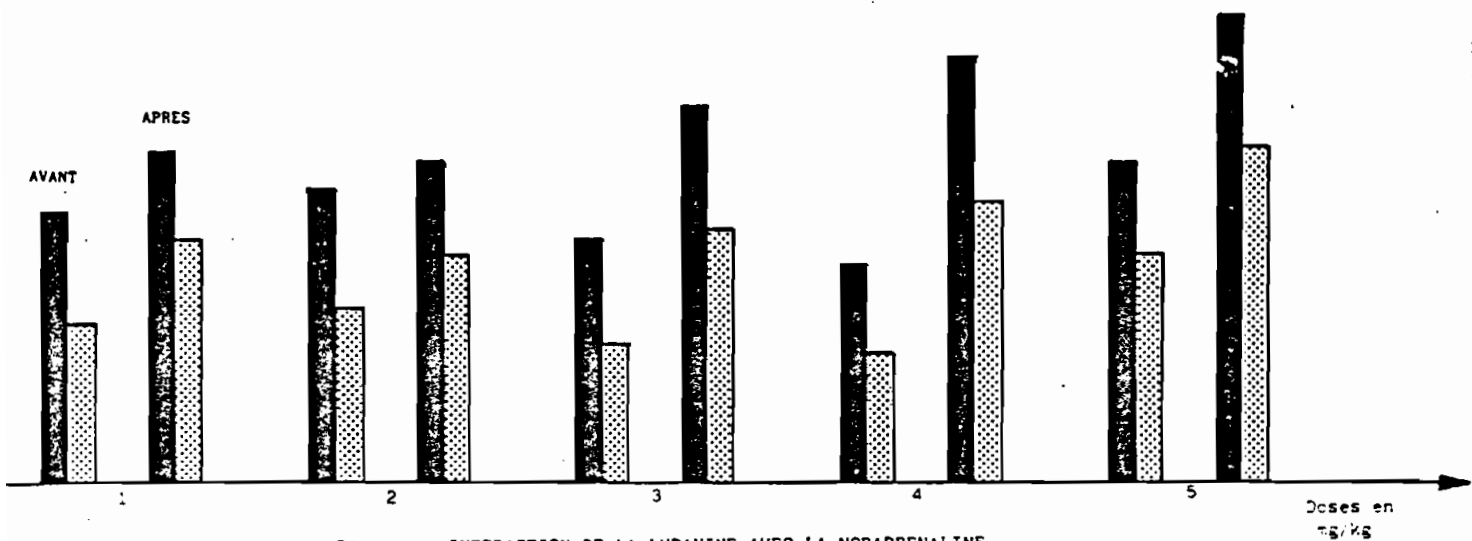


Fig 16 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC LA NORADRENALINE

— PAS
.... PAD

DIFFERENCE mm Hg	1		1		2		2		2	
	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
AVANT	+ 60	+ 45	+ 80	+ 60	+ 70	+ 48	+ 65	+ 38	+ 58	+ 40
LUPANINE mg/Kg I.V	1		2		3		4		5	
APRES	+ 65	+ 55	+ 80	+ 62	+ 70	+ 55	+ 65	+ 35	+ 105	+ 85

+ : augmentation

Tableau 21 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC LA NEOSYNEPHRINE

pression artérielle
mmHg

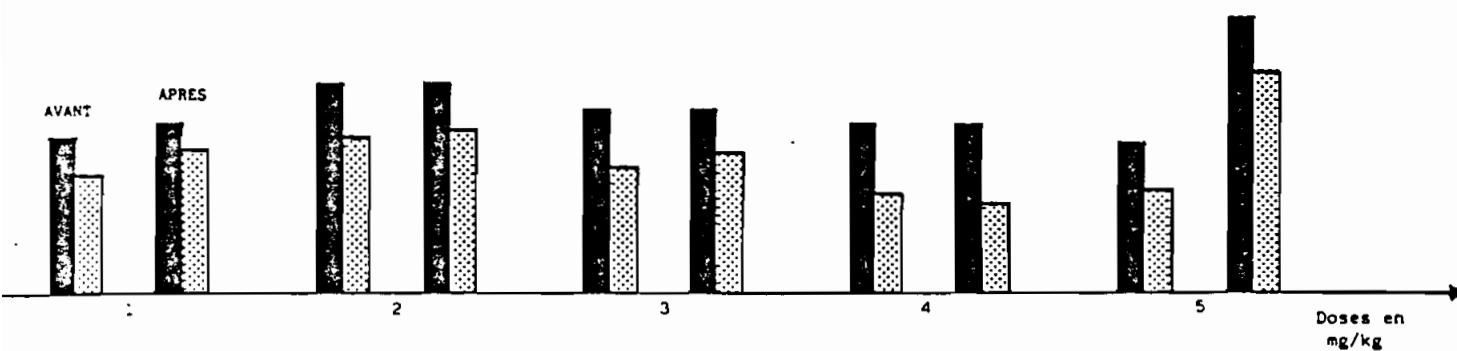


Fig 17 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC LA NEOSYNEPHRINE

— PAS

.... PAD

CHAT N°	1		1		2		2		2	
DIFFERENCE mm Hg	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
AVANT	- 20	-60	- 40	- 65	- 60	- 60	- 40	- 50	-	-
LUPANINE mg/Kg I.V	1		2		3		4		5	
APRES	- 30	-57	- 25	- 50	- 45	- 45	- 10	- 45	-	-

- : diminution

Tableau 22 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC L'ISOPRENALINE

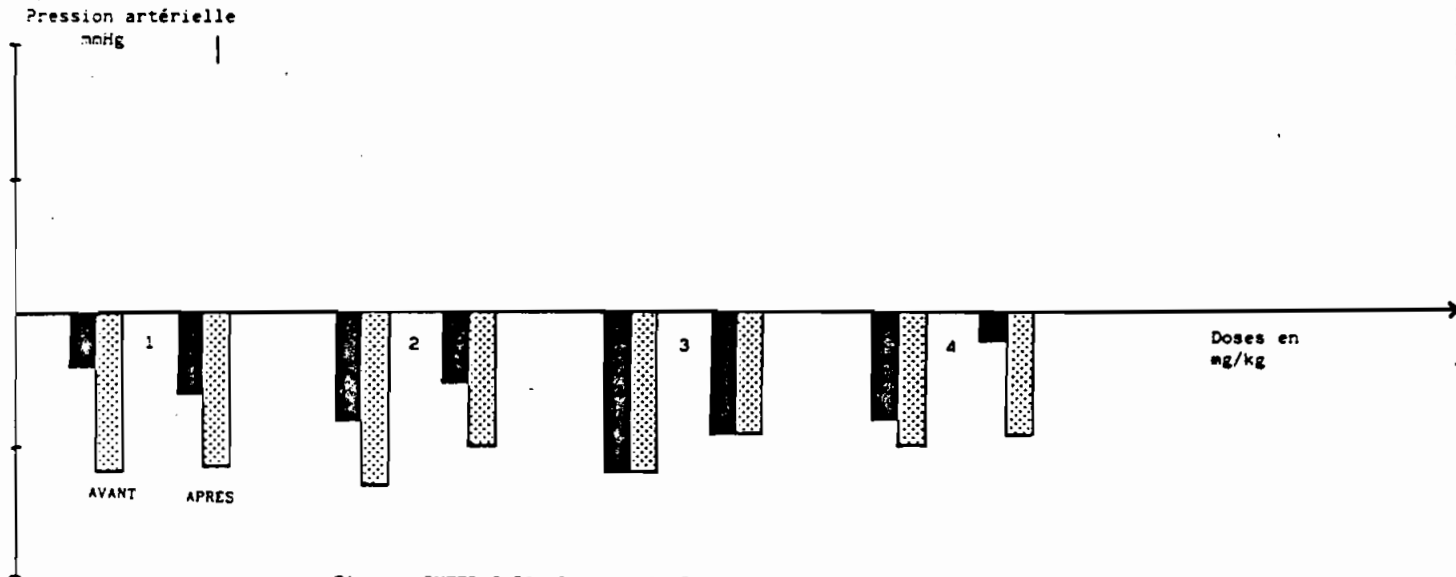


Fig. 18 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC L'ISOPRENALINE

— PAS
 PAD

CHAT N°	1		1		2		2		2	
DIFFERENCE mm Hg	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
AVANT	-	-	- 50	- 65	- 80	- 78	- 65	- 68	- 55	- 65
LUPANINE mg/Kg I.V	1		2		3		4		5	
APRES	-	-	- 50	- 45	- 113	- 67	- 65	- 68	- 40	- 40

- : diminution

Tableau 23 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC L'ACETYLCHOLINE

pression artérielle

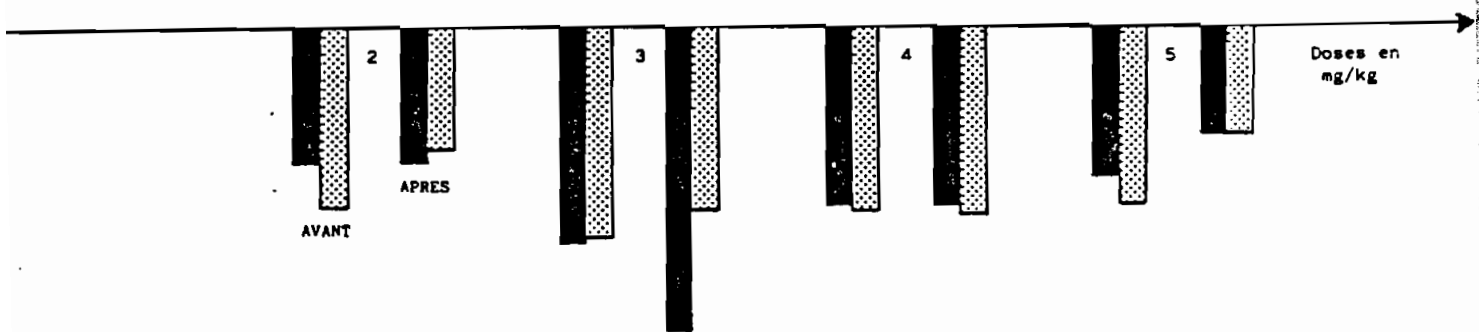


Fig 19 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC L'ACETYLCHOLINE

— PAS
 PAD

CHAT N°	1		1		2		2		2	
DIFFERENCE mm Hg	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
AVANT	- 30	- 63	- 50	- 60	- 65	- 65	- 55	- 73	- 52	- 60
LUPANINE mg/Kg I.V	1		2		3		4		5	
APRES	- 45	- 60	- 50	- 50	- 45	- 70	- 48	- 60	- 45	- 50

- : diminution

Tableau 24 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC L'HISTAMINE

Pression artérielle
mmHg.

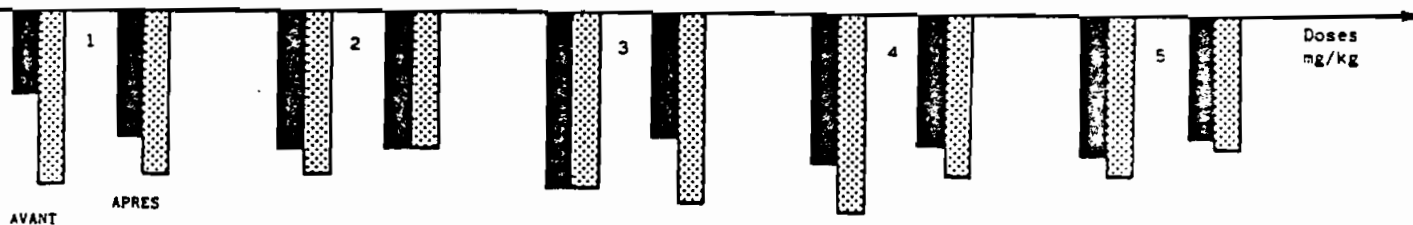


Fig 20 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC L'HISTAMINE

— PAS
.... PAD

g) Interaction avec l'occlusion carotidienne (fig. n° 21 et tableau n° 25).

Des changements notables sur les variations de la PAS et de la PAD apparaissent dès la dose de 2 mg/Kg, à laquelle on observe un net antagonisme vis à vis de l'élévation des 2 paramètres, induite par ce test.

h) Interaction avec la stimulation du pneumogastrique (fig. n° 22 et tableau n° 26).

L'antagonisme vis à vis de la chute de la PAD, induite par cette stimulation apparaît dès la dose de 1 mg/Kg et devient total à 5 mg/kg, dose à laquelle le nerf devient inexcitable. On remarque sur le chat n° 2 qu'il persiste une PAS, même avant l'administration de la lupanine. Cet état de fait est dû à une mauvaise réactivité de l'animal et constatée dès le début de l'expérience.

5. 4. 1. 2. 2. Synthèse et discussion.

Il apparaît à travers les résultats obtenus que la lupanine présente les caractères suivants :

- Vis à vis de l'adrénaline, de la noradrénaline et de la néosynéphrine, elle potentialise leur action hypertensive, apparemment beaucoup plus que la spartéine. Comme nous l'avons mentionné plus haut, la lupanine est hypotensive chez le chat. Or, nous avons remarqué que, malgré cette hypotension, due à l'action propre de la lupanine, l'hypertension sous l'action de ces réactifs pharmacologiques persiste toujours et la PAS et la PAD retrouvent des niveaux voisins de ceux obtenus lors de l'étalonnage. L'explication de cette potentialisation peut être trouvée dans le niveau très bas de la PAS et de la PAD qui contribue à augmenter la différence entre les valeurs d'avant test et celles d'après test.

- En ce qui concerne l'interaction isoprénaline-lupanine, les variations observées portent essentiellement sur la PAS et semblent attribuables à une double vasodilatation, qui entraînant une diminution du retour veineux s'oppose à l'augmentation habituelle du débit cardiaque induite par l'isoprénaline.

- La lupanine inhibe le réflexe vasomoteur sinocarotidien dû à l'occlusion de la carotide libre mais cet effet apparaît avec des doses relativement plus faibles que celles de spartéine nécessaires pour avoir

CHAT N°	1		1		2		2		2	
DIFFERENCE mm Hg	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
AVANT	+ 40	+ 25	+ 50	+ 35	+ 150	+ 85	+ 70	+ 45	+ 48	+ 35
LUPANINE mg/Kg I.V	1		2		3		4		5	
APRES	+ 25	+ 30	+ 10	+ 10	+ 25	+ 40	+ 13	+ 10	+ 10	+ 20

+ : augmentation

Tableau 25 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC L'OCCCLUSION DE LA CAROTIDE

Pression artérielle mmHg

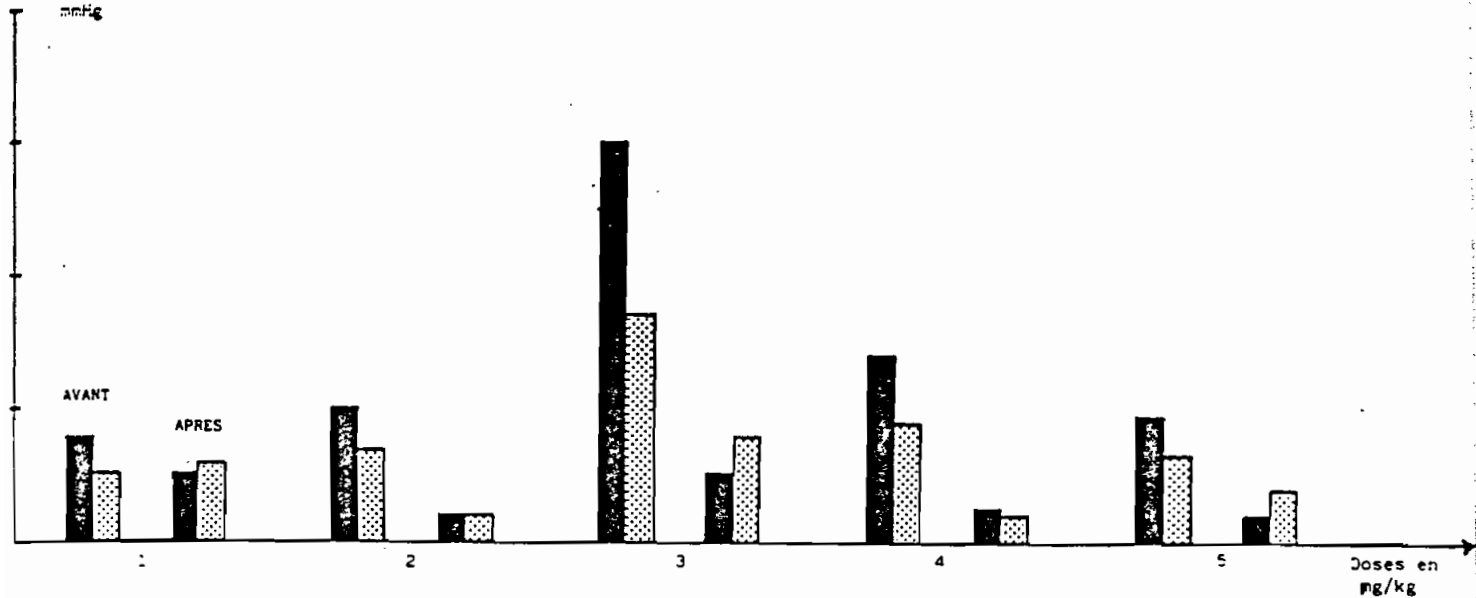


Fig 21 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC L'OCCCLUSION DE LA CAROTIDE

— PAS
 PAD

CHAT N°	1		1		2		2		2	
DIFFERENCE mm Hg	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD	PAS	PAD
AVANT	-	- 80	-	- 70	-	- 100	- 50	- 65	- 50	- 55
LUPANINE mg/Kg I.V	1		2		3		4		5	
APRES	-	- 62	-	- 52	-	- 30	- 10	- 18	0	0

- : diminution

Tableau 26 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC LA STIMULATION DU PNEUMOGASTRIQUE

Pression artérielle
mmHg

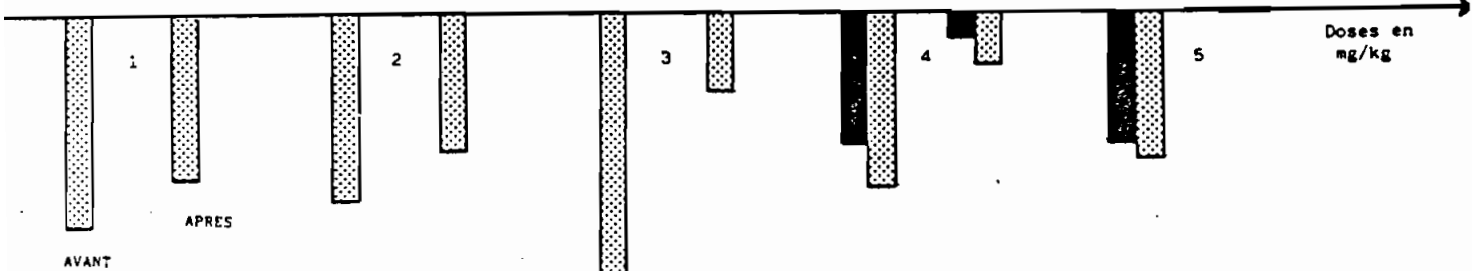


Fig 22 : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC LA STIMULATION DU PNEUMOGASTRIQUE

— PAS
.... PAD

le même effet.

- Vis à vis du système parasympathique, la lupanine tout comme la spartéine, respecte les effets muscariniques de l'acétylcholine. Par contre, elle exerce un net antagonisme vis à vis de la chute de la PAD induite par la stimulation du pneumogastrique.

En faisant le lien entre l'inhibition du réflexe vasomoteur et l'antagonisme vis à vis de la chute de la pression artérielle exercés par la lupanine, ces deux actions permettent de la classer parmi les substances ganglioplégiques. Mais comment expliquer son action inhibitrice du réflexe sinocarotidien relativement plus puissante que celle de la spartéine ? Comme nous l'avions évoqué antérieurement pour la spartéine la réponse à cette question pourra être trouvée dans la sensibilité des systèmes sympathique et parasympathique pour la lupanine. Certains autres aspects peuvent être également évoqués pour expliquer cette différence entre la spartéine et la lupanine, notamment l'affinité vis à vis des récepteurs cholinergiques, ou encore l'activité intrinsèque, ou enfin l'aptitude à pénétrer dans le ganglion sympathique cervical.

- Vis à vis du système histaminergique, la lupanine n'exerce aucune influence sur les effets tensionnels de l'histamine exogène.

5. 4. 2. Actions sur la fréquence cardiaque.

5. 4. 2. 1. LA SPARTEINE.

Résultats et discussion (tableau n° 27).

L'action propre de la spartéine sur la fréquence cardiaque est bradycardisante. A la dose de 1,5 mg/Kg (chat n° 1) la spartéine n'a exercé aucune influence sur les variations consécutives à l'administration des divers réactifs pharmacologiques.

En augmentant les doses (2 et 4 mg/Kg) sur le chat n° 3, les variations observées sont négligeables sauf dans le domaine du système parasympathique où l'on observe un antagonisme vis à vis de la bradycardie entraînée par la stimulation du nerf pneumogastrique. Cette dernière action est à rattacher aux propriétés ganglioplégiques.

