

## ACTIVITÉ REDENTICIDE DE L'EXTRAIT DU BULBE D'*URGINEA MARITIMA*

KORD Affaf<sup>1\*</sup>, HAMMOUDI Khaled<sup>1</sup> et CHADER Henni <sup>2</sup>

1. Université M'Hamed Bougara - Faculté des Hydrocarbures et de la Chimie - Département Génie des Procédés - Boumerdes 35000. Algérie

2. Laboratoire National de Contrôle des produits pharmaceutiques - Delly Brahim 16320. Algérie

Reçu le 23/06/2020, Révisé le 11/12/2020, Accepté le 28/12/2020

### Résumé

**Description du sujet :** Une variété à bulbe rouge d'*Urginea maritima*, poussant en Algérie, renferme le scilliroside, un hétéroside cardiotonique souvent utilisé comme rodenticide.

**Objectifs :** Evaluer l'activité rodenticide des glycosides cardiotoniques extraits du bulbe d'*Urginea maritima*, poussant à Cherchell, Nord-Ouest d'Alger.

**Méthodes :** Après avoir identifié les différents groupes de composés bioactifs présents dans le bulbe d'*Urginea maritima*, il a été procédé à l'extraction des hétérosides cardiotoniques et l'analyse des composants majoritaires par spectrométrie Ultra-Violet. L'étude de l'activité rodenticide de l'extrait du bulbe est basée sur la détermination de la toxicité aiguë.

**Résultats :** L'analyse phytochimique du bulbe a mis en évidence les glycosides cardiotoniques de type bufadiénolides, les tanins catéchiques, les flavonoïdes, les anthocyanes, les coumarines et les mucilages. L'extrait est toxique avec une DL<sub>50</sub> de 222,84 ± 28 mg/kg.

**Conclusion :** L'extrait du bulbe d'*Urginea maritima* contient des hétérosides cardiotoniques de type bufadiénolides qui manifestent un effet toxique chez le rat.

**Mots clés :** *Urginea maritima* ; bulbe ; glycosides cardiotoniques ; activité rodenticide

## RODENTICIDE ACTIVITY OF *URGINEA MARITIMA* BULB EXTRACT

### Abstract

**Description of the subject:** A variety of *Urginea maritima* with red bulb, growing in Algeria, contains scilliroside, a cardiac glycoside that often used as rodenticide.

**Objective:** To evaluate the rodenticide activity of cardiac glycosides extracted from the *Urginea maritima* bulb, growing at Cherchell, Northwest of Algiers.

**Methods:** After having identified the different groups of bioactive compounds present in the *Urginea maritima*. The cardiac glycosides were extracted and the major components were analyzed by ultraviolet spectrometry. The study of the rodenticide activity of the bulb extract is based on the determination of acute toxicity.

**Results:** Phytochemical analysis of the bulb revealed cardiac glycosides of bufadienolides type, catechin tannins, flavonoids, anthocyanins, coumarins and mucilages. The extract is toxic with a LD<sub>50</sub> of 222.84 ± 28 mg/kg.

**Conclusion:** *Urginea maritima* bulb extract contains cardiac glycosides of the bufadienolides type that promote a toxic effect to the rats.

**Keywords:** *Urginea maritima*; bulb; cardiac glycosides; rodenticide activity

\* Auteur correspondant : KORD Affaf<sup>1</sup>, E-mail: kord.afaf@gmail.com

## INTRODUCTION

*Urginea maritima* (L.) Baker, également appelée *Scille maritime*, est une plante de la région méditerranéenne, vivace, à très gros bulbe, qui appartient à la famille des Liliacées. Elle est notamment connue pour ses glycosides cardiotoniques, substances utilisées dans le traitement de l'insuffisance cardiaque [1]. Les bulbes rouges étaient une source ancienne de produits rodenticides, remplacés plus tard par la warfarine et les raticides anticoagulants modernes [2]. La Scille se développe tout au long de l'hiver jusqu'au printemps lorsqu'il est frais et humide et cesse complètement de se développer dès les premiers jours chauds d'été, les feuilles vont dessécher laissant les bulbes en dormance pendant l'été.