5. 4. 2. 2. LA LUPANINE.

(Tableau n° 28)

Comme nous avons pu le constater, la lupanine exerce une action bradycardisante propre sur la fréquence cardiaque du chat.

CHAT N°		1	3	3
DIFFERENCE		-	-	-
AVANT TRAITEMENT	ADR	+ 25	+ 5	+ 5
	NAD	- 70	- 20	- 30
	NEOS	- 20	- 10	- 5
	ISOP	+ 80	+ 45	+ 40
	ACH	+ 20	+ 15	+ 15
	HIST	+ 20	+ 15	+ 15
	OC	+ 5	+ 10	+ 10
	Xp	- 115	- 110	- 110
SPARTEINE mg/kg		1,5	2	4
APRES TRAITEMENT	ADR	+ 25	+ 10	+ 5
	NAD	- 80	- 25	- 20
	NEOS	- 20	- 5	- 15
	ISOP	+ 60	+ 50	+ 30
	ACH	+ 20	+ 10	+ 10
	HIST	+ 25	+ 15	+ 10
	OC	+ 15	+ 15	+ 10
	Xp	- 125	- 100	- 45

Tableau 27 : Interaction de différentes doses de Spartéine avec les variations induites par divers réactifs pharmacologiques chez le chat.

(fréquence cardiaque)

CHAT N°		2	2	2
Différence		-	-	-
AVANT TRAITEMENT	ADR	+ 68	+ 83	-
	NAD	+ 35	+ 39	+ 25
	NEOS	- 25	- 15	- 5
	ISOP	+ 27	+ 82	+ 93
	ACH	+ 63	+ 47	0
	HIST	+ 50	+ 67	+ 57
	OC	+ 4	+ 7	+ 2
	Xp	- 112	- 105	- 70
LUPANINE mg/kg		3	4	5
APRES TRAITEMENT	ADR	+ 106	+ 110	-
	NAD	+ 45	+ 28	+ 24
	NEOS	- 2	- 5	- 3
	ISOP	+ 112	+ 11	-
	ACH	+ 7	+ 15	+ 60
	HIST	+ 48	+ 61	+ 38
	OC	0	0	0
	Xp	- 50	- 30	- 3

Tableau 28 : Interaction de différentes doses de Lupanine avec les variations induites par divers réactifs pharmacologique chez le chat.

(fréquence cardiaque)

a) Résultats des interactions.

L'interaction de différentes doses de lupanine (3, 4, 5 mg/Kg) avec les variations de fréquence cardiaque consécutives à l'administration des différents réactifs pharmacologiques a été étudié sur le chat n° 2.

L'analyse des résultats regroupés dans le tableau n°28 montre une potentialisation de la tachycardie adrénalinique, tandis qu'un antagonisme vis à vis de la néosynéphrine apparaît dès la dose de 3 mg/Kg. Quant à l'isoprénaline, la tachycardie qu'elle provoque habituellement est potentialisée par les différentes doses de lupanine. Vis à vis de l'histamine, il n'y a aucune interaction des effets de la lupanine avec ceux de l'histamine. Dans le domaine du système parasympathique, la lupanine a entraîné une réduction de la tachycardie due à l'acétylcholine, simultanément à l'antagonisme vis à vis de la bradycardie induite par la stimulation du pneumogastrique.

b) Discussion

Tous ces résultats obtenus avec la lupanine s'expliquent par les actions propres de l'alcaloïde sur la fréquence cardiaque :

- Vis à vis du système adrénergique, la lupanine, par son action bradycardisante contribue à augmenter la différence entre les variations de la fréquence avant test et celles d'après test. Il est donc facile de comprendre que le coeur ayant été soustrait à l'influence du parasympathique, le système adrénergique soit prédominant.

- En ce qui concerne l'antagonisme de la lupanine vis à vis de la néosynéphrine, il doit être également rattaché à l'action qu'elle exerce sur les réflexes vasomoteurs. En effet, on sait que la néosynéphrine est bradycardisante par stimulation des barorécepteurs sino-carotidiens. Comme le montre le tableau des résultats, cet antagonisme est concomitant du blocage total du réflexe de l'occlusion carotidienne.

5. 5. CONCLUSIONS GENERALES

L'étude des effets de la spartéine et de la lupanine sur la réactivité du système nerveux autonome du chat a permis de préciser les actions des 2 alcaloïdes dans le domaine du système cardiovasculaire.

D'abord, pour ce qui concerne la spartéine, elle exerce des effets potentialisateurs vis à vis de l'hypertension adrénalinique, phénomène déjà décrit par HAZARD et Coll. (1932 ; 1933 ; 1950). Cette potentialisation ne procède pas à notre avis, d'une action directe sur le rythme cardiaque puisqu'aux doses étudiées, aucune influence sur la fréquence cardiaque n'a été observée. Quant à la lupanine, elle a beaucoup plus

tendance à accroître l'hypertension adrénérgique, en raison du fait qu'elle exerce un effet hypotenseur propre.

Vis à vis du système parasympathique, les 2 alcaloïdes respectent les effets muscariniques de l'acétylcholine sur la chute de la PAS et de la PAD, d'où persistance de l'hypotension, tandis que la chute de la PAD est réduite, voire même annulée. Cette différence d'action des 2 alcaloïdes vis à vis des récepteurs muscariniques d'une part et de la transmission ganglionnaire d'autre part est à l'origine de l'étude comparée des effets ganglioplégiques chez le chien.

6 - ETUDE COMPAREE DES PROPRIETES GANGLIOPLEGIQUES
CHEZ LE CHIEN

Au cours de l'étude des effets de la spartéine et de la lupanine sur la réactivité du système nerveux autonome du chat, nous avons souligné l'importance des faits suivants :

- la stimulation du nerf pneumogastrique en direction cardiaque devenait inefficace ;
- l'acétylcholine manifestait toujours ses propriétés muscariniques et entraînait l'hypotension.

A ces deux actions, s'ajoutait également l'inhibition du réflexe sinocarotidien dont le support est également ganglionnaire.

Ces trois constatations avaient permis de conclure aux propriétés ganglioplégiques de la spartéine et de la lupanine.

Dans la présente étude, nous essayerons de mettre en évidence ces mêmes propriétés sur le chien afin de dégager les similitudes et les différences entre les 2 alcaloïdes. A cet effet, trois tests seront mis en oeuvre :

- la stimulation du nerf pneumogastrique.
- la suppression de l'action nicotinique excitante de l'acétylcholine.
- les modifications du réflexe de l'occlusion carotidienne.

6. 1. MATERIEL ET METHODE

L'étude a été conduite chez 2 chiens chloralosés (120 mg/Kg I.V) dans les mêmes conditions techniques que celles concernant les effets directs sur le chien (paragraphe 4. 1.).

La pression artérielle carotidienne mesurée à la carotide gauche et ses variations consécutives aux différents tests sont enregistrées.

Les alcaloïdes ont été étudiés aux doses de 5 mg/Kg (chien n° 3) et 7,5 mg/Kg (chien n° 4). Dans le premier cas, les administrations ont été effectuées selon la séquence suivante : lupanine puis spartéine et dans le second cas dans l'ordre inverse.

Ces deux doses ont été choisies en fonction des résultats obtenus lors de l'étude sur le chat où la dose la plus forte étudiée était de 4 mg/Kg.

Comme on peut le constater, l'étude des mêmes doses de chaque alcaloïde a été effectuée sur le même animal afin d'éliminer toute cause de réactivité différente.

L'intervalle de temps entre les administrations de chaque alcaloïde est d'au moins une heure éventuellement prolongé jusqu'à ce que l'animal retrouve sa réactivité de départ.

6. 2. LA STIMULATION DU NERF PNEUMOGASTRIQUE.

6. 2. 1. Protocole.

La stimulation du bout cardiaque du pneumogastrique a été réalisée à l'aide d'un stimulateur (HUGO SACHS ELEKTRONIK Type HSE-STIMI) dans les conditions suivantes :

- Tension de 5 Volts
- Fréquence de 50 Hertz
- Largeur des impulsions : 0,5 msec.

Les stimulations sont pratiquées avant (enregistrement témoin) et après l'administration de chaque alcaloïde à intervalle de temps régulier jusqu'à ce que les paramètres cardiovasculaires retrouvent, si possible, leurs valeurs de départ.

6. 2. 2. Résultats

Ils sont regroupés par animal et représentent le pourcentage de variation de la pression artérielle moyenne par rapport à sa valeur avant la stimulation.

6. 2. 2. 1. Chien n° 3, femelle, 8 kg 500 (fig. n°23)

A la dose de 5 mg/Kg, les 2 alcaloïdes exercent un antagonisme vis à vis de l'hypotension induite par la stimulation du nerf pneumogastrique. La représentation graphique des pourcentages de variation de la PAM en fonction du temps (fig. n° 24) permet de constater :

- que cette dose n'antagonise pas totalement l'hypotension puisqu'il subsiste toujours une faible excitabilité du nerf.
- que l'action de la lupanine débute plus rapidement que celle de la spartéine.

Avant traitement	Traitement	5 min	15 min	45 min	60 min
- 76	Lupanine	- 18	- 23	- 52	- 64
- 77	Sparteïne	- 25	- 16	- 39	- 38

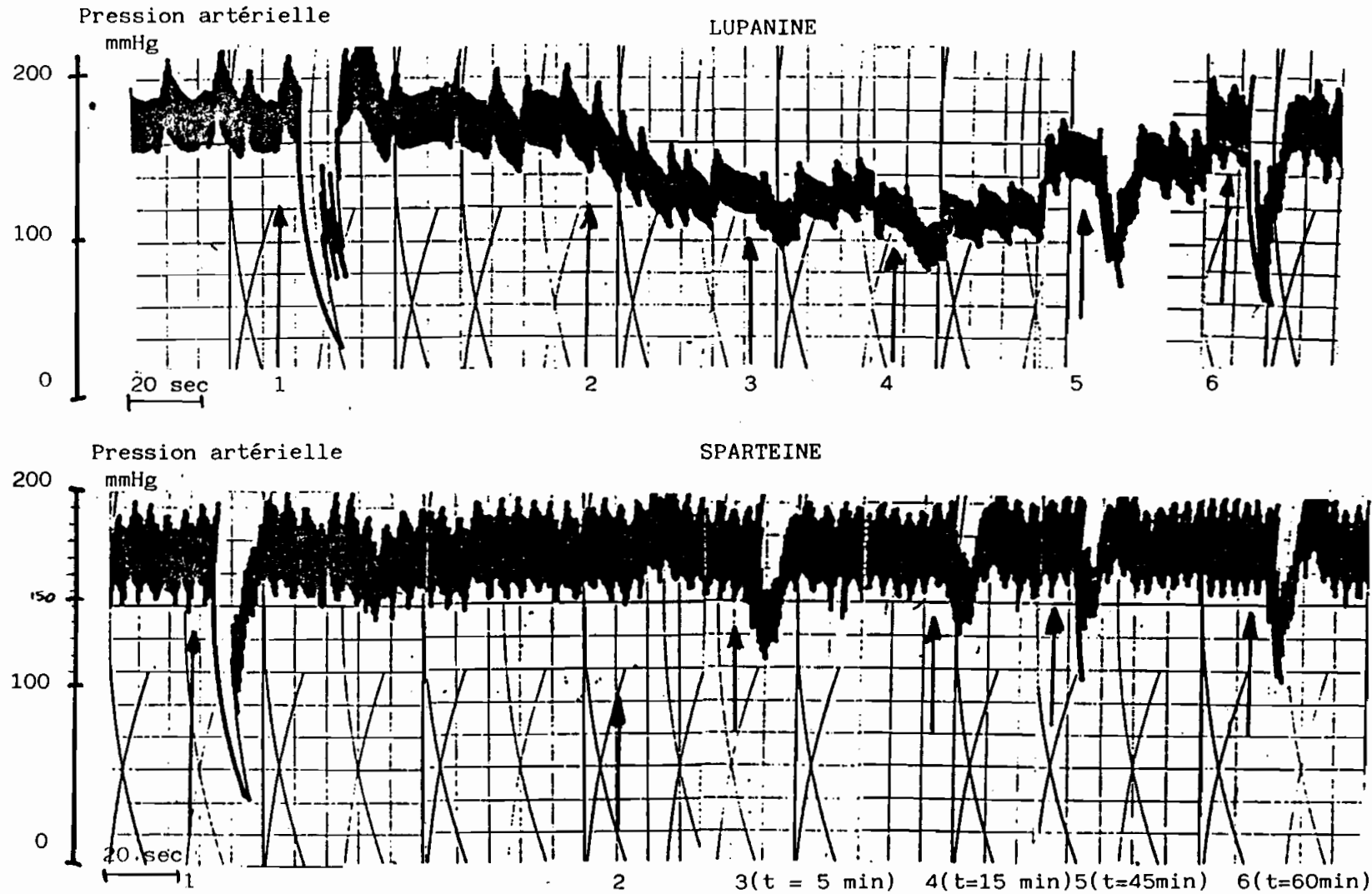


Figure 23 : Chien n° 3 : Action sur la stimulation du pneumogastrique
1- Xp témoin ; 2- Traitement 5 mg/kg ; 3-4-5-6 Xp aux temps indiqués

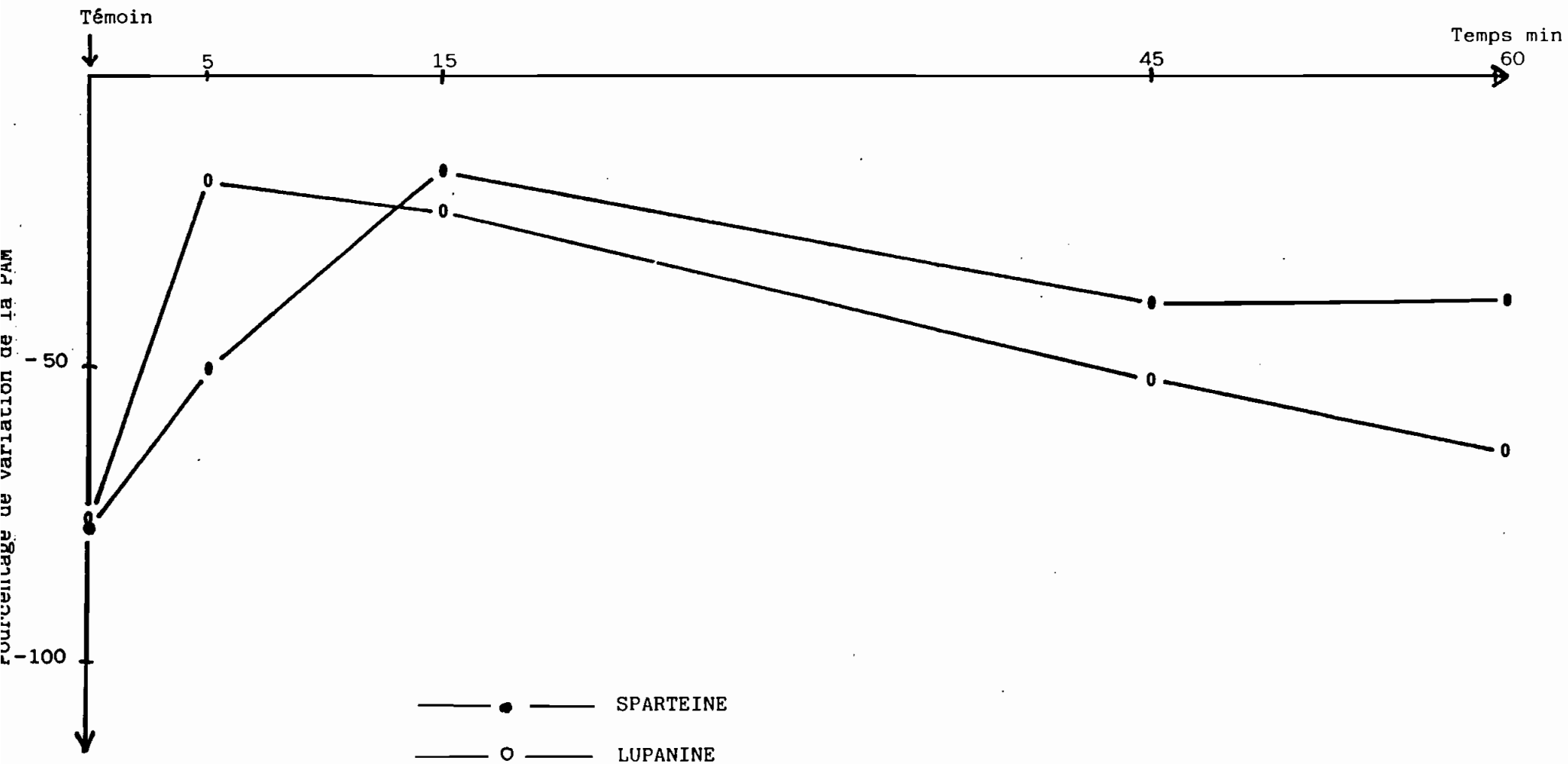


Fig 24 : Chien n° 3 femelle, 8,5 kgs, ayant reçu 5 mg/kg de Sparteine ou de Lupanine.
 Evolution des variations de la PAM lors de la stimulation du bout cardiaque
 du pneumogastrique en fonction du temps

- que la spartéine, en revanche, étale son action dans le temps alors qu'on observe une diminution régulière de celle de la lupanine. L'animal retrouve sa réactivité au bout de 1 h 45 min. environ.

6. 2. 2. 2. Chien n° 4, mâle, 10 kg (fig. n° 25)

Les phénomènes décrits ci-dessus s'observent également avec la dose de 7,5 mg/Kg, sauf que les variations sont beaucoup plus importantes. On constate là encore sur la représentation graphique (fig n° 26) la précocité de l'action de la lupanine, mais qu'elle commence par diminuer alors que celle de la spartéine se maintient à un niveau pratiquement constant.

6. 2. 3. Discussion et conclusion.

Ces résultats confirment ceux obtenus précédemment sur le chat.

En nous référant aux résultats de cette même étude effectuée avec des doses plus faibles, mais qui ne sont pas rapportés ici (les animaux étaient de réactivité différente et l'activité ganglioplégique ne se manifestait pas à ces doses) nous pouvons affirmer que cette activité des 2 alcaloïdes mesurée par ce test se manifeste d'une façon évidente à partir de 5 mg/Kg chez le chien, donc à dose égale, confirmant ainsi les travaux de GO LU (1952) pour ce qui concerne la spartéine.

La différence entre les temps de latence des 2 alcaloïdes pourrait être interprétée en reprenant l'explication que nous avons donnée à propos des observations sur le chat à savoir une différence éventuelle d'activité intrinsèque, ou de pénétration dans les ganglions, ou d'affinité pour les récepteurs cholinergiques.

Pour ce dernier point, l'étude in vitro de la liaison des 2 alcaloïdes aux récepteurs cholinergiques qui sera faite dans le prochain chapitre permettra peut être d'élucider cette différence.

D'un autre point de vue, l'allure des courbes permet de penser à une différence dans la pharmacocinétique de l'un des alcaloïdes par rapport à l'autre, la lupanine ayant tendance à vite diffuser, mais devrait être plus rapidement éliminée ou inactivée que la spartéine. Ce n'est qu'une hypothèse qui doit être vérifiée mais tout porte à croire que l'activité intrinsèque n'intervient pas. En effet, le maximum d'activité ganglioplégique est presque identique pour les 2 alcaloïdes.

- 62	Sparteine	- 19	- 7	- 10	- 11
- 64	Lupanine	- 4	- 2	- 13	- 23

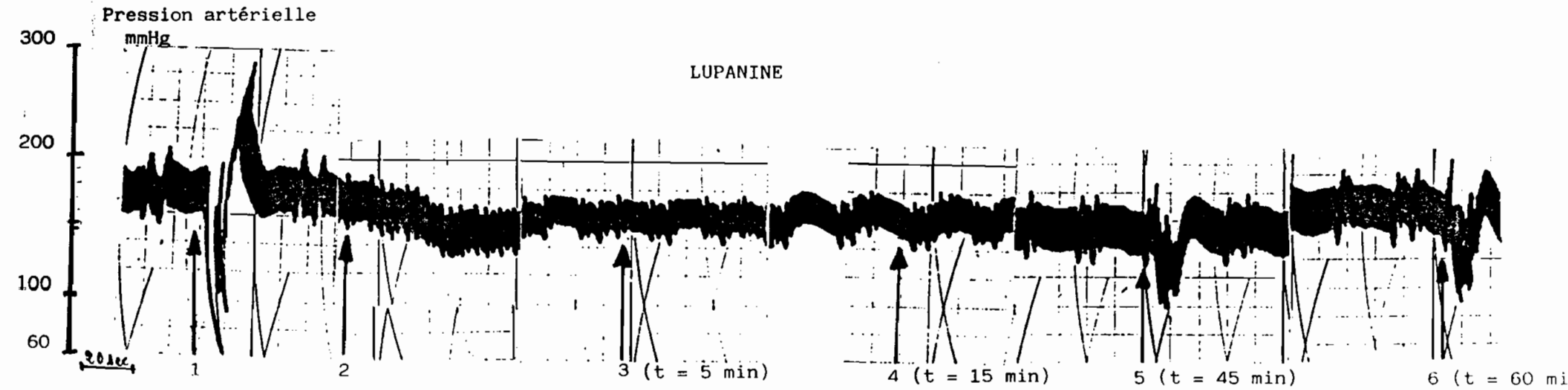
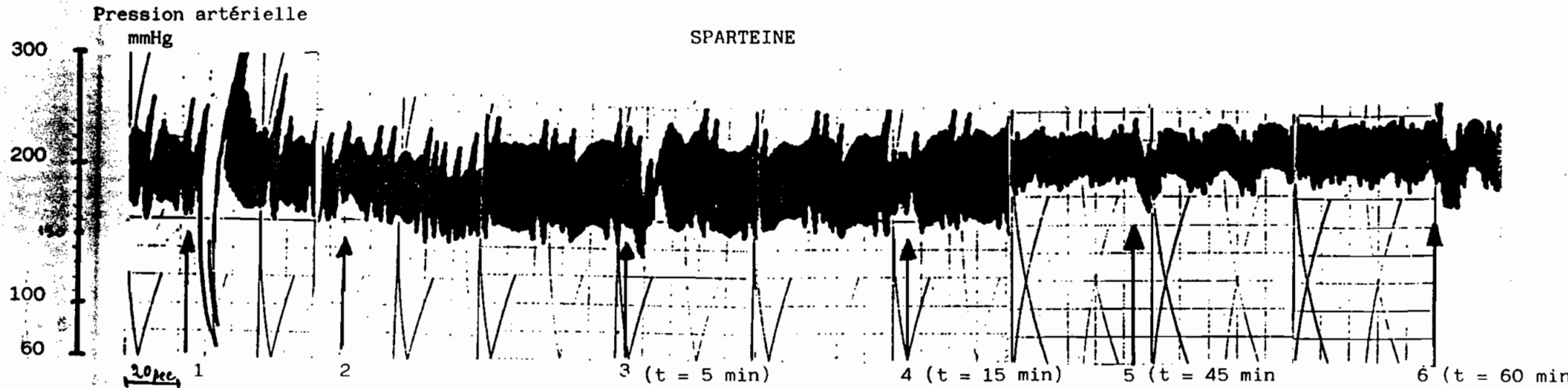


Figure 25 : Chien n° 4 : Action sur la stimulation du pneumogastrique (Xp)

1- Xp témoin ; 2- Traitement 7,5 mg/kg ; 3-4-5-6- Xp aux temps indiqués

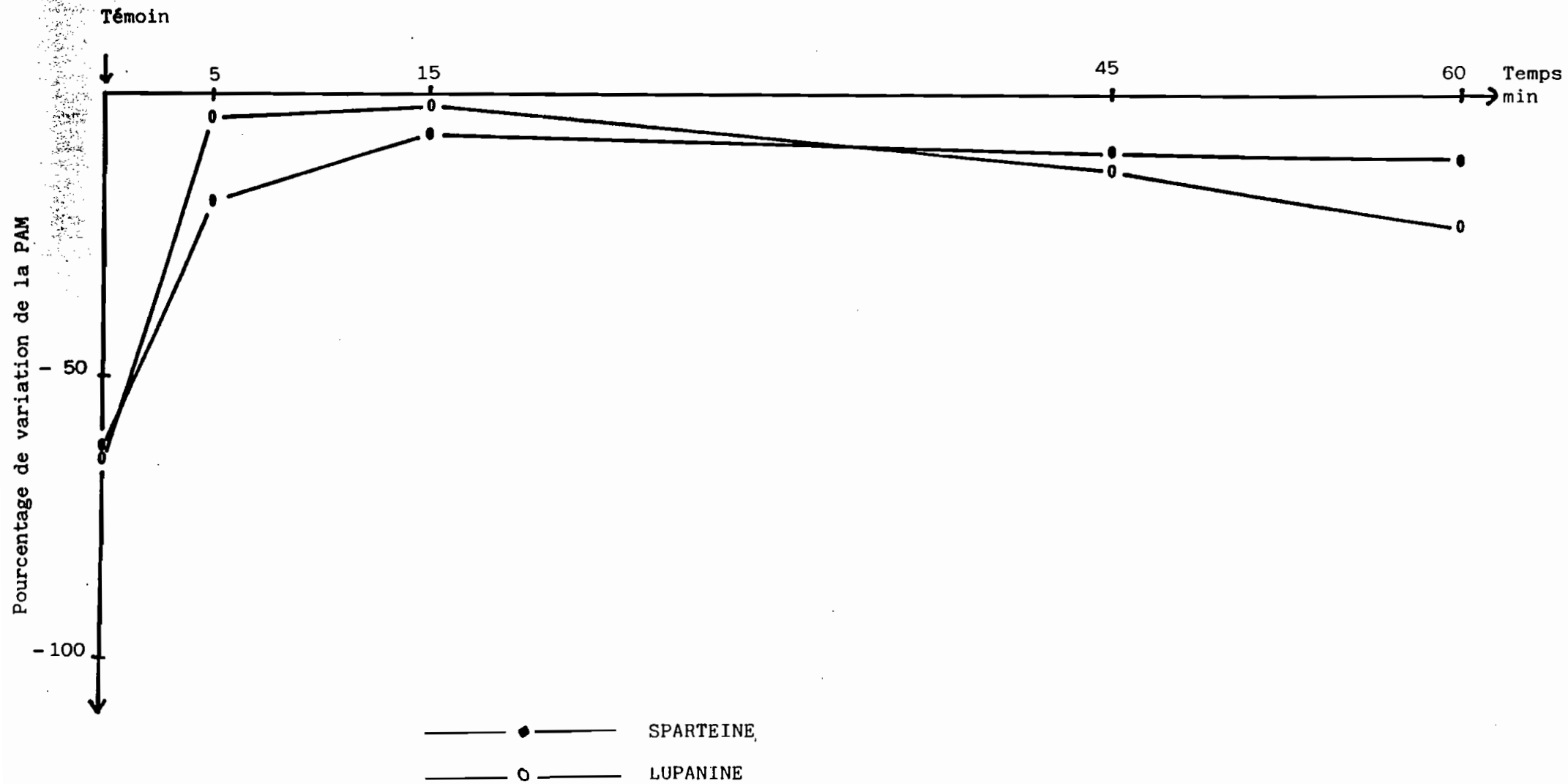


Fig 26 : Chien n° 4, mâle, 10 kgs, ayant reçu 7,5 mg/kg de Spartéine ou de Lupanine. Evolution des variations de la PAM lors de la stimulation du bout cardiaque du pneumogastrique en fonction du temps.

L'activité ganglioplégique de ces 2 doses sera par la suite testée vis à vis de l'action nicotinique excitante de l'acétylcholine.

6. 3. SUPPRESSION DE L'ACTION NICOTINIQUE EXCITANTE DE L'ACÉTYLCHOLINE

6. 3. 1. Principe.

Chez le chien soumis à une injection d'atropine (1mg/Kg) pour bloquer les récepteurs muscariniques, l'acétylcholine injectée à forte dose (500 à 1000 mcg/kg) manifeste des effets gangliostimulants se traduisant par une hypertension due à une libération d'adrénaline au niveau de la médullo-surrénale. Cette action nicotinique excitante de l'acétylcholine est abolie ou diminuée sous l'effet des ganglioplégiques qui sont des antagonistes compétitifs vis à vis des récepteurs nicotiniques.

6. 3. 2. Protocole.

Cette étude a été conduite selon le protocole suivant :

t = 0 atropinisation de l'animal

t = 10 mn Injection d'acétylcholine

t = 20 mn Injection de spartéine ou de lupanine

t = 30 mn Injection d'une nouvelle dose d'acétylcholine.

6. 3. 3. Résultats.

Ils n'ont pas été quantifiés, les enregistrements obtenus et représentés sur les figures n°27 et n°28 étant à cet égard plus démonstratifs.

Après la dose de 5 mg/kg (fig. n°27), on observe sous l'action de l'ACH (500 mcg/Kg), la même réponse pour les 2 alcaloïdes, à savoir une hypotension fugace, suivie d'une hypertension intense et durable.

Ce résultat nous a surpris car on s'attendait à une suppression totale de l'hypertension si les récepteurs nicotiniques étaient bloqués par les alcaloïdes. Mais comment expliquer l'hypotension dont le mécanisme passe par les récepteurs muscariniques qui devraient être eux aussi normalement bloqués par l'atropine ?

Après la dose de 7,5 mg/Kg (fig n°28) l'hypertension nicotinique de l'acétylcholine est totalement supprimée mais il persiste toujours l'hypotension.

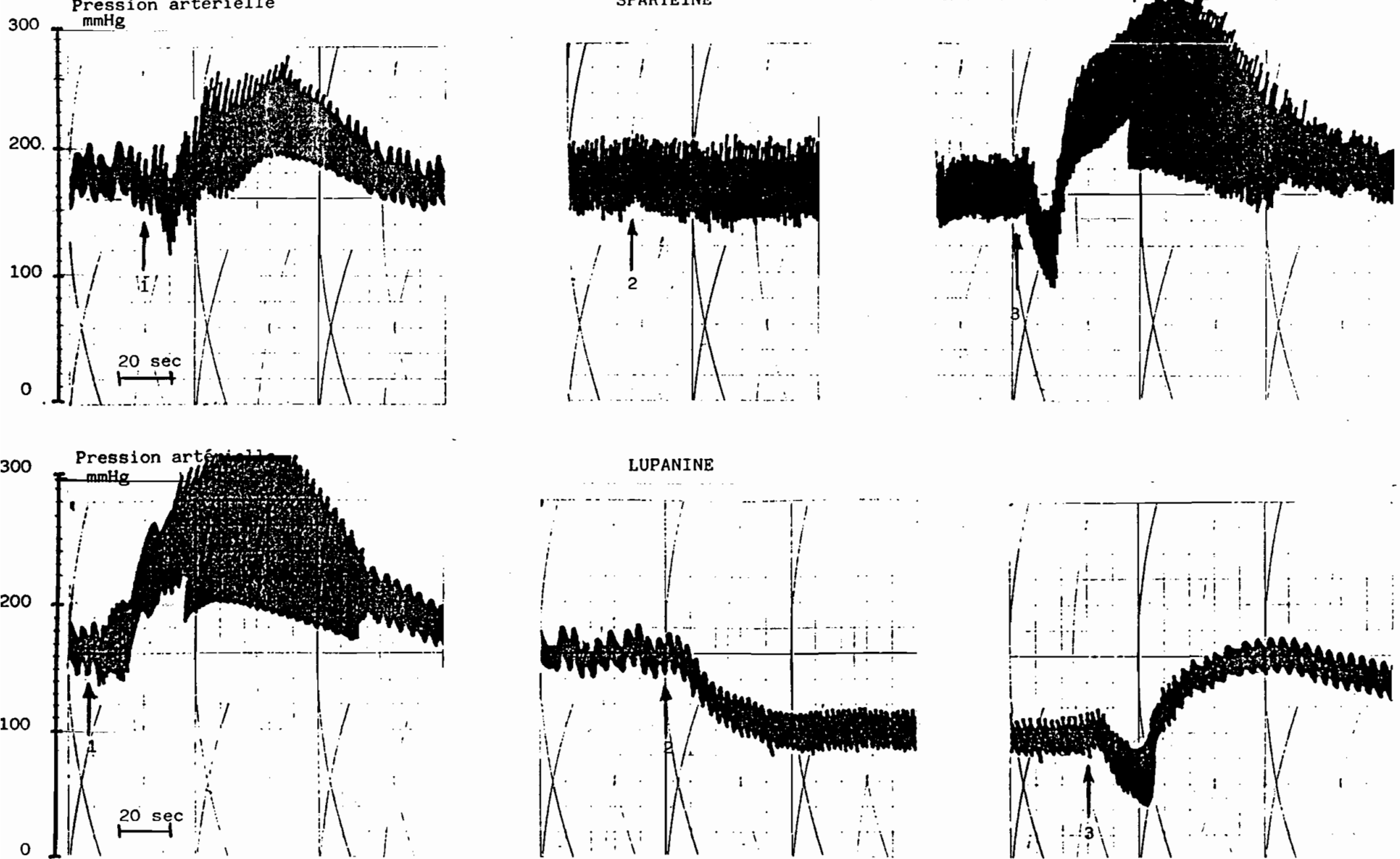


Figure 27 : Chien n°3 , atropiné : Action sur l'effet nicotinique de l'acétylcholine

1 - Acétylcholine
(t = 0)

2 - Traitement 5 mg/kg
(t = 10 min)

3 - Acétylcholine
(t = 20 min)

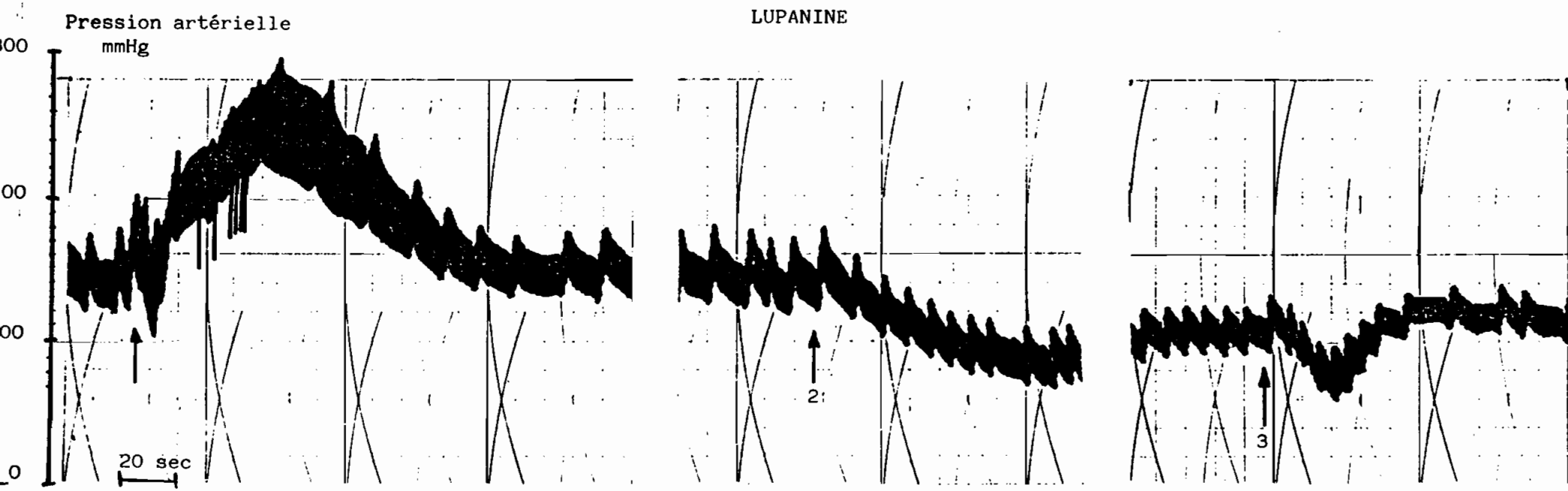
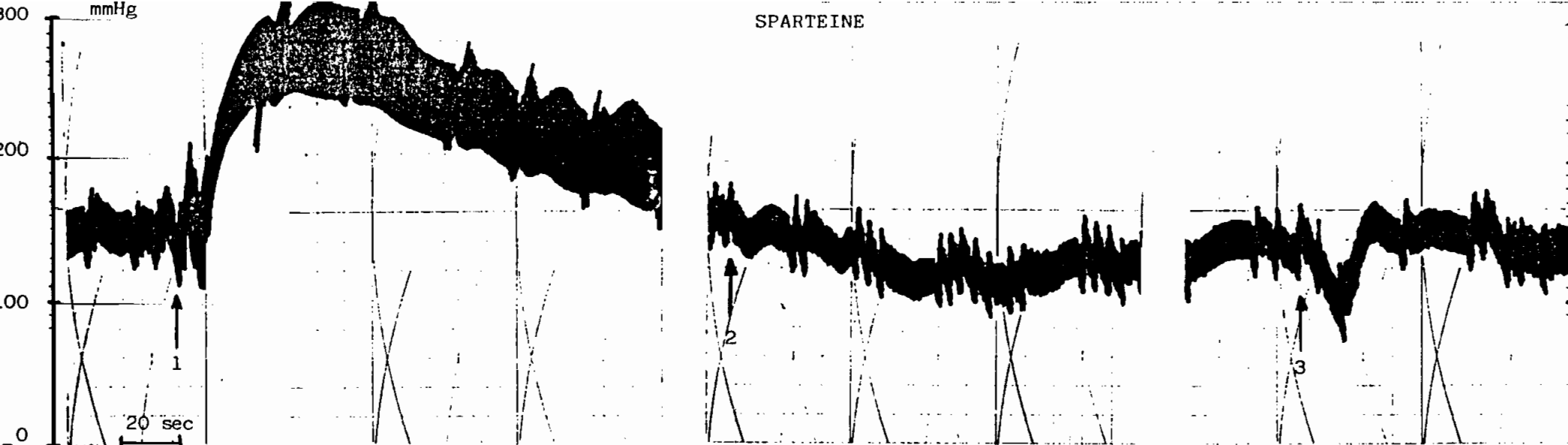


Figure 28 : Chien n° 2, atropiné : Action sur l'effet nicotinique de l'acétylcholine

1 - Acétylcholine (t = 0) 2 - Traitement 7,5 mg/kg (t = 10 min) 3 - Acétylcholine (t = 20 min)

6. 3. 4. Discussion.

Dans le cas de la dose de 5 mg/Kg, tout porte à croire qu'elle n'est pas efficace pour bloquer les ganglions sympathiques de la médullo-surrénale, même si cette dose permet de bloquer, comme nous l'avons démontré antérieurement la stimulation du bout cardiaque du pneumogastrique. Existerait-il une différence de sensibilité entre les ganglions parasymphatiques et les ganglions sympathiques ? Si tel est le cas, cette hypothèse rejoindrait l'idée que nous avons émise précédemment pour expliquer la différence.

Dans le second cas (7,5 mg/Kg) cette dose permet de supprimer l'hypertension nicotinique. Cette dose exerce bien un antagonisme vis à vis des récepteurs nicotiques, aussi bien au niveau des ganglions parasymphatiques que sympathiques. Quant à l'hypotension qui s'observe, elle est reconnue comme un caractère particulier de certains ganglioplégiques dont la spartéine (GO LU, 1952).

En effet, comme l'a rapporté cet auteur, bon nombre de substances ganglioplégiques ne suppriment pas simplement l'hypertension nicotinique de l'acétylcholine mais plutôt la transforme en hypotension. L'origine de cette hypotension n'a pu être démontrée.

En définitive, il existe une bonne similitude entre les propriétés ganglioplégiques de la spartéine et de la lupanine mesurées par la stimulation du bout cardiaque du pneumogastrique ou par l'action nicotinique de l'acétylcholine. Mais qu'en est-il de l'inhibition du réflexe de l'occlusion carotidienne ?

6. 4. L'OCCLUSION CAROTIDIENNE

Comme nous l'avons vu précédemment lors de l'étude sur le chat, il existe suivant les alcaloïdes administrés, une différence dans la réponse tensionnelle consécutive à l'occlusion de la carotide libre. Cette action inhibitrice qu'exercent la spartéine et la lupanine est liée à leur action ganglioplégique. Dans cette étude, nous essayerons de dégager des caractéristiques de cette action vis à vis du ganglion sympathique chez le chien.

6. 4. 1. Méthodologie et principe.

Le test consiste à occlure, à l'aide d'un clamp, la carotide libre. Cette occlusion entraîne, au niveau central, une hypotension, d'où l'augmentation du tonus sympathique. Il en résulte au niveau cardiovasculaire, une libération de noradrénaline qui entraîne une hypertension. Ce mécanisme qui passe par le ganglion sympathique cervical -dont le médiateur est l'acétylcholine- est aboli par les ganglioplégiques.

6. 4. 2. Protocole.

L'occlusion carotidienne est pratiquée avant et après l'administration de chaque alcaloïde à la 20ème minute.

6. 4. 3. Résultats

Ils sont regroupés sur la figure n° 29

6. 4. 3. 1. Chien n° 3, femelle, 8 kg 5.

A la dose de 5 mg/Kg de chaque alcaloïde, on observe une réduction de l'hypertension induite par l'occlusion carotidienne, mais celle due à la lupanine est plus importante. En comparant les pourcentages de variation de la pression artérielle moyenne après l'administration de chaque alcaloïde, on constate que l'antagonisme exercé par la lupanine est le double de celui induit par la spartéine.

6. 4. 3. 2. Chien n° 4, mâle, 10 kg.

Après la dose de 7,5 mg/Kg, les 2 alcaloïdes manifestent un antagonisme vis à vis du réflexe de l'occlusion carotidienne, mais la lupanine le fait dans des proportions plus importantes comparativement à la spartéine.

6. 4. 4. Discussion.

Ces 2 résultats confirment ceux observés précédemment : vis à vis du ganglion sympathique cervical, l'activité ganglioplégique de la lupanine, dans nos conditions expérimentales, est supérieure à celle de la spartéine. Comme nous l'avons invoqué à propos des résultats obtenus sur le chat, cette différence pourrait résider dans les paramètres pharmacocinétiques de chacun des alcaloïdes.