Les premières fleurs commencent à apparaître en août et septembre [3]. La plupart des métabolites secondaires de *Scille* sont concentrés dans le bulbe. Il contient des fructanes, des tanins condensés, des flavonoïdes et des glycosides cardiotoniques [1]. La *Scille* contient de 0,1 à 2,4% de glycosides cardiotoniques stéroïdiens de type bufadiénolides au noyau Cyclopentano-perhydrophenanthrénique, le cycle  $\delta$ -lactone étant lié en position  $\beta$  en C17 [4]. Il existe deux variétés de *Scille* chimiquement différentes, la rouge et la blanche. La *Scille* rouge contient le scilliroside, un bufadiénolide hautement toxique qui provoque des convulsions et la mort des rats et des souris [1, 5].

En Algérie, la variété rouge qui pousse, elle est connue sous le nom arabe "Bossaila". Cette étude a pour principaux objectifs de déterminer la présence des glycosides cardiotonique dans le bulbe de cette variété et aussi d'évaluer l'activité rodenticide de ces composés.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1. Matériel végétal

Les bulbes de *Scille* (Fig. 1) sont récoltés à Cherchell, à Oued El Belaa, situé au Nord-Ouest d'Alger. La plante a été identifiée taxonomiquement selon la bibliographie des espèces de Monocotyledonae [6]. Les écailles sont fragmentées puis séchées à 60°C. Après broyage, la poudre est stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité.



Règne : *Plantae*  
 Embranchement : *Magnoliophyta*  
 Classe : *Liliopsida (Monocotylédones)*  
 Ordre : *Liliales*  
 Famille : *Liliaceae*  
 Genre : *Urginea (syn.Drimia)*  
 Espèce : *Urginea maritima (L.) Baker*

Figure 1 : *Urginea maritima*

### 2. Criblage phytochimique

Les tests phytochimiques permettent d'avoir des informations préliminaires sur la composition chimique de la partie étudiée de la plante, en ayant recours à des réactions de précipitation ou de coloration [7, 8]. Les principales classes chimiques recherchées sont : polyphénols, coumarines, hétérosides cardiotoniques, alcaloïdes, anthracéniques, saponines et mucilage. La réaction de Liebermann Burchard et celles avec les dérivés nitrés en milieu alcalin de Kedde et de Raymond-Marthoud sont utilisées pour identifier le type d'hétérosides cardiotoniques.

### 3. Extraction des hétérosides cardiotoniques

Le bulbe (73g) est extrait au moyen d'un appareil soxhlet en utilisant 250 ml du méthanol. Cette extraction est répétée trois fois. Une solution saturée d'acétate de plomb (10%) est ajoutée lentement et sous agitation à l'extrait méthanolique jusqu'à précipitation complète des tanins et pigments anthocyaniques [9]. Après filtration, l'excès du plomb est éliminé par une solution de sulfate de sodium anhydre à 10% et les hétérosides cardiotoniques sont extraits avec 10 ml du chloroforme/isopropanol (3:1) [10]. Les extraits sont finalement concentrés sous pression réduite à 40°C.

### 4. Analyse de l'extrait par chromatographie sur couche mince

L'extrait est dissous dans du méthanol, 30 $\mu$ l de cette solution sont fractionnés par CCM sur une plaque du gel de silice (Merck, 60 F<sub>254+366</sub>) de 0,5 mm d'épaisseur en utilisant la phase mobile acétate d'éthyle/méthanol/eau (81:11:08, v:v:v) [4, 11]. La plaque est ensuite révélée avec 10 ml du réactif trichlorure d'antimoine à 20% dans du chloroforme. La plaque est chauffée à l'étuve pendant 8 min à 100°C puis observée dans le visible et sous lampe UV à 366 nm [4]. La digoxine est utilisée comme composé standard.

Les composants majoritaires sont séparés par CCM préparative en utilisant les mêmes conditions opératoires.

### 5. Analyse des produits séparés par spectrométrie UV

Les produits séparés sont dissous dans du méthanol. Le spectre d'absorption UV est déterminé suite à un balayage entre 200 et 400 nm en utilisant le spectrophotomètre UV/VIS PERKIN-ELMER lamda 25.