5 mg/kg

AVANT	SPARTEINE	APRES
+ 41		+ 24
AVANT	LUPANINE	APRES
+ 40		+ 12

Chien n° 3

7,5 mg/kg

AVANT	SPARTEINE	APRES
+ 34		+ 17
AVANT	LUPANINE	APRES
+ 38		+ 9

Chien n° 4

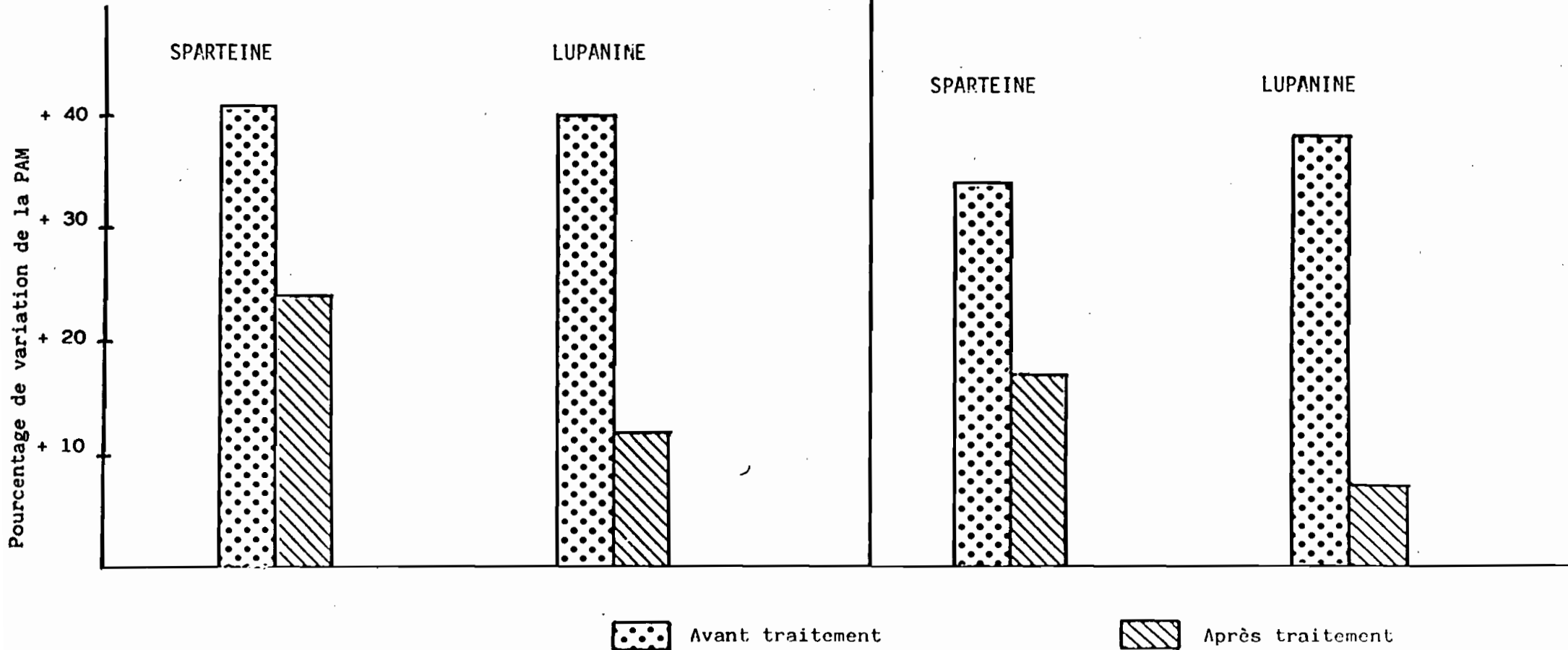


Figure 29 : Inhibition du réflexe de l'occlusion carotidienne

6. 5. CONCLUSIONS GENERALES

En définitive, l'activité ganglioplégique des deux alcaloïdes se manifeste à la même dose. De plus, leur action sur les effets nicotiques excitantes de l'acétylcholine est identique. Seule diffère leur action antagoniste vis à vis du réflexe de l'occlusion des carotides. Afin de trouver un élément de réponse pour expliquer leur action ganglioplégique qui se manifeste à la même dose, il nous a paru nécessaire de mesurer leur affinité in vitro vis à vis des récepteurs cholinergiques.

7 - RECHERCHE D'UNE AFFINITE IN VITRO
POUR LES RECEPTEURS CHOLINERGIQUES

Les propriétés ganglioplégiques de la spartéine et de la lupanine, étudiées dans le chapitre précédent, témoignent de l'action antagoniste de ces 2 alcaloïdes vis à vis de l'acétylcholine au niveau de la transmission ganglionnaire. Cette étude a été poursuivie par la recherche de leur affinité pour les 2 types de récepteurs cholinergiques :

- récepteurs muscariniques
- récepteurs nicotiniques

7. 1. PRINCIPE GENERAL ET DEFINITIONS.

Après lyse cellulaire par les ultra-sons des tissus, une ultracentrifugation permet la préparation de fractions membranaires riches en récepteurs. Il est possible d'évaluer sur ces préparations, la fixation spécifique au niveau des récepteurs, d'un ligand manifestant des propriétés agonistes et/ou antagonistes. Il suffit d'utiliser un ligand radioactif, de haute activité spécifique dont on évalue la fixation ou "binding" pour marquer les récepteurs.

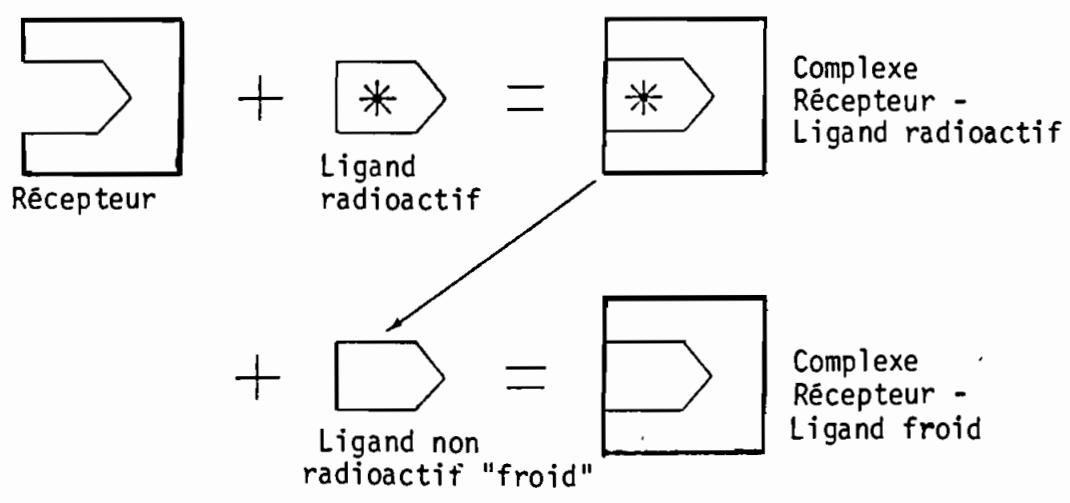
La fixation spécifique du ligand radio-actif au niveau des récepteurs est calculée par différence entre sa fixation totale (binding total) et sa fixation non spécifique (binding non spécifique). L'addition de ligand "froid" (non radioactif) au milieu réactionnel déplace en priorité le ligand radioactif lié au récepteur spécifique. La radioactivité mesurée au niveau des fractions membranaires correspond alors au binding non spécifique du ligand radioactif.

BINDING SPECIFIQUE = BINDING TOTAL - BINDING NON SPECIFIQUE

BINDING SPECIFIQUE = BINDING DU PRODUIT RADIOACTIF SEUL - BINDING EN PRESENCE DE LIGAND NON RADIOACTIF.

*ligand : molécule agoniste ou antagoniste susceptible de se fixer sur une ou des structures réceptrices membranaires.

Le principe de la liaison d'un agoniste ou antagoniste à son récepteur est schématisé sur la figure n°



En pratique, une série de tubes contient le ligand radioactif + les membranes cellulaires et permet de mesurer le binding total. Une deuxième série contient le ligand radioactif + ligand non radioactif + les membranes cellulaires et permet de mesurer le binding non spécifique. Ainsi par soustraction, le binding spécifique du ligand radioactif peut être calculé.

A une quantité fixe de ligand radioactif liée aux récepteurs, des doses croissantes des substances étudiées (déplaceurs) sont ajoutées. Pour chaque concentration, il est possible de calculer un pourcentage d'inhibition du binding spécifique du ligand radioactif.

En reportant les concentrations de déplaceur en abscisse et le pourcentage de ligand radioactif déplacé en ordonnée sur du papier semi-logarithmique, on obtient la courbe de déplacement. L'affinité s'exprime par l'IC₅₀ (Inhibiting Concentration 50), c'est-à-dire la concentration du déplaceur qui diminue de 50 % le binding spécifique.

L'IC₅₀ se lit directement sur la courbe et plus elle est faible plus l'affinité du déplaceur est grande.

7. 2. ETUDE SUR LES RECEPTEURS MUSCARINIQUES.

La méthode utilisée est celle décrite par YAMAMURA et SNYDER (1974)

7. 2. 1. Isolement des récepteurs.

Des rats mâles WISTAR adultes (200-250 g) sont sacrifiés par décapitation, le cerveau est rapidement prélevé et le cortex est disséqué sur glace selon la technique de GLOWINSKI et IVERSEN (1966). Après homogénéisation au Potter (HEIDOLPH) dans 10 volumes de saccharose 0,32 M (10 ml/100 mg de tissu frais), l'homogénat est centrifugé pendant 10 minutes à 1000 g à + 4° C (Centrifugeuse SORVALL RC-5B) pour éliminer les fractions nucléaires. Le surnageant est ensuite homogénéisé à l'aide des ultra-sons (Bioblock SS 20200) pendant une minute à une amplitude 2.

7. 2. 2. Mise en oeuvre de la réaction.

Le ligand tritié utilisé est le $^3\text{H-QNB}$ (Quinuclidinyl benzylate) reconnu comme un antagoniste muscarinique central puissant (ALBANUS, 1970 ; MEYERHOFFER, 1972). Le $^3\text{H-QNB}$ est fourni par AMERSHAM, avec une activité spécifique de 34 Ci/mmole et est utilisé à la concentration de $4,1 \cdot 10^{-10}$ M (concentration voisine de celle du KD^* obtenu par YAMAMURA et SNYDER, 1974). L'addition des substances dans le milieu réactionnel est réalisée dans l'ordre suivant :

- Suspension membranaire	50 μl
- Tampon phosphate Na-K ; 0,05 M ; pH = 7,4 (Na_2HPO_4 : 7,08 g/l ; KH_2PO_4 : 6,8 g/l)	1880 μl
- Ligands (déplaceurs)	100 μl
- $^3\text{H-QNB}$	20 μl

Les deux substances (spartéine et lupanine) sont étudiées à des concentrations comprises entre 10^{-8} et 10^{-4} Moles/litre. Des essais sont effectués parallèlement avec différentes concentrations d'atropine, substance de référence.

L'incubation est réalisée à 25° C à l'obscurité pendant 60 minutes et la réaction est arrêtée par addition de 3 ml de tampon glacé et ultra-filtration. Les filtres GF/B (WHATMAN) sont rincés à 3 reprises avec 3 ml de tampon froid et placés dans des tubes contenant 10 ml de liquide scintillant (BECKMAN Ready-Solv EP). La radioactivité est mesurée 12 heures après avec un spectromètre à scintillation liquide (BECKMAN LS 7000), de rendement égal à 40 %.

Le binding spécifique est calculé par différence entre le binding total et le binding non spécifique déterminé en présence de 100 μ Moles d'atropine.

Tous les essais sont réalisés trois fois et ce, à trois reprises, l'erreur standard devant être inférieure à 10 %.

7. 2. 3. Résultats

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 29 et représentés par les courbes des figures n° 30 et 31

Les IC₅₀ déterminés graphiquement sont les suivantes :

SPARTEINE : $1,3 \cdot 10^{-5}$ M

LUPANINE : $2,2 \cdot 10^{-5}$ M

ATROPINE : $3,1 \cdot 10^{-10}$ M

La sparteïne et la lupanine montrent une faible affinité pour les récepteurs muscariniques. En effet, il est généralement admis qu'il y a une affinité lorsque l'IC₅₀ est inférieure ou égale à 10^{-6} M.

L'atropine montre, par contre, une très grande affinité pour ces récepteurs. Ce résultat se rapproche de celui de YAMAMURA et SNYDER (1974) qui ont obtenu par cette substance une IC₅₀ comprise entre 1 et $2 \cdot 10^{-9}$ M.

7. 3. ETUDE SUR LES RECEPTEURS NICOTINIQUES

La technique utilisée est dérivée de celles décrites précédemment par BOSMANN (1972), ETEROVIC et BENNETT (1974) ; JONES et Coll. (1977).

	CONCENTRATIONS EN MOLES									
	10^{-6}		$5 \cdot 10^{-6}$		10^{-5}		$5 \cdot 10^{-5}$		10^{-4}	
SPARTEINE	0		30 ± 4		44 ± 5		79 ± 6		90 ± 8	
LUPANINE	0		24 ± 3		35 ± 5		64 ± 8		74 ± 8	
ATROPINE	10^{-12}	$5 \cdot 10^{-12}$	10^{-11}	$5 \cdot 10^{-11}$	10^{-10}	$5 \cdot 10^{-10}$	$8 \cdot 10^{-10}$	10^{-9}	10^{-8}	10^{-6}
	0	0	0	0	20 ± 3	60 ± 5	75 ± 6	82 ± 6	90 ± 7	97 ± 8

TABLEAU 29 : INHIBITION DU BINDING DU $^3\text{H-QNB}$ PAR LES 3 SUBSTANCES/

Les résultats sont en pourcentage de déplacement. Ils sont exprimés par la moyenne des 3 essais \pm erreur standard.

% de déplacement

concentrations en Mo

Figure 30 : COURBES DE DÉPLACEMENT DU 'H-QNE PAR LA SPARTEINE ET LA LUPANINE

Substances	IC ₅₀ en Mo/L
● SPARTEINE	1,8 · 10 ⁻⁵
○ LUPANINE	2,2 · 10 ⁻⁵

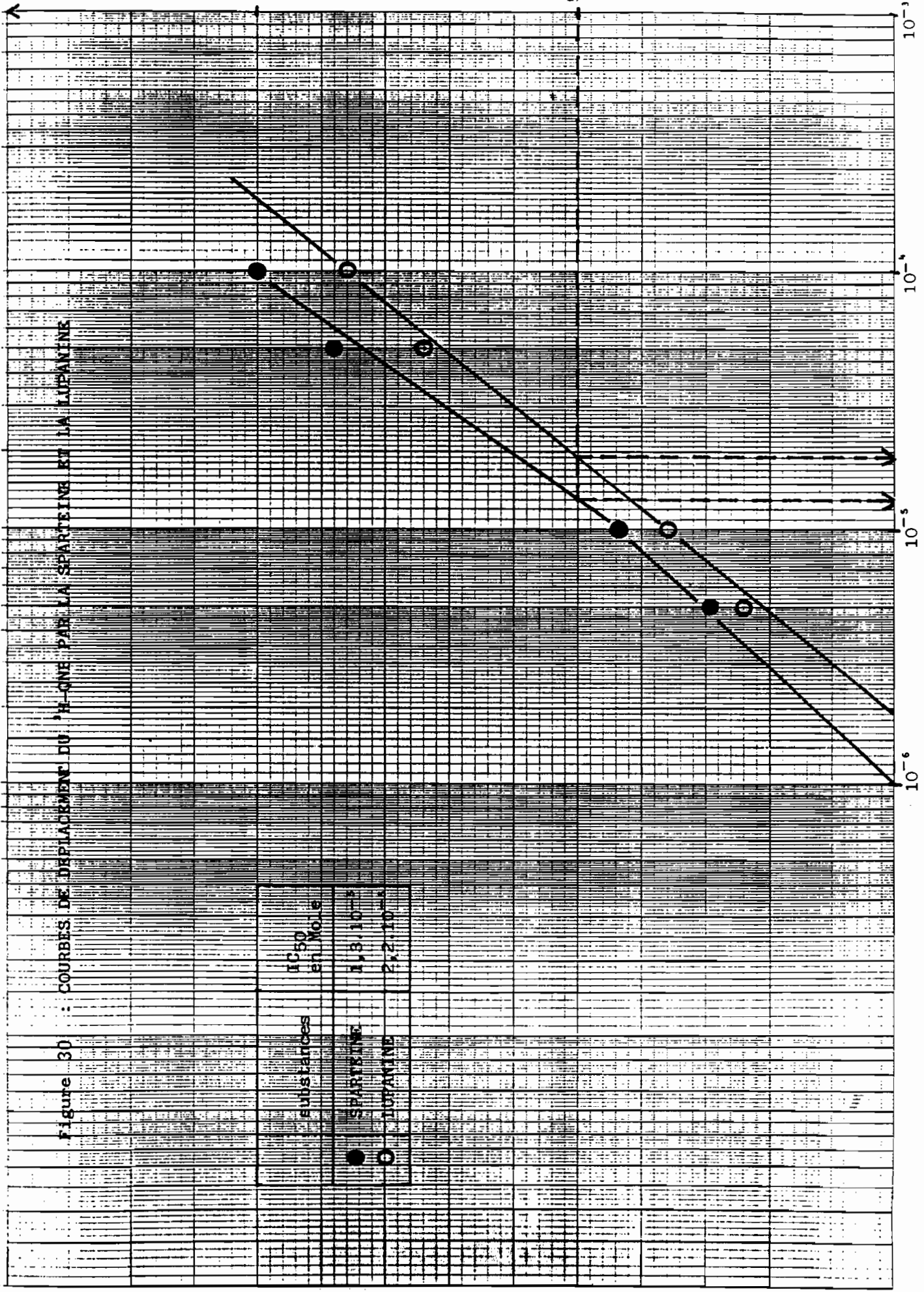
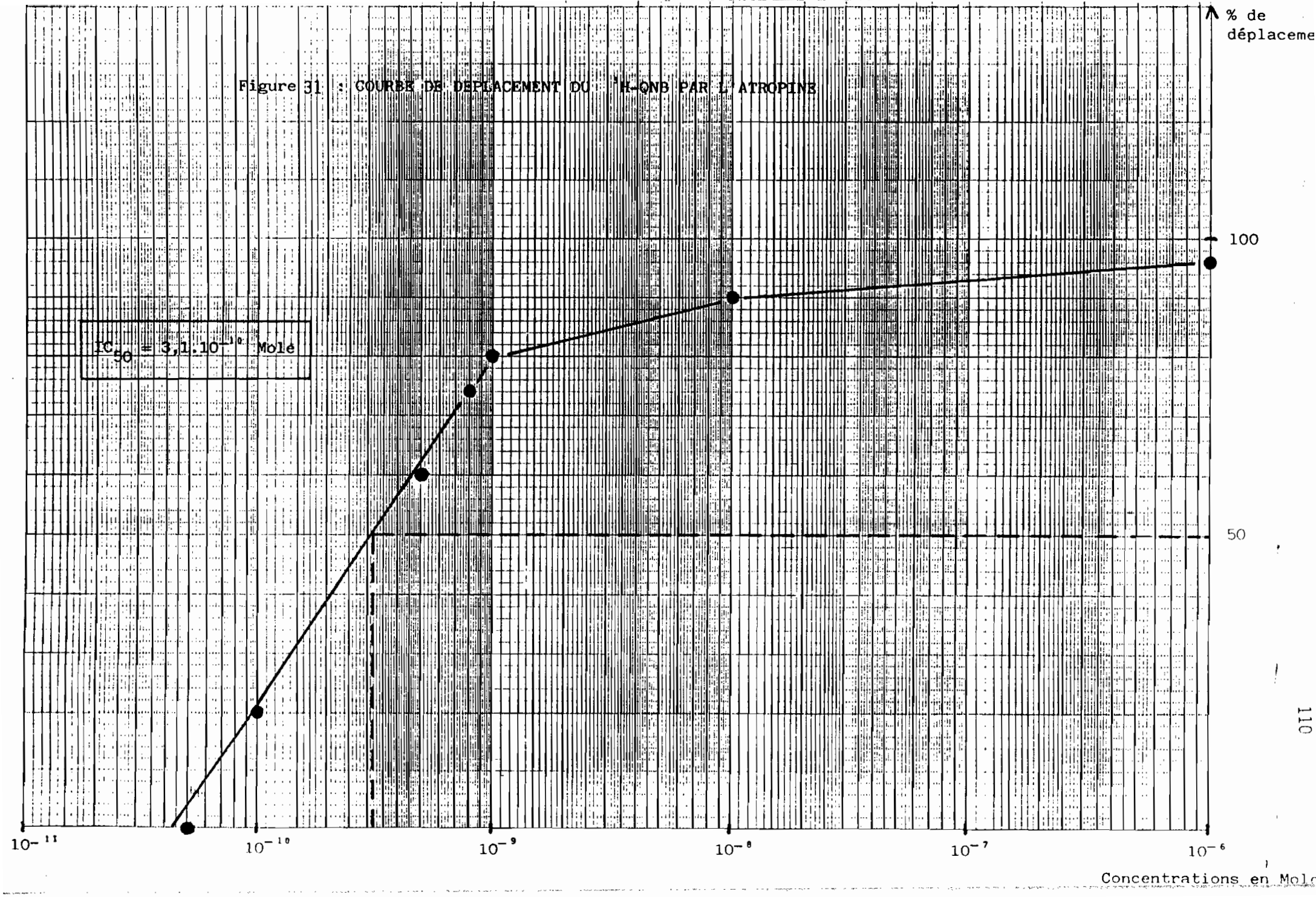


Figure 31 : COURBE DE DEPLACEMENT DU ³H-ONB PAR L'ATROPINE



$IC_{50} = 3,1 \cdot 10^{-10}$ Mole

% de déplacement

100

50

Concentrations en Mole

110

7. 3. 1. Isolement des récepteurs.

Le cortex de Rat est disséqué comme pour l'étude sur les récepteurs muscariniques.

Après homogénéisation au Potter dans du saccharose 0,32 M (10 ml/100 mg de tissu), l'homogénat est centrifugé pendant 10 minutes à 1000 g à + 4° C. Le surnageant est ensuite recentrifugé à 15 000 g pendant 20 minutes. Le culot est enfin mis, à raison de 10 mg/ml dans une solution de Ringer à pH 7,4 (NaCl 115 mM ; KCl 5 mM ; CaCl₂ 1,8 mM ; MgSO₄ 1,3 mM ; KH₂PO₄ 4 mM ; Tris-HCl 33 mM ; Glucose 3,3 mM) et homogénéisé par sonification.

7. 3. 2. Mise en oeuvre de la réaction.

Le ligand tritié utilisé est la ³H-Nicotine fournie par NEN (New England Nuclear) avec une activité spécifique de 35 Ci/mMole. Il est utilisé à la concentration de 5.10⁻⁸ M (concentration voisine de celle du KD).

L'addition des substances dans le milieu réactionnel est réalisée dans l'ordre suivant :

- | | |
|---------------------------------------|--------------|
| - Suspension de tissu | 1000 μ l |
| - Tampon Ringer | 300 μ l |
| - Substances à étudier | 100 μ l |
| Après 60 minutes d'incubation à 25° C | |
| - ³ H-Nicotine | 100 μ l |

Après une nouvelle incubation de 15 minutes à 25° C, la réaction est arrêtée par addition de 5 ml de tampon Ringer glacé et ultrafiltration. Les filtres GF/B sont rincés avec 5 ml du même tampon glacé et la suite de la manipulation se poursuit comme dans le cas de l'étude sur les récepteurs muscariniques.

La lupanine, la spartéine et la nicotine (substance de référence) sont étudiées à des concentrations comprises entre 10⁻⁸ et 10⁻⁵ M/l. Le binding spécifique est calculé par différence entre le binding total et le binding non spécifique déterminé en présence de 100 μ Moles de nicotine. Comme pour les récepteurs muscariniques, les essais sont réalisés trois fois, et ce, à trois reprises, l'erreur standard devant être inférieure à 10 %.

7. 3. 3. Résultats

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 30 et représentés sur les courbes de la figure n° 32.

Les IC₅₀ déterminées graphiquement sont les suivantes :

SPARTEINE : $8 \cdot 10^{-7}$ M

LUPANINE : 10^{-6} M

NICOTINE : $1,8 \cdot 10^{-7}$ M

La spartéine et la lupanine ont une affinité voisine pour les récepteurs nicotiniques. Cette affinité est environ 10 fois plus faible que celle de la nicotine. Pour cette dernière, l'IC₅₀ obtenue est 10 fois plus faible que celle de ETEROVIC et BENNETT (1974), mais ces auteurs avaient utilisé un autre ligand radioactif : l'alpha-³H-Bungarotoxine

7. 4. DISCUSSION ET CONCLUSION.

La lupanine et la spartéine ont des activités très voisines pour les récepteurs cholinergiques centraux. Elles ont peu d'affinité pour les récepteurs muscariniques et une bonne affinité pour les récepteurs nicotoniques. Ces résultats sont à rapprocher de ceux obtenus dans l'étude in vivo concluant à un impact sur les récepteurs ganglionnaires. A la même dose, ces deux substances se comportent comme des antagonistes compétitifs pour les récepteurs cholinergiques impliqués dans la transmission ganglionnaire. La lupanine et la spartéine ont la même activité tant in vitro qu'in vivo pour les récepteurs nicotiniques.

	CONCENTRATIONS EN MOLES						
	10^{-8}	5.10^{-8}	10^{-7}	5.10^{-7}	10^{-6}	5.10^{-6}	10^{-5}
SPARTEINE	0	0	15 ± 1	43 ± 2	54 ± 3	82 ± 5	95 ± 3
LUPANINE	0	0	12 ± 2	38 ± 3	48 ± 2	78 ± 5	86 ± 5
NICOTINE	0	28 ± 3	40 ± 2	64 ± 4	79 ± 4	93 ± 4	100 ± 2

TABLEAU 30: INHIBITION DU BINDING DE LA ^3H -NICOTINE PAR LES 3 SUBSTANCES.

Les résultats sont en pourcentage de déplacement. Ils sont exprimés par la moyenne des 3 essais \pm erreur-standard.

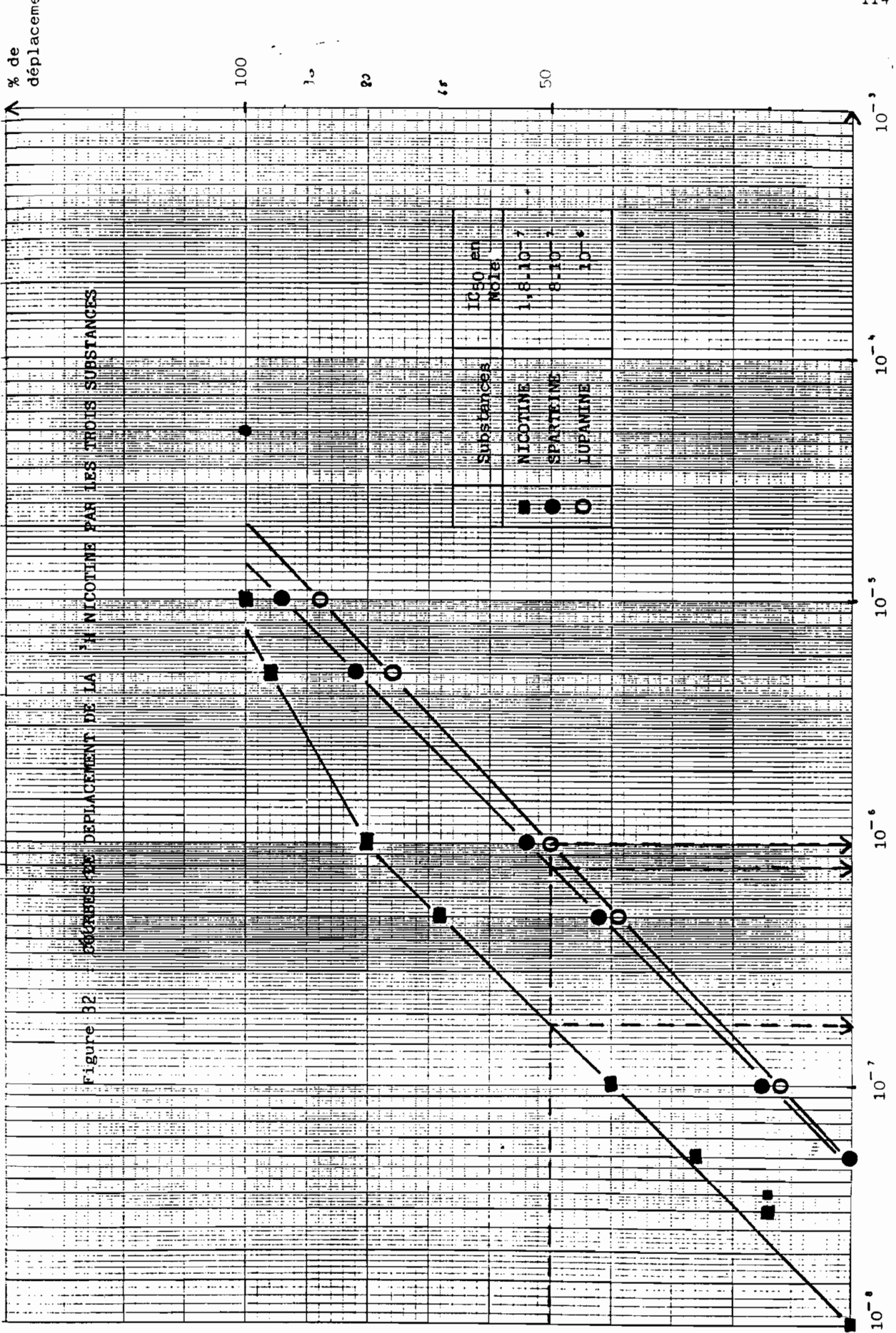


Figure 82 COURBES DE DEPLACEMENT DE LA ²¹⁴PB NICOTINE PAR LES TROIS SUBSTANCES

% de déplacement

100

75

50

25

0

10^{-8}

10^{-7}

10^{-6}

10^{-5}

10^{-4}

10^{-3}

8 - ETUDE DES EFFETS CENTRAUX :
PROFIL PSYCHOPHARMACOLOGIQUE CHEZ LA SOURIS

Dans le chapitre des essais préliminaires, nous avons noté que le tableau de l'intoxication aigue était dominée par des tremblements et des convulsions. Cette symptomatologie pouvant invoquer des actions centrales, nous avons tenté de déterminer le profil psychopharmacologique de la spartéine et de la lupanine.

8. 1. PRINCIPE GENERAL.

Le principe utilisé repose sur l'étude des interactions de la spartéine et de la lupanine avec divers réactifs pharmacologiques, sauf dans le cas de l'étude de l'action directe des 2 alcaloïdes sur la température rectale.

Le protocole suivi s'inspire dans ses grandes lignes de celui décrit par CHERMAT et Coll. (1976) pour l'étude de substances cholinergiques, protocole auquel nous avons ajouté d'autres tests d'utilisation courante.

La présente étude a été effectuée avec des doses pharmacologiques choisies arbitrairement (1/5 de la DL₅₀ en I.P), soit environ 7 mg/Kg pour la spartéine et 35 mg/Kg pour la lupanine.

8. 2. CONDITIONS GENERALES D'ETUDE

Les conditions d'hébergement, d'alimentation des souris sont identiques à celles décrites au paragraphe 3. 1. lors des essais préliminaires.

Les substances étudiées, mises en solution dans du soluté isotonique de chlorure de sodium à 9 g/l sont administrées par voie intrapéritonéale sous un volume constant de 0,5 ml/20 g de poids corporel.

Toutes les expériences ont été réalisées à la température du laboratoire ($22 \pm 2^\circ \text{C}$). Pour chaque substance et chaque essai, nous utilisons au moins 10 animaux, sauf pour l'étude de l'action sur la température rectale (6 animaux par lot).

8. 3. ACTION SUR LA TEMPERATURE RECTALE.

8. 3. 1. Méthodologie.

La température rectale est mesurée chez la souris à l'aide d'une sonde porteuse d'un couple thermoélectrique relié à un galvanomètre et introduite à une profondeur constante (APELEX, 29 rue Salvator Allende 92220 BAGNEUX).

Après prise des températures avant traitement et répartition au hasard des lots, les températures sont mesurées toutes les 15 minutes jusqu'à 150 minutes, soit 2 h 30 après l'administration de chaque alcaloïde.

8. 3. 2. Résultat

Les moyennes des températures rectales pour chaque lot et leur pourcentage de variation sont rassemblées dans le tableau 31

L'examen de ce tableau montre que la lupanine à 35 mg/Kg et la spartéine à 7 mg/Kg, dans nos conditions opératoires, sont dénuées de tout pouvoir hypothermisant ou hyperthermisant propre. Elles n'entraînent donc pas de variation significative de la température rectale de la Souris Swiss (test t de Student).

8. 4. INTERACTIONS AVEC L'AMPHETAMINE : MODIFICATION DE LA TOXICITE DE GROUPE.

8. 4. 1. Méthodologie

Les essais sont réalisés sur des lots de 10 souris mâles groupées dans des cristallisoirs de verre de 20 cm de diamètre et de 10 cm de hauteur fermés par un couvercle grillagé.

Nous avons étudié les interactions avec la toxicité de groupe, amphétaminique en adoptant une dose d'amphétamine proche de la DL_{50} . Cette technique permet d'objectiver, soit un antagonisme (diminution de la létalité) soit une potentialisation (augmentation de la létalité).

Le tartrate de dexamphétamine est administré par voie intrapéritonéale (40 mg/Kg) 60 minutes après l'administration par voie I.P de lupanine ou de spartéine.

La létalité est notée d'heure en heure pendant 4 heures, puis aux 6ème, 8ème et 24èmes heures.

8. 4. 2. Résultat.

Les résultats obtenus à la 24ème heure (nombre cumulé de morts) font l'objet du tableau n°32 suivant :

LETALITE SUR 10 SOURIS GROUPEES		
TEMOINS	SPARTEINE	LLPANINE
7	9	6

TABLEAU 32 : Interaction des 2 substances avec la toxicité de groupe amphétaminique.

TEMPS en min	TEMOINS		SPARTEINE 7 mg/kg		LUPANINE 35 mg/kg	
	$\bar{M} + S.E.M.$	% VARIATION	$\bar{M} + S.E.M.$	% VARIATION	$\bar{M} + S.E.M.$	% VARIATION
0 Avant trait.	$37^{\circ}22 \pm 0,23$	-	$37^{\circ}32 \pm 0,22$	-	$37^{\circ}40 \pm 0,17$	-
15	$37^{\circ}07 \pm 0,21$	- 0,40	$37^{\circ}60 \pm 0,19$	+ 0,75	$37^{\circ}30 \pm 0,25$	- 0,27
30	$37^{\circ}02 \pm 0,34$	- 0,54	$38^{\circ}14 \pm 0,22$	+ 2,20	$36^{\circ}90 \pm 0,36$	- 1,34
45	$37^{\circ}58 \pm 0,21$	+ 0,97	$37^{\circ}32 \pm 0,29$	0,00	$37^{\circ}32 \pm 0,25$	- 0,21
60	$37^{\circ}48 \pm 0,23$	+ 0,70	$37^{\circ}52 \pm 0,40$	+ 0,54	$37^{\circ}22 \pm 0,27$	- 0,48
75	$37^{\circ}30 \pm 0,27$	+ 0,21	$37^{\circ}60 \pm 0,29$	+ 0,75	$37^{\circ}42 \pm 0,44$	+ 0,05
90	$37^{\circ}26 \pm 0,26$	+ 0,11	$37^{\circ}60 \pm 0,27$	+ 0,75	$37^{\circ}24 \pm 0,30$	- 0,43
105	$37^{\circ}50 \pm 0,15$	+ 0,75	$36^{\circ}96 \pm 0,43$	- 0,96	$37^{\circ}22 \pm 0,24$	- 0,21
120	$36^{\circ}92 \pm 0,23$	- 0,81	$37^{\circ}06 \pm 0,39$	- 0,43	$37^{\circ}18 \pm 0,21$	- 0,59
135	$37^{\circ}07 \pm 0,18$	- 0,54	$36^{\circ}84 \pm 0,57$	- 1,29	$36^{\circ}82 \pm 0,21$	- 1,55
150	$37^{\circ}20 \pm 0,27$	- 0,05	$36^{\circ}62 \pm 0,47$	- 1,88	$37^{\circ}10 \pm 0,27$	- 0,80

Tableau 31: Action directe des deux substances sur la température rectale.

La lupanine à 35 mg/Kg et la spartéine^{*} par voie I.P n'antagonisent pas la toxicité de groupe. De plus, le fait que la létalité de 100 % n'a pas été atteinte dans le lot témoin rend les résultats difficilement interprétables.

8. 5. INTERACTION AVEC LE PENTOBARBITAL.

8. 5. 1. Méthodologie.

La détermination du temps de latence, du pourcentage d'animaux endormis et de la durée moyenne du sommeil consécutifs à l'injection de pentobarbital (40 mg/Kg I.P) permet de déceler une éventuelle interférence médicamenteuse, les déprimeurs du système nerveux central intensifient ces activités, les stimulants, au contraire les antagonisent.

Les traitements par la lupanine ou la spartéine sont pratiqués 30 minutes avant l'injection du barbiturique. La latence d'endormissement est appréciée par le temps mis à perdre le réflexe de redressement et le réveil par la réapparition de ce réflexe.

8. 5. 2. Résultat.

Le tableau 33 résume l'ensemble des observations.

L'analyse du tableau 33 montre que la lupanine à 35 mg/Kg et la spartéine à 7 mg/Kg entraînent des variations négligeables dans le temps d'endormissement ainsi que dans la durée du sommeil au pentobarbital.

8. 6. INTERACTION AVEC L'OXOTREMORINE

L'oxotrémorine est un cholinergique qui entraîne chez la souris des effets d'origine centrale (hypothermie et tremblements) et des effets périphériques (salivation, pleurs, diarrhées).

8. 6. 1. Méthodologie

L'hypothermie se mesure à la température rectale toutes les 30 minutes pendant 2 heures.

Les tremblements sont cotés de 0 à 3 toutes les 10 minutes jusqu'à 30 minutes puis toutes les 30 minutes pendant 2 heures selon le barème suivant :

Lots	Temps d'endormissement (secondes)	Durée du sommeil (minutes)
Témoins	361 ± 39	42 ± 4
SPARTEINE	399 ± 24	53 ± 7
LUPANINE	378 ± 23	40 ± 2

Tableau 33: Interaction des 2 substances avec le pentobarbital
(Moyennes ± S.E.M.)

0 : absence de tremblement

1 : les animaux tremblent seulement lorsqu'on les saisit par la queue, le tremblement pouvant persister fugacement lorsque les souris sont replacées dans leur cage.

2 : les animaux tremblent de façon intermittente, le tremblement étant accentué par la manipulation.

3 : les animaux tremblent de façon permanente.

Les signes périphériques (pleurs, salivation, diarrhée) sont appréciés par une méthode de tout ou rien (soit 1 ou 0) toutes les 30 minutes pendant 2 heures.

Les substances étudiées ont été administrées 30 minutes avant l'injection d'oxotrémorine (0,5 mg/Kg I.P).

8. 6. 2. Résultats

Les résultats sont regroupés dans les tableaux 34, 35, 36

L'analyse de ces 3 tableaux montre que la lupanine et la spartéine aux doses étudiées n'interfèrent pas avec les effets centraux et périphériques de l'oxotrémorine.

8. 7. DISCUSSIONS ET CONCLUSIONS GENERALES : SYNTHÈSE DES RESULTATS.

Globalement, les différents tests mis en oeuvre afin de déceler une activité des 2 alcaloïdes dans le domaine du système nerveux central se sont révélés négatifs. Certes, ces résultats ne doivent pas être mis au crédit d'une absence d'activité et pour cause. Nous essayerons d'argumenter nos résultats et d'analyser les causes éventuelles de cet échec :

- D'abord la dose : nous l'avons choisie en tenant compte du fait que la présente étude s'inscrit dans le cadre d'une étude pharmacologique. Le 1/5 de la DL_{50} paraît donc être la limite supérieure, sinon, cette étude passe dans le domaine de la toxicité. A titre de comparaison, nous pouvons invoquer les résultats obtenus sur le chien où l'activité ganglioplégique se manifestait à 5 mg/Kg pour les 2 alcaloïdes, et même dès 1 mg/Kg pour les effets tensionnels.

- Le nombre de tests utilisés : il ne nous a pas paru opportun de les multiplier étant donné que tous ceux qui ont été effectués se sont révélés négatifs.

LOTS	INDEX DE TREMBLEMENTS (0 à 3)						Somme des 6 index
	10 min	20 min	30 min	60 min	90 min	120 min	
TEMOINS	2,3 ± 0,2	2,4 ± 0,2	2,0 ± 0,2	1,1 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,1 ± 0,1	8,5
SPARTEINE	2,1 ± 0,2	2,0 ± 0,2	1,8 ± 0,2	1,4 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0 -	7,9
LUPANINE	2,2 ± 0,2	2,4 ± 0,2	2,2 ± 0,2	1,3 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0 -	8,6

Tableau 34: Interactions avec les tremblements à l'oxotremorine
(Moyenne ± S.E.M.)

LOTS	AVANT OXOTREMORINE	APRES OXOTREMORINE			
		30 min	60 min	90 min	120 min
TEMOINS	37,9 ± 0,2	32,0 ± 0,3	31,3 ± 0,5	32,3 ± 0,4	34,2 ± 0,3
SPARTEINE	38,0 ± 0,2	31,9 ± 0,4	30,6 ± 1,1	32,4 ± 0,4	34,4 ± 0,4
LUPANINE	38,1 ± 0,2	32,0 ± 0,3	31,5 ± 0,2	32,6 ± 0,2	34,5 ± 0,3

Tableau 35: Interactions avec l'hypothermie à l'oxotremorine
(Moyenne ± S.E.M.)