### 6. Evaluation de l'activité raticide

Cette étude est basée sur la détermination de la toxicité aiguë de l'extrait après administration orale chez les rats mâle Wistar, leur poids varie entre 180 et 200 g. Le contrôle se fait sur une gamme de six doses de 125, 150, 180, 216, 259 et 311 mg/kg. Le rapport entre les doses successives est de 1,2. Le lot est constitué de huit rats mis à jeun de nourriture et de boisson 18 h avant le test. Les doses sont préparées en dissolvant l'extrait dans de l'eau physiologique (NaCl 0,9%). Un lot de huit rats n'ayant reçu que de NaCl à 0,9% est conservé comme témoin. Un volume de 1 ml de chaque dose est administré par voie orale à chaque rat [12]. Les rats ont été observés pendant 14 jours. La valeur de la DL<sub>50</sub> est calculée graphiquement selon la méthode de Miller et Tainter (1944) : Les pourcentages de mortalité 0% et 100% ont été

remplacés par des valeurs corrigées comme suit [13] : Pour 0% :  $Y_0 = 100 (0,25 / n)$  et pour 100% :  $Y_{100} = (100 n - 50) / n$ , avec n est le nombre d'animaux ayant donné un taux de mortalité de 0% et 100%. Le pourcentage de mortalité est ensuite converti en probit en se référant au tableau transformation du pourcentage en probits. Les valeurs probit sont tracées en fonction des doses logarithmiques, puis la dose correspondant au probit 5 est lue comme étant DL<sub>50</sub> [13, 14]. Le calcul de l'erreur standard (ES) de la DL<sub>50</sub> se fait à l'aide de la formule (1) [14] :  $ES = (DL_{84} - DL_{16}) / \sqrt{2n}$  (1) avec n : nombre d'animaux dans chaque lot.

## RÉSULTATS

### 1. Composition phytochimique

Les principales classes de métabolites secondaires identifiées dans le bulbe de la Scille sont présentées dans le tableau 1. Les substances chimiques les plus abondantes sont les suivantes : tanins catéchiques, hétérosides cardiotoniques, mucilages, flavonones, anthocyanes et coumarines. Les tests effectués pour la mise en évidence des dérivés anthracéniques, saponosides, et alcaloïdes s'étant avérés négatifs. La réaction de Liebermann Burchard a révélé un résultat positif contrairement à celle de Kedde et de Raymond-Marthoud (Tableau 2).

Tableau 1 : Métabolites secondaires identifiés dans le bulbe d'*Urginea maritima*

Classe chimique	Résultat
Tanins	Catéchiques + Galliques -
Anthracéniques combinés	O - hétérosides - C - hétérosides -
Anthracéniques libres	-
Alcaloïdes	-
Flavonoïdes	+
Anthocyanes	+
Leuco-anthocynes	+
Saponines	-
Hétérosides cardiotoniques	+
Mucilages	+
Coumarines	+

+ : présence - : absence

Tableau 2 : Identification des hétérosides cardiotoniques

Réactif	Résultat
Liebermann Burchard	+
Kedde	-
Raymond-Marthoud	-

+ : test positif - : test négatif

## 2. Rendement et analyse chromatographique

Le rendement d'extraction, calculé à partir de matière sèche, est de  $2,18 \pm 0,32\%$ . Le fractionnement de l'extrait par CCM (Fig. 2) a révélé 15 spots fluorescents dans la plage du rapport frontal  $R_f$  0,05-0,87. Trois principaux composés ont été observés : un bleu clair

(visible) bleu (UV 366 nm) à  $R_f = 0,28$  (produit 1), un vert-jaune (visible) bleu intense (UV 366nm) à  $R_f = 0,35$  (produit 2) et bleu (visible) orange (UV 366 nm) à  $R_f = 0,42$  (produit 3). La digoxine a montré une zone grise (visible) violette (UV 366 nm) à  $R_f = 0,67$ .

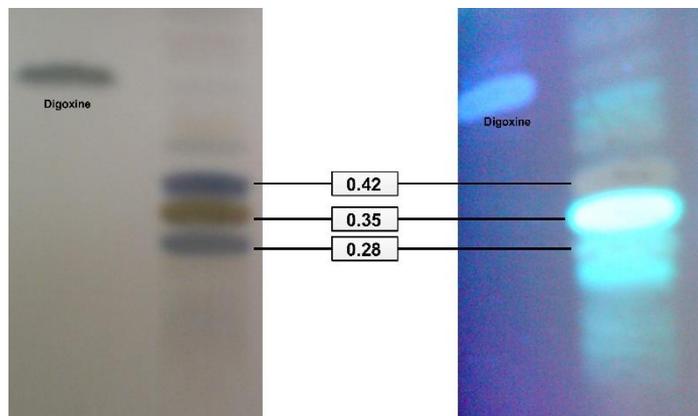


Figure 2 : Chromatogramme CCM des hétérosides cardiotoniques extraits du bulbe d'*urgingea maritima*

## 3. Analyse par spectrométrie UV

Les spectres UV des produits séparés (fig. 3) ont montré deux maxima d'absorption à (205-206 nm) et à (295-298 nm) (Tableau 3).