LOTS	EFFETS PERIPHERIQUES DE L'OXOTREMORINE											
	PLEURS				SALIVATION				DEFECATION			
	30 min	60 min	90 min	120 min	30 min	60 min	90 min	120 min	30 min	60 min	90 min	120 min
TEMOINS	0,8 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0 -	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	0,5 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,1
SPARTEINE	0,7 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0 -	0,4 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0 -	0,1 ± 0,1
LUPANINE	0,5 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0 -	0 -	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0 -	0,2 ± 0,1

Tableau 36 : Interactions avec les effets périphériques de l'oxotremorine
(Moyenne ± S.E.M.)

- Si nous nous réfèrons à HAZARD (1950) qui, rapportant les actions de la spartéine sur le système nerveux central écrit : "à forte dose, elle le déprime", nous pensons qu'il s'agit probablement de dose toxique.

- A l'appui de notre argumentation, nous rapporterons les travaux de NUCIFORA et MALONE (1971) qui n'ont décelé chez le rat traité par la même voie que dans notre étude (I.P), aucune action dépressive spécifique sur le système nerveux central, sauf une diminution de l'activité motrice, du rythme respiratoire et une hypothermie, mais avec des doses allant jusqu'à 55,5 mg/Kg. A cette dernière dose, nous aurions largement dépassé la DL₅₀ de la spartéine chez la souris par voie I.P.

- Le problème de la barrière hémato-encéphalique.

Certes, des auteurs (PEBAY-PEYROULA et Coll., 1971) ont rapporté un cas d'intoxication aigue, où ils ont trouvé un taux de 24 mg/Kg dans le cerveau. Il est donc évident que la spartéine traverse la barrière hémato-encéphalique, mais après quelle dose administrée ? La connaissance du coefficient de partage eau-lipide des alcaloïdes aurait permis d'apporter un élément de réponse supplémentaire.

9 - ETUDE DES ACTIONS SUR LES FIBRES LISSES

Il a été rapporté dans la littérature (MERCIER, 1948), les actions de la spartéine sur les fibres lisses digestives. En outre, les propriétés ocytociques de la spartéine, mises à profit en thérapeutique, témoignent des actions de cet alcaloïde sur les fibres lisses utérines. Ces deux considérations sont à la base de la présente étude dont le but est de rechercher ces propriétés avec la lupanine.

Elle comporte deux parties :

- L'étude de l'action directe de chaque alcaloïde et son interaction avec des substances contracturantes connues (Acétylcholine, Chlorure de Baryum) sur un modèle biologique courant : le duodénum isolé de Rat.

- L'étude de leur action directe sur les fibres lisses utérines dont le modèle est représenté par les cornes utérines de lapine non gravide.

Devant le faible nombre d'essais qui ont été effectués, il ne sera rapporté que des résultats qualitatifs.

9. 1. ETUDE SUR LES FIBRES LISSES INTESTINALES

9. 1. 1. Méthodologie.

On enregistre les contractions spontanées du duodénum isolé de Rat selon la méthode de MAGNUS (1904) et on observe l'influence des alcaloïdes à différentes concentrations ajoutés au milieu de survie (Tyrode) sur le tonus de la préparation, sur l'amplitude de ses contractions. Dans le cas de l'étude des interactions, ces deux paramètres sont observés en ajoutant au milieu de survie, soit de l'acétylcholine (1 mcg) soit du chlorure de baryum (1 mg), 30 secondes avant l'addition des alcaloïdes.

9. 1. 2. Protocole.

Sur un rat de 150 à 200 g, assommé puis saigné par section des carotides, on pratique une laparotomie médiane et on prélève rapidement un fragment de duodénum. Un fragment de 2 cm de longueur est installé

dans une cuve de 10 ml, contenant du Tyrode maintenu à 37° C et oxygéné. Après tarage et étalonnage du dispositif d'enregistrement (Physiograph MK III NARCO BIO SYSTEMS), la préparation y est connectée, à l'aide d'un capteur (Microdisplacement myograph Transducer (F-50 NARCO)).

Les alcaloïdes ont été étudiés à des concentrations molaires allant de 10^{-9} à 10^{-2} .

9. 1. 3. Résultats

9. 1. 3. 1. Action propre (fig n°33 et 34).

Dans nos conditions expérimentales, les effets stimulants de la spartéine n'apparaissent qu'à partir d'une concentration de 10^{-4} M, alors que la lupanine manifeste ses effets excitants dès la concentration de 10^{-7} M. L'examen des enregistrements montre que les modifications engendrées par les deux alcaloïdes concernent essentiellement l'amplitude des contractions de l'organe isolé.

9. 1. 3. 2. Interaction avec l'acétylcholine (fig n°35 et 36)

Les deux alcaloïdes, quelle que soit la concentration, n'ont pas interféré avec les effets contracturants de l'acétylcholine. On n'observe ni antagonisme, ni potentialisation, le tonus et l'amplitude des contractions n'ayant pas changé sous l'action des deux alcaloïdes.

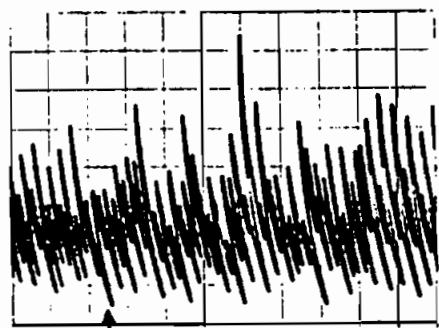
9. 1. 3. 3. Interaction avec le chlorure de baryum (fig n°37 et 38)

Ce n'est qu'à la concentration de 10^{-4} M qu'on observe un léger antagonisme avec la lupanine (fig n° 37). Par contre, aucune interaction avec la spartéine n'a pu être observée dans nos conditions expérimentales.

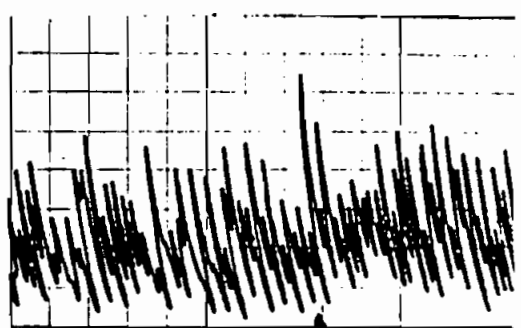
9. 1. 4. Discussion.

En concluant les actions de la spartéine sur l'intestin isolé, MERCIER (1948) écrivait : "... et nous avons constaté la grande variabilité des effets exercés par cet alcaloïde sur l'intestin isolé...".

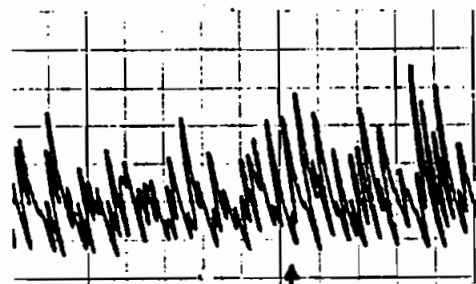
Effectivement, il ne nous a pas été possible de reproduire les mêmes effets avec les mêmes doses de spartéine, d'un essai à l'autre.



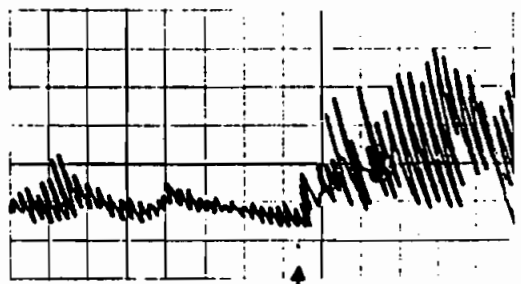
SPARTEINE
 10^{-7} M



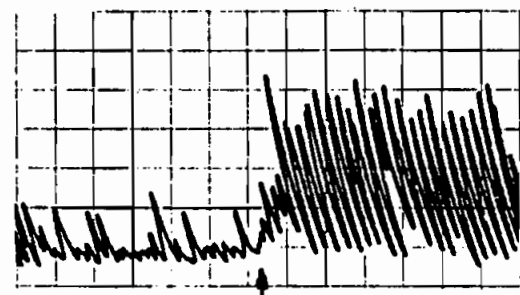
SPARTEINE
 10^{-6} M



SPARTEINE
 10^{-5} M



SPARTEINE
 10^{-4} M



SPARTEINE
 10^{-3} M

Figure 33: DUODENUM ISOLE DE RAT : ACTION DIRECTE DE LA SPARTEINE

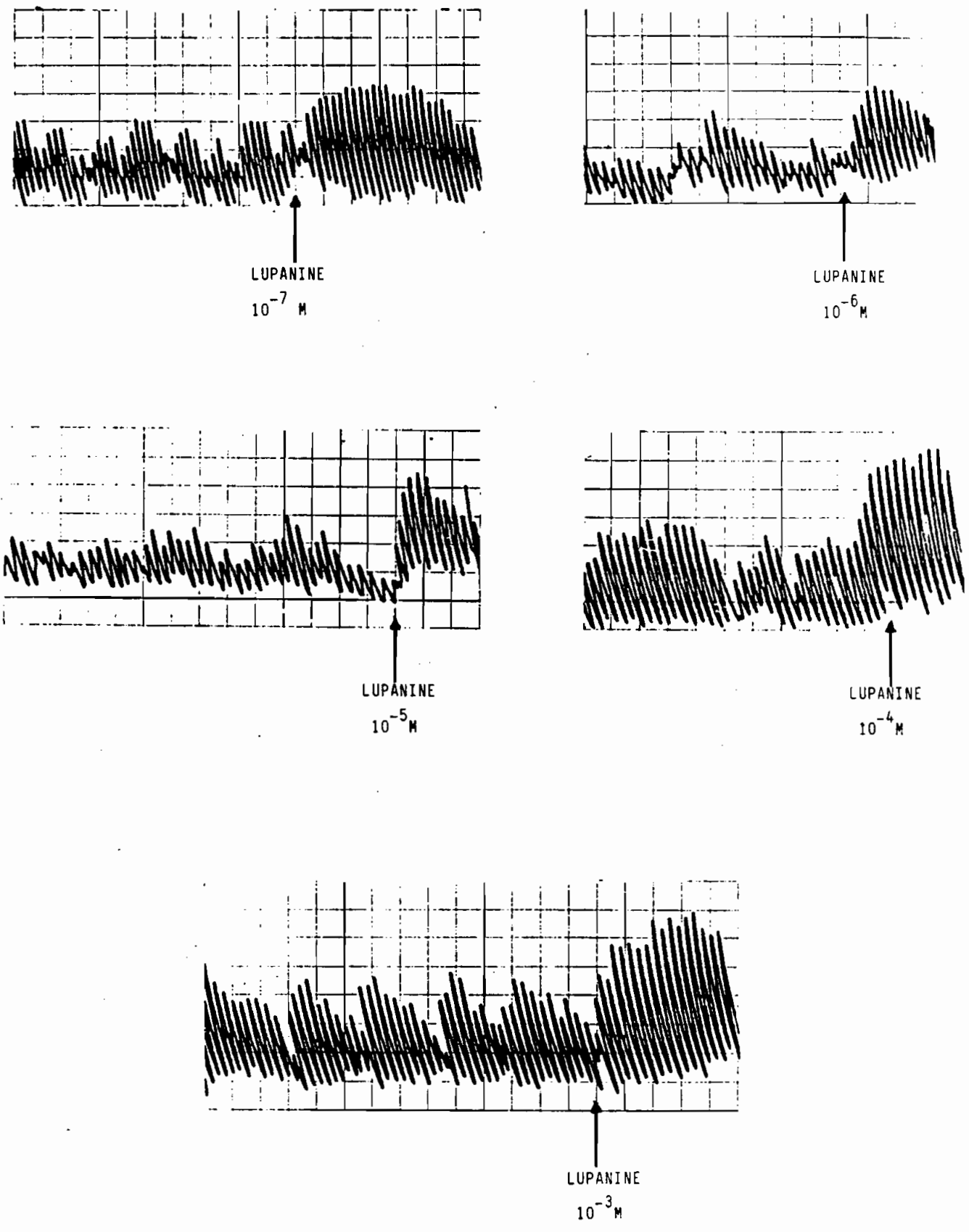


Figure 34 : DUODENUM ISOLE DE RAT : ACTION DIRECTE DE LA LUPANINE

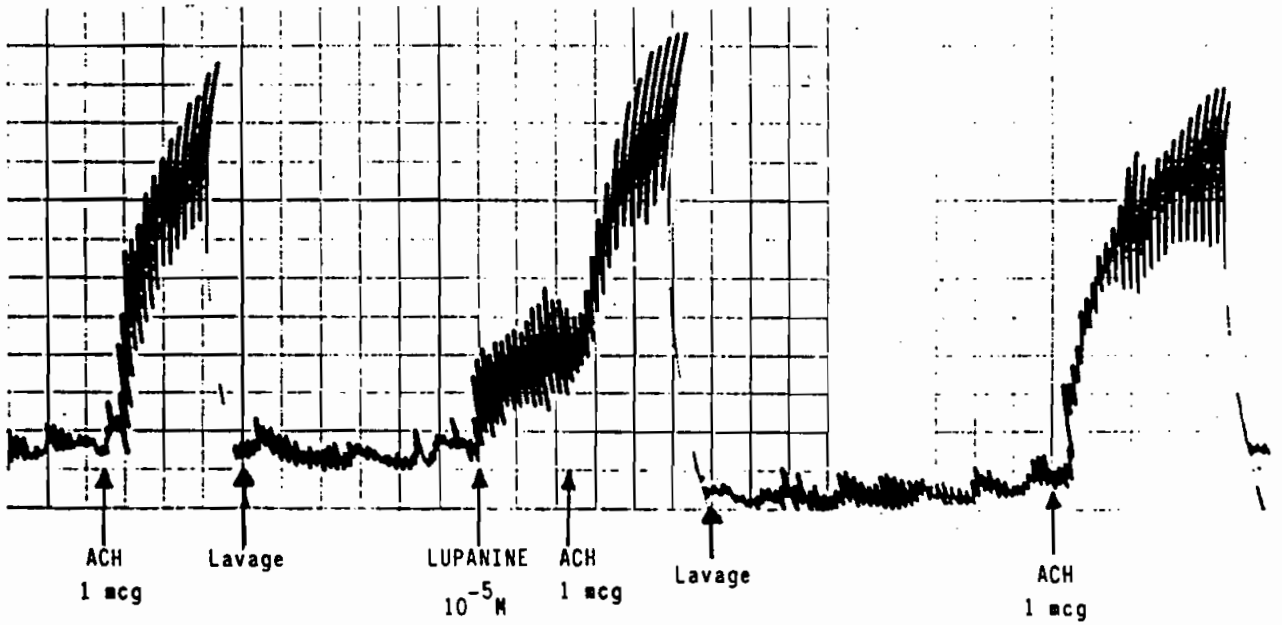


Figure 35 : DUODENUM ISOLE DE RAT : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC L'ACETYLCHOLINE

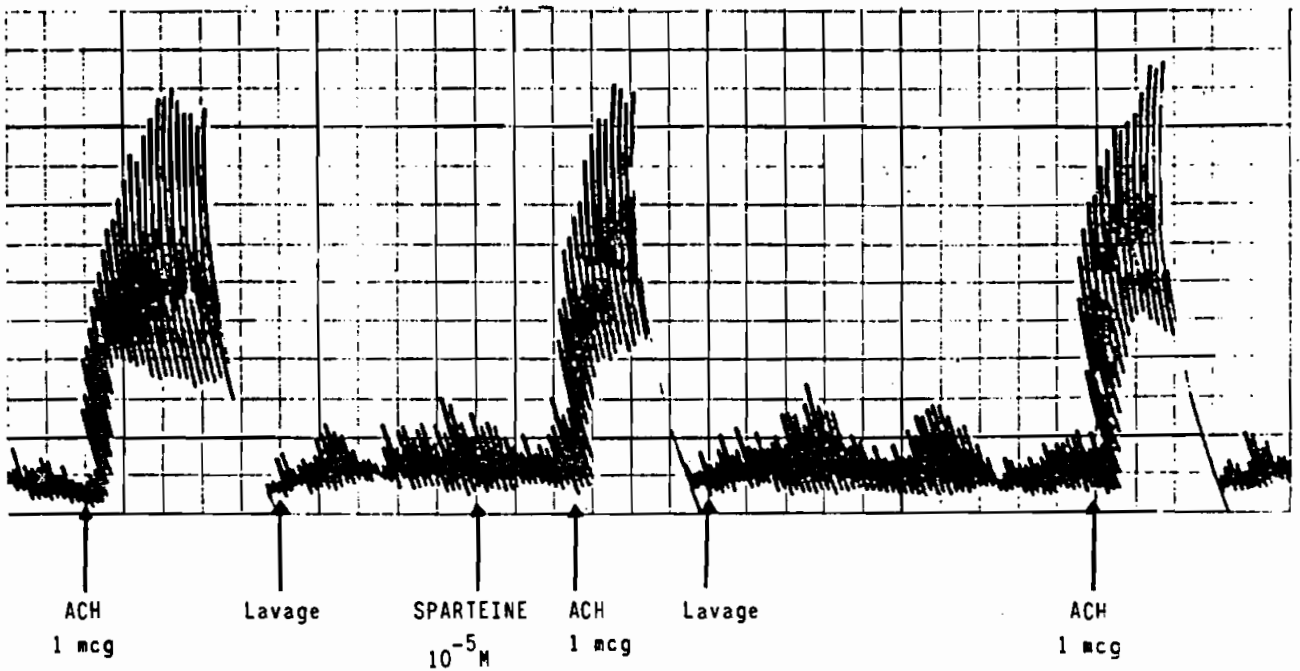


Figure 36 : DUODENUM ISOLE : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC L'ACETYLCHOLINE

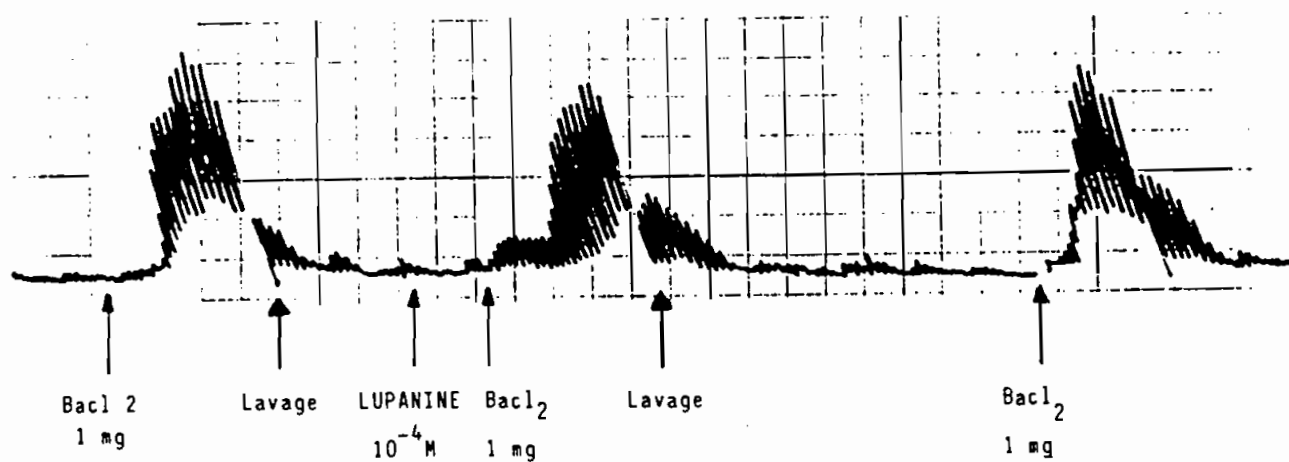


Figure 37: DUODENUM ISOLE DE RAT : INTERACTION DE LA LUPANINE AVEC LE CHLORURE DE BARYUM

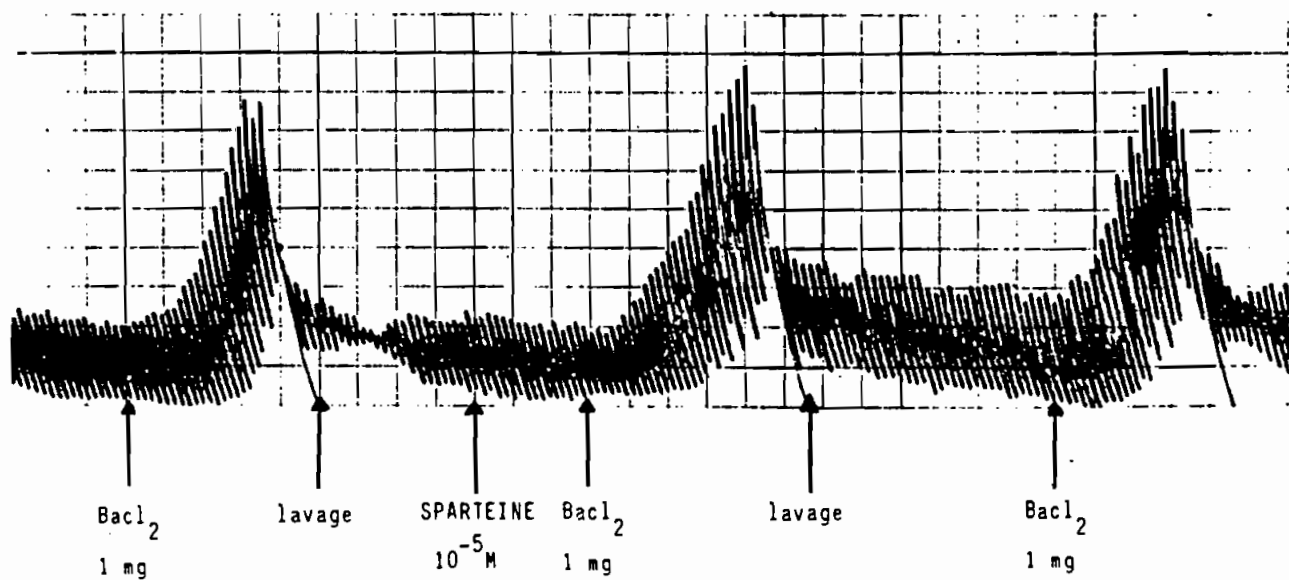


Figure 38: DUODENUM ISOLE : INTERACTION DE LA SPARTEINE AVEC LE CHLORURE DE BARYUM

Quant à la lupanine, ses actions stimulantes propres sont plus constantes. L'absence d'interactions des effets des alcaloïdes avec ceux de l'acétylcholine signifie que leur action ne passe pas par un mécanisme neurotrope. Dans ces conditions, leur effet ne pourrait s'expliquer que par une action directe sur les fibres lisses.

9. 2. ETUDE SUR LES FIBRES LISSES UTERINES

9. 2. 1. Méthodologie.

La méthodologie suivie est celle préconisée par la Pharmacopée Européenne (1975). Les conditions techniques sont les mêmes que celles décrites pour l'étude sur le duodénum isolé, sauf la température qui a été maintenue à 32° C afin d'éliminer les contractions spontanées.

9. 2. 2. Protocole.

Sur une lapine non gravide, assommée puis saignée par section des carotides, une incision de l'abdomen est pratiquée afin de dégager le corps utérin. Le fragment de cornes utérines prélevé est installé selon les mêmes modalités que dans le cas de l'étude sur le duodénum isolé.

9. 2. 3. Résultats

La spartéine commence à exercer des actions qu'à partir de la concentration de 10^{-4} M, actions qui deviennent manifestes à 10^{-3} (fig n° 39). Quant à la lupanine, elle possède également des actions sur les fibres utérines, mais moins marquées que celles de la spartéine.

9. 2. 4. Discussion.

Comme nous pouvons le constater, les deux alcaloïdes possèdent des actions propres sur les fibres lisses utérines. Il y a cependant lieu de remarquer que cette action ne s'obtient qu'à des doses relativement fortes.

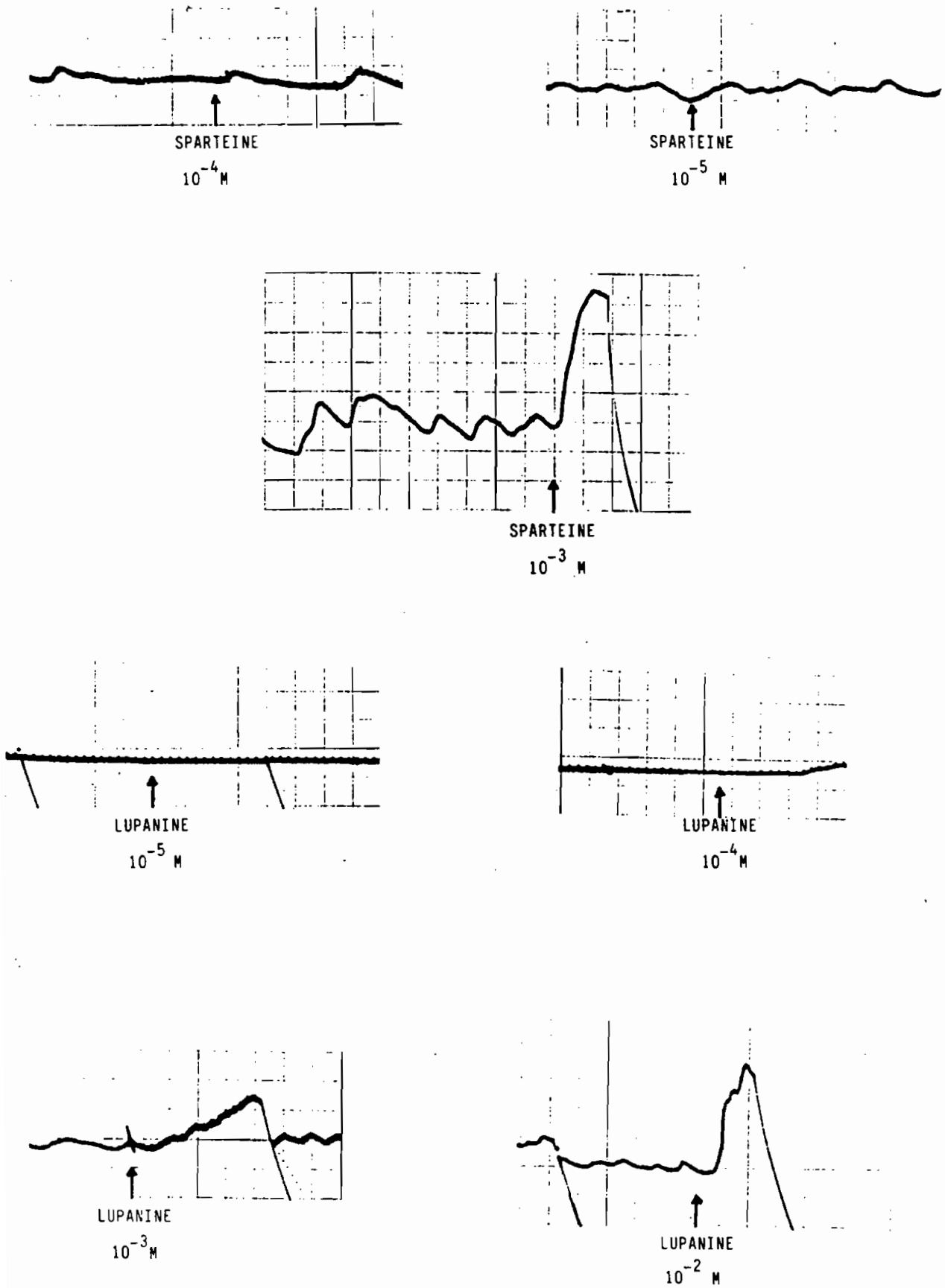


Figure 39 : UTERUS DE LAPINE :
ACTIONS DIRECTES DE LA LUPANINE ET DE LA SPARTEINE

9. 3. CONCLUSION

A travers les résultats obtenus, les deux alcaloïdes exercent des actions propres sur les fibres lisses. Dans nos conditions expérimentales, les deux alcaloïdes se sont révélés évidemment actifs vis à vis des fibres lisses digestives et utérines. Leur mécanisme d'action n'est pas de type neurotrope puisqu'il n'interfère pas avec celui de l'acétylcholine sur le duodénum. Nous nous demandons surtout, en ce qui concerne la spartéine, s'il est possible de parler d'effet stimulant en raison de l'inconstance de ses effets.

Vis à vis des fibres lisses utérines, la spartéine s'est révélée plus active que la lupanine, justifiant son utilisation thérapeutique.

CONCLUSIONS

Le présent travail, sans être exhaustif a permis d'étudier quelques aspects de la pharmacologie et de la toxicologie de la lupanine.

- Du point de vue méthodologie générale, sa proche parenté structurale avec la spartéine nous a servi de base pour établir nos protocoles expérimentaux, discuter nos résultats et émettre des hypothèses. Le fait que toutes les actions de la spartéine, décrites antérieurement soient retrouvées, témoignent de la fiabilité de nos résultats concernant la lupanine.

- La toxicologie de la lupanine est qualitativement identique à celle de la spartéine, l'intoxication aigue entraînant les mêmes symptômes. L'atome d'oxygène supplémentaire de la molécule de lupanine diminue sa toxicité : les doses létales sont plus fortes que celles de la spartéine chez la souris, les manifestations cardiaques plus tardives chez le cobaye.

- La pharmacologie des deux alcaloïdes se caractérise par un certain nombre de propriétés communes et des différences :

. Dans le domaine cardiovasculaire, chez le chien, la spartéine à faibles doses, entraîne d'abord une légère hypertension fugace avant l'installation d'une hypotension plus durable. Quant à la lupanine, elle entraîne systématiquement une hypotension.

Chez le chat, la spartéine est hypertensive alors que la lupanine demeure toujours hypotensive.

. Les deux alcaloïdes interfèrent avec la réactivité du système nerveux autonome en potentialisant l'hypertension adrénergique et en antagonisant la transmission ganglionnaire. Ce dernier caractère est à mettre au compte des propriétés ganglioplégiques qui se manifestent à la même dose pour les deux alcaloïdes. Cependant, la spartéine se différencie de la lupanine, par son impact différent sur les ganglions sympathiques et parasympathiques, alors que cette dernière bloque simultanément les deux systèmes.

L'étude in vitro de la liaison des deux substances aux récepteurs nicotiniqes mis en jeu dans la transmission ganglionnaire a permis de démontrer que leur affinité est identique. Cependant, il est à remarquer que le modèle des récepteurs nicotiniqes étudié est d'origine centrale et il est probable que les récepteurs nicotiniqes centraux ne soient pas strictement identiques à ceux de la périphérie.

Dans ces conditions, en nous basant sur les hypothèses émises antérieurement, la rapidité d'action, voire même la relative puissance d'action de la lupanine vis à vis du ganglion sympathique par rapport à la spartéine doit s'expliquer par une plus grande aptitude à pénétrer dans les ganglions.

Vis à vis du système nerveux central, les deux alcaloïdes n'ont entraîné aucune action centrale manifeste à des doses pharmacologiques. La connaissance de leur coefficient de partage eau-huile pourrait apporter un élément de réponse supplémentaire quant à leur aptitude à traverser la barrière hémato-encéphalique.

Enfin vis à vis des fibres lisses, les deux alcaloïdes exercent des effets stimulants, mais ceux de la spartéine sont très variables.

Certains faits demeurent d'interprétation difficile et demanderaient un complément d'expérimentations :

- Il en est ainsi pour la potentialisation de l'hypertension adrénergique. On comprend mal que des substances qui exercent des effets hypotenseurs propres potentialisent une hypertension. A notre avis, il s'agirait probablement d'une "hypersensibilité de dénervation" (Loi de Cannon).

En effet, l'action ganglioplégique des deux alcaloïdes, à l'origine d'une baisse du tonus sympathique pourrait être rapprochée de l'hypersensibilité de dénervation qui se traduit par une exagération des réponses post-jonctionnelles.

- Il en est de même pour le mécanisme de l'inversion de la pression artérielle qu'ils induisent sous l'action nicotinique excitante de l'acétylcholine .

Les conditions expérimentales permettent d'exclure l'intervention des récepteurs muscariniques et nicotiniques.

- Enfin l'étude des paramètres pharmacocinétiques permettra sans doute de mieux cerner les différences entre l'aptitude de chacun des alcaloïdes à traverser les membranes biologiques.

BIBLIOGRAPHIE

ALBANUS L.

Central and peripheral effects of anticholinergic compounds.
Acta. Pharmacol. Toxicol., 1970, 28, 305-326.

ALLEN J.G.

The emergence of a lupinosis associated myopathy in sheep in Western Australia.
Aust. Vet. J., 1978, 54, 548-549.

ALLEN J.G., CROKER K.P., WILKINSON F.C., WOOD P.M.

An investigation of the removal of coarse plant material from lupin stubble paddocks for the control of ovine lupinosis.
Aust. Vet. J., 1978, 54, 521-524.

ANTOUN M.D., KHAVAD A.O., TAHA O.M.A.

Studies on Sudanese medicinal plants.
The effect of an extract of *Lupinus termis* seeds in chronic eczema.
Lloydia, 1977, 40, 4, 337-339.

BARNES C.D., ELTHERINGTON L.G.

A handbook for drug dosage in laboratory animals.
UNIVERSITY OF CALIFORNIA PRESS, CALIFORNIE, 1973, 247 p.

BELLETT P.

Contribution à l'étude de la lupanine et de ses dérivés.
Ann. Pharm. Fr., 1950, 8, 7-8, 551-563.

BOISSIER J.R., SIMON P.

Un test simple pour l'étude quantitative de la catotonie provoquée chez le rat par les neuroleptiques. Application à l'étude des anticatatoniques.
Thérapie, 1963, 18, 1257-1277.

BOISSIER J.R., SIMON P., WITCHITZ S.

Etude chez le cobaye de la toxicité cardiaque de l'imipramine, de l'amitriptyline et de leurs dérivés monodesméthylés.
Thérapie, 1965, 20, 67-75.

BOSMANN H.B.

Identification and biochemical characteristic of cholinergic receptor of guinea pig cerebral cortex.
J. Biol. Chem., 1972, 247, 1, 130-145.

CHERMAT R., SIMON P., BOISSIER J.R.

Profils psychopharmacologiques de la pilocarpine, de l'oxotrémorine et de l'ésérine.
J. Pharmacol. (Paris), 1976, 7, 2, 227-240.

CLARKE E.G.C.

Isolation and identification of drugs.
THE PHARMACEUTICAL PRESS ED., LONDON, 1975, 2 volumes, 1258 p.

CLEMO G.R., RAMAGE G.R., RAPER R.

J. Chem. Soc., 1933, 136, 644.

COUCH J.F.

Relative toxicity of the lupine alkaloids.
J. Agric. Res., 1926, 32, 51-56.

DUPONT C.

Détermination de la DL₅₀ chez la souris.
(Méthode de Litchfield et Wilcoxon).
J. Pharmacol. (Paris), 1970, 1, 3, 407-414.

ETEROVIC V.A., BENNETT E.L.

Nicotinic cholinergic receptor in brain detected by binding of α -³H
bungarotoxin.
Biochim. Biophys. Acta., 1974, 362, 346-355.

FLURY F., ZERNIK F.

Classification of toxic and lethal doses for the commonly used poisons
and research animals.
ABDERKALDEN, HANDBUCH DER BIOLOGISCHEN ARBEITS METHODEN, 1928, Abt IV,
Teil 7B, 1289-1422.

FUCHS L.,

Commentaires très excellents de l'histoire des plantes (Paris, 2e moitié
du XVIe siècle).
In : Contribution aux essais d'élimination technologique des alcaloïdes
des grains de variété de lupins à potentialité alimentaire. LUCAS M.C.
Mémoire de D.E.A. Pharmacochimie, Tours, 1979, 84 p.

GIUDICELLI J.F.

Calcul des p Ax.
J. Pharmacol. (Paris), 1971, 2, 3, 373-380.

GLADSTONES J.S.

Lupin as crop plants.
Field. Crop. abstract, 1970, 23, 2, 123-148.

GLADSTONES J.S.

The narrow leafed lupin in Western Australia.
Department of Agriculture, 1977, Bull 3990, 37-38.

GLOWINSKI J., IVERSEN L.L.

Regional studies of catecholamines in the rat brain.
J. Neurochem., 1966, 13, 655-669.

GUILLAUME J.

L'INRA et les recherches sur le lupin.
La Nouvelle République du Centre-Ouest, 28 novembre 1978.

GUILLAUME J., CHENIEUX J.C., RIDEAU M.

Feeding value of *Lupinus albus* L in chicken diets (with emphasis on the role of alkaloids).
Nut. Rep. Intern., 1979, 20, 57-65.

HANSEN R.P.

Fatty acid composition of the total lipids from seeds of three cultivars of sweet lupin : *Lupinus albus* CV Newland, *Lupinus albus* CVWB₂ and *Lupinus luteus* CV weiko III.
N.Z.J. Agric. Res., 1976, 19, 343.

HAZARD R.

Sparteïne et adrénaline.
C.R. Acad. Sci., 1932, 194, 130-132.

HAZARD R.

Action de la sparteïne sur les effets vasoconstricteurs de quelques composés adrénaliniques.
C.R. Acad. Sci., 1933, 196, 1696-1698.

HAZARD R.

Précis de thérapeutique et pharmacologie.
MASSON, PARIS, 1950, 9e ed., 969-974.

HAZARD R.

Obscurités et paradoxes en pharmacodynamie.
Act. Pharmacol., 1951, 4, 109-138.

HAZARD R., LARNO S., MOUILLE P., RENIER-CORNEC A.

Action de la sparteïne sur la pression artérielle de diverses espèces animales.
J. Physiol., 1963, 55, 262-263.

HAZARD R., NEZAMIE A.H., LARNO S., MOUILLE P., RENIER-CORNEC A.

Normal hypertensive reaction of the cat to sparteïne.
C.R. Soc. Biol., 1962, 156, 1743-1746.

HILL G.D.

The composition and nutritive value of lupin seed.
Nut. Abstr. Rev., 1977, 47, 512.

HOVE E.L.

Composition and protein quality of sweet lupin seed.
J. Sci. Food. Agric., 1974, 25, 851-859.

IRWIN S.

Drug screening and evaluative procedures.
Sciences, 1962, 136, 123-128.

IRWIN S.

Prediction of drug effects from animal to man. Animal behaviour and drug action.
CHURCHILL Ltd., LONDON, 1964.

JIMENEZ S., GONZALES DE LEON I.

Estudios tecnologicos en *Lupinus mutabilis*.
Inf. Proyecto Lupino., 1978, 3, 136.

JONES S.W., GALASSO R.T., O'BRIEN R.D.

Nicotine and α bungarotoxin binding to axonal and non neural tissues.
J. Neurochem., 1977, 29, 803-809.

KARLSSON E.M., PETER H.W.

Determination of alkaloids from *Lupinus polyphyllus* by quantitative thin layer chromatography.
J. Chromatog., 1978, 155, 218-222.

KARRER P., CANAL F., ZOHNER K., WIDMER R.

Helv. Chim. Acta., 1928, 11, 1062.

KEELER R.F.

Lupin alkaloids from teratogenic and non teratogenic lupins. Correlation of crooked calf disease incidence with alkaloid distribution determined by gas chromatography.
Teratology, 1973, 7, 23-30.

KEELER R.F.

Lupin alkaloids from teratogenic and non teratogenic lupins. Identification of anagyrine as the probable teratogen by feeding trials.
J. Toxicol. Environ. Health., 1976, 1, 887-898.

KINGSBURY J.M.

Poisonous plants of the US and Canada 333.
PRENTICE-HALL, ENGLEWOOD CLIFFES, 1964.

LACASSAGNE L.

Valeur alimentaire du Lupin blanc doux, variétés Kalina, chez le poussin en croissance.

Matières premières et alimentation des volailles.

Séance de travail 18-19 octobre 1979, INRA NOUZILLY TOURS.

LATAWIEK K.

recherches sur la méthode électrophotométrique et la méthode de mesure de la fluorescence pour le dosage des alcaloïdes dans les semences de lupin blanc.

ROCZN. NAUK. ROLN., 1958, 79, 43-101.

LEBEAU P., JANOT M.M.

Traité de pharmacie chimique.

MASSON Ed., PARIS, 1956, vol IV, 3389-4140.

LITCHFIELD J.T., WILCOXON F.

A simplified method of evaluating dose effect experiments.

J. Pharm. Exp. Ther., 1949, 96, 99-113.

LU G.

Dual vasomotor actions of sparteine.

Arch. Int. Pharmacodyn., 1952, 89, 2, 129-144.

LUCAS M.C.

Contribution aux essais d'élimination technologique des alcaloïdes des grains de variétés de lupins à potentialité alimentaire : Lupinus albus L, LA 27 et Lupinus mutabilis, LM 13 et LM 24.

Mémoire de D.E.A. Pharmacochimie, Tours, 1979, 84 p.

MAGNUS R.

Versuche am überbunden Dünndarm von Saugetieren.

Arch. Ges. Physiol., 1904, 102, 123.

MERCIER F.

La sparteine en thérapeutique.

MASSON, PARIS, 1948, 103 p.

MERCIER F., MERCIER L.J.

Action de la sparteine sur l'appareil cardiovasculaire du chien.

C.R. Soc. Biol., 1925, 93, 338.

MERCIER F., MERCIER L.J.

Action de la sparteine sur l'appareil cardioaccélérateur.

C.R. Soc. Biol., 1925, 93, 1468.

MERCIER F., HAMET R.

Sur l'action vasculaire de la sparteine.

Bull. Acad. Med., 1932, 107, 430-435.

MERILLON J.M.

Mise au point d'une méthode de dosage par paire d'ions des alcaloïdes quinolizidiniques dans les tourteaux de lupins.
Mémoire D.E.A. Pharmacochimie, Tours, 1980, 107 p.

MEYERHOFFER A.

Absolute configuration of 3-quinuclidinyl benzilate and the behavioral effect in the dog of the optical isomers.
J. Med. Chem., 1972, 15, 994-995.

MITCHELL R.G.

Laburnum poisoning in children, report of 10 cas.
Lancet, 1951, 2, 57-58.

NUCIFORA T.L., MALONE M.H.

Comparative psychopharmacology investigation of cryogenine, certain non-steroid antiinflammatory compounds, lupine alkaloids and cyproheptadine.
Arch. Int. Pharmacodyn., 1971, 191, 345-356.

ORTIZ C., GROSS R., Von BAER E.

Die Lupine, ein Beitrag zur Nahrungsversorgung in den Anden 2. Die proteinqualität von *Lupinus mutabilis* im Vergleich zu *Lupinus albus*, *Lupinus luteus* und *Soja max*.
Z. Ernährungswiss., 1975, 14, 229-233.

PEBAY-PEYROULA F., GAULTIER M., NICAISE A.M.

Assay of digitalis glycosides, its application in clinical toxicology.
Clin. Toxicol., 1971, 4, 419-433.

PHARMACOPEE EUROPEENNE

Tome III, 1975, 502 p.

PHARMACOPEE FRANCAISE

8e édition, 1965, 1898 p.

POMPEI C., LUCISANO M.

Le lupin (*Lupinus albus* L.) comme source de protéines pour l'alimentation humaine. Etude préliminaire.
Labensur Wiss. M. Technol., 1976, 9, 289.

POTHIER J.

Mémoire de D.E.A. Pharmacochimie.
Tours, 1982. (en cours)

QUEVAUVILLER A.

Hygiène et pharmacodynamie.

Bull. ord. nat. Pharm., 1972, 152, 1489-1524.

RUIZ L.P.

The alkaloids contents of sweet lupin seed used in feeding trials on pigs and rats.

Anim. Feed. Sci. Technol., 1977, 2, 59.

RUIZ L.P.

Alkaloids analysis of sweet lupin seed by gas layer chromatography.

N.Z.J. Agri. Res., 1978, 21, 241-242.

SCOTT D.B., STEPHEN G.W., MARSHALL R.L., JENKINSON J.L., Mc RAE W.R.

Circulatory effects of controlled arterial hypotension with Trimetaphan during nitrons oxide halothane anaesthesia.

Brit. J. Anaesth., 1972, 44, 523-527.

TELLO F.T.

Lupinus mutabilis sweet : a potent food source from the Andean region.

Am. J. Clinic. Nut., 1976, 29, 933.

VALETTE G.

Précis de pharmacodynamie.

MASSON Ed., PARIS, 1963, 511 p.

VIARS P.

Principales substances utilisées pour assurer une hypotension contrôlée. In : Pharmacologie clinique.

GIROUD J.P., MATHE G., MEYNIEL G. Eds., 1979, tome 2, 2010-2028.

WADE A.E., HOLL J.E., HILLIARD C.C., MOLTON E.

Alteration of drug metabolism in rats and mice by an environment of cedar wood.

Pharmacology, 1968, 1, 5, 317-328.

WALLER G.R., NOWACKI E.K.

Alkaloid biology and metabolism in plants.

PLENUM, NEW-YORK 1978, 294 p.

WIEWIOROWSKI M., SKOLIK J.

Méthode de dosage des alcaloïdes totaux du lupin.

Roczn. Chim., 1959, 33, 461.

YAMAMURA H.I., SNYDER S.H.

Muscarinic cholinergic binding in rat brain.

Proc. Nat. Acad. Sci., 1974, 71, 5, 1725-1729.

YOVO K.S.

Chromatographie en phase gazeuse des alcaloïdes quinolizidiniques des graines de lupins à potentialité alimentaire. Etude de leur séparation et mise au point d'une méthode de dosage.

Mémoire de D.E.A. Pharmacochimie, Tours, 1981, 84 p.

YULE W.T., Mc BRIDE R.L.

Lupin and rapeseed meals in poultry diets : effects on broiler performance and sensory evaluation of carcasses.

Br. Pouet. Sci., 1976, 17, 231.

ZIPF H.F., TRILLER G.

α Isosparteine and α dehydrosparteine.

Arch. Exp. Path. Pharmacol., 1943, 200, 536-550.

ANNEXES

COMPOSITION DE L'ALIMENTATION DES ANIMAUX

COMPOSANTS :

- 1 - Orge, blé, maïs
- 2 - Remoulage
- 3 - Soja, poisson
- 4 - Composé minéral Vitaminisé U.A.R

GARANTIES AUX 100 KG :

Au Maximum

Humidité	13 %
Matières cellulosiques	5 %
Matières minérales	6 %

Au minimum

Matières azotées totales	17 %
Matières grasses	2,5 %

VITAMINES

A	750.000 UI/100 KG
D 3	200.000 UI/100 KG
GRUPE B	

Produit : Spartéine 1 mg/Kg
Voie : I.V.

Animal : Chien n° 1
Sexe : Mâle
Poids : 10 kgs

ACTIONS SUR

TEMPS (min)	PRESSION ARTERIELLE (mm Hg)						FREQUENCE CARDIAQUE		FREQUENCE RESPIRATOIRE	
	PAS	PAD	PAM	% PAS	% PAD	% PAM	FC cps/mn	% FC	FR bts/mn	% FR
0	185	145	158	-	-	-	260	-	26	-
1	190	150	163	+ 2,7	+ 3,4	+ 3	260	0	26	-
5	185	148	160	0	+ 2	+ 1,3	260	0	25	- 4
9	185	145	158	0	0	0	260	0	-	-
*	185	148	160	0	+ 2	+ 1,2	240	- 7	30	+ 15
	185	160	168	0	+ 10	+ 6	230	-11	30	+ 15
	180	160	166	- 2,7	+ 10	+ 5	230	-11	30	+ 15

Produit : Lupanine 2,5 mg/Kg
Voie : I.V

Animal : Chien n° 1
Sexe : mâle
Poids : 10 kgs

ACTIONS SUR

TEMPS (min)	PRESSION ARTERIELLE (mm Hg)						FREQUENCE CARDIAQUE		FREQUENCE RESPIRATOIRE	
	PAS	PAD	PAM	% PAS	% PAD	% PAM	FC cps/mn	% FC	FR bts/mn	% FR
0	180	140	153	-	-	-	220	-	18	-
1	155	118	130	- 13,8	- 15,7	- 15	-	-	22	+
5	158	120	132	- 12	- 14,3	- 13	-	-	21	+
10	155	130	138	- 13,8	- 7	- 9	240	+ 9	20	+
20	170	140	150	- 5,5	0	- 1,9	250	+ 13,6	20	+
30	170	140	150	- 5,5	0	- 1,9	230	+ 4,5	20	+
45	178	140	152	- 1	0	- 0,6	230	+ 4,5	20	+

Annexe n° 5

Produit : Spartéine 2,5 mg/Kg
 Dose : I.V.

Animal
 Sexe :
 Poids

ACTIONS SUR

MPS (min)	PRESSION ARTERIELLE (mm Hg)						FREQUENCE CARDIAQUE RESPIRATOIRE	
	PAS	PAD	PAM	% PAS	% PAD	% PAM	FR cps/mn	% FR
0	185	155	165	-	-	-	165	-
1	190	160	170	+ 2,7	+ 3,2	+ 3	165	0
5	180	160	166	- 2,7	+ 3,2	+ 0,6	166	+ 20
10	180	155	163	- 2,7	0	- 1,22	166	+ 20
20	185	155	165	0	0	0	166	+ 20
30 *	210	170	183	+ 13,5	+ 9,6	+ 10	172	+140
45	215	160	178	+ 16,2	- 3	+ 7,8	179	+280
60	215	165	181	+ 16,2	+ 6	+ 9	200	-

Réaction de réveil + anesthésie

Produit : Lupanine 1 mg/Kg
Voie : I.V.

Animal : Chien n° 2
Sexe : femelle
Poids : 12,5 kg

ACTIONS SUR

MPS (in)	PRESSION ARTERIELLE (mm Hg)						FREQUENCE CARDIAQUE		FREQUENCE RESPIRATOIRE	
	PAS	PAD	PAM	% PAS	% PAD	% PAM	FC cps/mn	% FC	FR bts/mn	% FR
0	210	160	176	-	-	-	210	-	21	-
1	195	160	171	- 7	0	- 2,8	235	+ 11	19	- 9
5	178	155	162	-15,2	- 3	- 8	225	+ 7	14	-33
10	195	160	171	- 7	0	- 2,8	225	+ 7	14	-33
20	210	160	176	0	0	0	210	0	19	-9
30	210	160	173	0	0	0	212	+0,9	22	+4
45*	200	160	173	- 4,7	0	- 1,7	200	-4,7	12	-4
60	210	160	176	0	0	0	200	-4,7	24	+14

*Anesthésie

Produit : Spartéine 5 mg/Kg
 Voie : I.V.

Animal Chien n° 3
 Sexe : femelle
 Poids : 8,5 kgs

ACTIONS SUR

Temps (min)	PRESSION ARTERIELLE (mm Hg)						FREQUENCE CARDIAQUE		FREQUENCE RESPIRATOIRE	
	PAS	PAD	PAM	% PAS	% PAD	% PAM	FC cps/mn	% FC	FR bts/mn	% FR
0	215	170	185	-	-	-	150	-	11	-
1	210	160	176	- 2	- 5,8	- 4	125	-16	14	+2
5	212	165	180	- 1,4	- 2,9	- 2,7	125	-16	13	+1
10	212	165	180	- 1,4	- 2,9	- 2,7	125	-16	13	+1
15	212	165	180	- 1,4	- 2,9	- 2,7	125	-16	14	+2
20	215	165	183	0	- 2,9	- 1	125	-16	14	+2
30	215	170	185	0	0	0	135	-10	14	+2
45	215	170	185	0	0	0	140	- 6	15	+3
60	220	170	186	+ 2,3	0	+ 0,5	155	+ 3	-	-

Produit : Lupanine 5 mg/Kg
Voie : I.V.

Animal Chien n° 3
Sexe : femelle
Poids : 8,5 kg

ACTIONS SUR

MPS (min)	PRESSION ARTERIELLE (mm Hg)						FREQUENCE CARDIAQUE		FREQUENCE RESPIRATOIRE	
	PAS	PAD	PAM	% PAS	% PAD	% PAM	FC cps/mn	% FC	FR bts/mn	% FR
0	190	160	170	-	-	-	140	-	5	-
1	130	100	110	- 32	- 37	- 35	100	-28	9	+44
5	150	120	130	- 21	- 25	- 23	100	-28	7	+40
10	145	115	125	- 23	- 28	- 26	95	-32	8	+37
15	135	110	118	- 28	- 31	- 30	95	-32	8	+37
20	135	110	118	- 28	- 31	- 30	95	-32	8	+37
30	150	120	130	- 21	- 23	- 23	105	-25	7	+40
45	170	135	146	- 10	- 14	- 14	115	-17	8	+37
60	185	150	161	- 2	- 5	- 5	140	0	8	+37

Produit : Spartéine 7,5 mg/Kg

Animal Chien n° 4

Voie : I.V

Sexe : mâle

Poids : 10 kgs

ACTIONS SUR

MPS (min)	PRESSION ARTERIELLE (mm Hg)						FREQUENCE CARDIAQUE		FREQUENCE RESPIRATOIRE	
	PAS	PAD	PAM	% PAS	% PAD	% PAM	FC cps/mn	% FC	FR bts/mn	% FR
0	218	170	186	-	-	-	210	-	6	-
1	210	150	170	- 3,6	- 11	- 8	250	+19	11	+83
5	212	155	174	- 2,7	- 9	- 6	125	-40	7	+16
10	215	155	175	- 1,3	- 9	- 5,9	125	-40	7	+16
15	215	155	175	- 1,3	- 9	- 5,9	120	-42	7	+16
20	215	155	175	- 1,3	- 9	- 5,9	120	-42	8	+33
30 *	200	160	173	- 8	- 5,8	- 7	230	+9,5	9	+50
45	190	160	170	- 12	- 5,8	- 8,6	230	+9,5	10	+66
50	190	159	169	- 12	- 6	- 9	225	+ 7	10	+66
20	190	160	170	- 12	- 5	- 8,6	190	-9,5	6	0

Anesthésie

Produit : Lupanine 7,5 mg/Kg
 Dose : I.V.

Animal : Chien n° 4
 Sexe : mâle
 Poids : 10 kgs

ACTIONS SUR

MPS (min)	PRESSION ARTERIELLE (mm Hg)						FREQUENCE CARDIAQUE		FREQUENCE RESPIRATOIRE	
	PAS	PAD	PAM	% PAS	% PAD	% PAM	FC cps/mn	% FC	FR bts/mn	% FR
0	190	160	170	-	-	-	190	-	6	-
1	120	90	100	- 36	- 43	- 41	185	- 2	9	+5
5	135	115	121	- 29	- 28	- 28	170	-10	8	+3
10	130	110	116	- 31	- 31	- 31	165	-13	7	+1
15	130	110	116	- 31	- 31	- 31	165	-13	7	+1
20	140	115	123	- 26	- 28	- 27	175	- 7	7	+1
30	150	125	133	- 21	- 21	- 21	180	- 5	7	+1
35 *	160	135	143	- 15	- 15	- 15	200	+ 5	7	+1
40	172	135	147	- 9	- 15	- 13	210	+10	9	+5
45	170	140	150	- 10	- 12	- 11	190	0	6	0
50	170	145	153	- 10	- 9	- 10	195	+ 2	4	-3
60	177	142	153	- 6	- 11	- 10	215	+13	6	0

Anesthésie

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
<u>1ÈRE PARTIE : DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LES</u> <u>ALCALOÏDES DES LUPINS</u>	5
1 STRUCTURE ET PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES ALCALOIDES DES LUPINS	6
1-1 STRUCTURE	7
1-2 PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES	10
1-3 RELATIONS PHYSICO-CHIMIQUES ENTRE LA SPARTEINE ET LA LUPANINE	10
2 PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES ET TOXICOLOGIQUES DES ALCALOIDES DES LUPINS	12
2-1 HISTORIQUE	13
2-2 GENERALITES	14
2-3 LA SPARTEINE	16
2-3-1 Toxicologie	16
2-3-2 Pharmacologie	16
2-3-2-1 Actions cardiovasculaires	17
2-3-2-2 Propriétés ganglioplégiques	19
2-3-2-3 Actions sur le système nerveux central	20
2-3-2-4 Propriétés ocytociques	20
2-3-2-5 Autres actions	21
2-3-2-6 Conclusions	21
2-4 LA LUPANINE	21
<u>2ÈME PARTIE : ÉTUDE EXPERIMENTALE</u>	22
3 TOXICOLOGIE	23
3-1 CONDITIONS GENERALES DES ESSAIS	24
3-2 ESSAIS PRELIMINAIRES	24
3-2-1 Détermination de la DL ₀	24
3-2-1-1 Protocole	25
3-2-1-2 Choix des doses	25
3-2-1-3 Résultats	25
3-2-1-4 Discussion	25
3-2-2 Observation des animaux	27
3-2-2-1 Principe	27
3-2-2-2 Protocole	29
3-2-2-3 Résultats	30
3-2-3 Evolution de la croissance des animaux	30
3-2-3-1 Méthodologie	34
3-2-3-2 Résultats	34
3-2-3-3 Discussion	34

3-2-4	Conclusions	35
3-3	DETERMINATION DE LA DL ₅₀	35
3-3-1	DL ₅₀ par voie IP.	35
3-3-1-1	Méthodologie	35
3-3-1-2	Résultats	36
3-3-2	DL ₅₀ par voie per os	36
3-3-2-1	Méthodologie	36
3-3-2-2	Résultats	38
3-3-3	Etude comparative et discussion générale	38
3-3-3-1	Sparteine I.P/Lupanine I.P	40
3-3-3-2	Sparteine P.O/Lupanine P.O	40
3-3-3-3	Sparteine I.P/Sparteine P.O	40
3-3-3-4	Lupanine I.P/Lupanine P.O	40
3-3-4	Conclusions	40
3-4	ETUDE DE LA TOXICITE CARDIAQUE CHEZ LE COBAYE	41
3-4-1	Matériel et méthode	41
3-4-2	Interprétation des enregistrements électrocardiographiques	42
3-4-3	Résultats	42
3-4-3-1	Modifications de l'électrocardiogramme	42
3-4-3-2	Dose minimum mortelle	44
3-4-4	Discussion	44
3-5	CONCLUSIONS GENERALES A L'ETUDE TOXICOLOGIQUE	45
4	ETUDE DES EFFETS SYSTEMIQUES CARDIOVASCULAIRES ET RESPIRATOIRES CHEZ LE CHIEN	46
4-1	MATERIEL ET METHODE	47
4-1-1	Principe général	47
4-1-2	Protocole expérimental	47
4-2	RESULTATS PAR ANIMAL	48
4-2-1	Chien n°1	48
4-2-2	Chien n°2	48
4-2-3	Chien n°3	49
4-2-4	Chien n°4	49
4-3	RESULTATS GLOBAUX	50
4-3-1	Pression artérielle systolique	50
4-3-2	Pression artérielle diastolique	50
4-3-3	Conséquences sur la pression artérielle moyenne	50

4-3-4	Fréquence cardiaque	55
4-3-5	Fréquence respiratoire	55
4-4	DISCUSSION	55
4-5	CONCLUSIONS	56
5	ETUDE DES EFFETS SUR LA REACTIVITE DU SYSTEME NERVEUX AUTONOME CHEZ LE CHAT	58
5-1	PRINCIPE GENERAL	59
5-2	METHODOLOGIE	59
5-2-1	Exploration du système sympathique	59
5-2-2	Exploration du système parasympathique	59
5-2-3	Exploration du système histaminergique	59
5-3	PROTOCOLE EXPERIMENTAL	60
5-4	RESULTATS	60
5-4-1	Actions sur la PAS et la PAD	60
	5-4-1-1 La sparteine	60
	5-4-1-2 La lupanine	73
5-4-2	Actions sur la fréquence cardiaque	83
	5-4-2-1 La sparteine	83
	5-4-2-2 La lupanine	83
5-5	CONCLUSIONS GENERALES	86
6	ETUDE COMPAREE DES PROPRIETES GANGLIOPLEGIQUES CHEZ LE CHIEN	88
6-1	MATERIEL ET METHODE	89
6-2	STIMULATION DU NERF PNEUMOGASTRIQUE	90
6-2-1	Protocole	90
6-2-2	Résultats	90
6-2-3	Discussion et conclusion	93
6-3	SUPPRESSION DE L'ACTION NICOTINIQUE EXCITANTE DE L'ACETYLCHOLINE	96
6-3-1	Principe	96
6-3-2	Protocole	96
6-3-3	Résultats	96
6-3-4	Discussion	99
6-4	OCCLUSION DES CAROTIDES	99
6-4-1	Méthodologie et principe	100
6-4-2	Protocole	100
6-4-3	Résultats	100
6-4-4	Discussion	100
6-5	CONCLUSIONS GENERALES	102

7	RECHERCHE D'UNE AFFINITE IN VITRO POUR LES RECEPTEURS CHOLINERGIQUES	103
7-1	PRINCIPE GENERAL ET DEFINITIONS	104
7-2	ETUDE SUR LES RECEPTEURS MUSCARINIQUES	106
7-2-1	Isolement des récepteurs	106
7-2-2	Mise en oeuvre de la réaction	106
7-2-3	Résultats	107
7-3	ETUDE SUR LES RECEPTEURS NICOTINIQUES	107
7-3-1	Isolement des récepteurs	111
7-3-2	Mise en oeuvre de la réaction	111
7-3-3	Résultats	112
7-4	DISCUSSION ET CONCLUSION	112
8	ETUDE DES EFFETS CENTRAUX : PROFIL PSYCHOPHARMACOLOGIQUE CHEZ LA SOURIS	115
8-1	PRINCIPE GENERAL	116
8-2	CONDITIONS GENERALES D'ETUDE	116
8-3	ACTIONS SUR LA TEMPERATURE RECTALE	116
8-3-1	Méthodologie	116
8-3-2	Résultats	117
8-4	INTERACTIONS AVEC L'AMPHETAMINE	117
8-4-1	Méthodologie	117
8-4-2	Résultats	117
8-5	INTERACTIONS AVEC LE PENTOBARBITAL	119
8-5-1	Méthodologie	119
8-5-2	Résultats	119
8-6	INTERACTIONS AVEC L'OXOTREMORINE	119
8-6-1	Méthodologie	119
8-6-2	Résultats	121
8-7	DISCUSSIONS ET CONCLUSIONS : SYNTHESE DES RESULTATS	121
9	ETUDE DES ACTIONS SUR LES FIBRES LISSES	125
9-1	ETUDE SUR LES FIBRES LISSES INTESTINALES	126
9-1-1	Méthodologie	126
9-1-2	Protocole	126
9-1-3	Résultats	127

9-1-3-1	Action propre	127
9-1-3-2	Interaction avec l'acétylcholine	127
9-1-3-3	Interaction avec le chlorure de baryum	127
9-1-4	Discussion	127
9-2	ETUDE SUR LES FIBRES LISSES UTERINES	132
9-2-1	Méthodologie	132
9-2-2	Protocole	132
9-2-3	Résultats	132
9-2-4	Discussion	132
9-3	CONCLUSIONS	134
	CONCLUSION	135
	BIBLIOGRAPHIE	139
	ANNEXES	148
	TABLE DES MATIERES	159