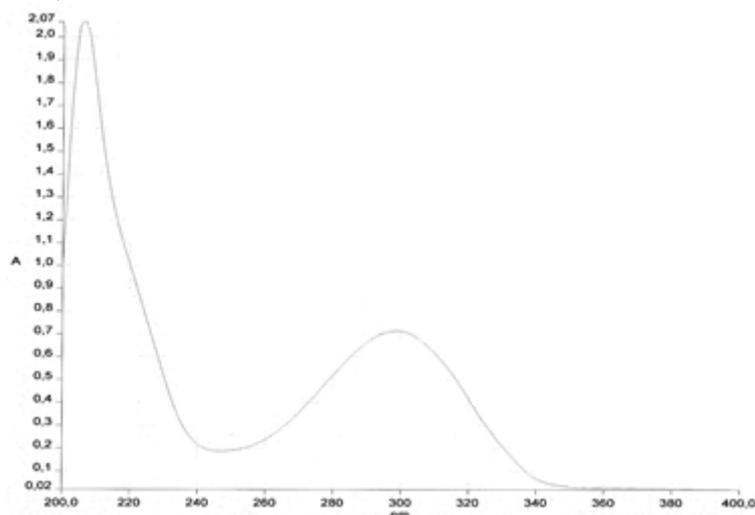


Figure 3 : Spectre UV du produit 2

Tableau 3 : Maxima d'absorption dans UV des produits séparés

	Produit 1	Produit 2	Produit 3
$\lambda$ max	205,27	206,54	205,35
	298,55	298,64	295,70

## 4. Activité raticide de l'extrait du bulbe

Les doses testées ont montré une activité rodenticide. Le pourcentage de mortalité des rats augmente avec l'augmentation de la dose (Tableau 4).

Tableau 4 : Dose-Effet de l'extrait du bulbe

Doses (mg/Kg)	Log dose	Mortalité %	Mortalité corrigée %	Probits
125	2,096	0	3	3,12
150	2,176	0	3	3,12
180	2,255	12,5	12,5	3,84
216	2,334	37,5	37,5	4,68
259	2,413	75	75	5,67
311	2,492	100	94	6,55

#### 4.1. Syndromes d'empoisonnement

Les doses de 125 et 150 mg/kg sont considérées comme faibles, aucune mortalité, sauf des rats affaiblis. Après 48 h, tous les rats ont retrouvé un comportement compatible avec celui des témoins. À 180 mg/kg, les rats ont présenté des convulsions et des tremblements. Un des rats est mort après 72 heures d'administration de l'extrait. Les survivants ont retrouvé un état comparable à celui du contrôle après 48 heures d'empoisonnement. Les rats ayant reçu les doses de 216 et 259,2 mg/kg ont présenté des convulsions, des tremblements et une paralysie des membres postérieurs. Il y'avait respectivement pour ces doses, 2 rats morts après 24h et 5 après 6h d'administration. Un rat mort pour chacune des deux doses a eu lieu 72 h après l'administration.

Après ce temps il n'y avait pas de morts. Pour une dose de 311 mg/kg, les rats sont tous morts après 6 heures.

#### 4.2. Dose létale 50

La DL<sub>50</sub> correspondant au Probit 5 a été déterminée à partir de la ligne du graphique de la figure 4. Log DL<sub>50</sub> est 2,348, par conséquent la DL<sub>50</sub> = 222,84 mg/kg. L'ES de la DL<sub>50</sub> est calculée à partir de la formule (1). Les probits de 84 et 16 du tableau de probits sont respectivement 5,99 et 4,01 (environ 6 et 4). Les valeurs de log-DL pour les probits 6 et 4 sont obtenues à partir de la ligne du graphique de la figure 4, soit 2,456 et 2,24 ; leur dose respective est donc 285,76 mg/kg et 173,78 mg/kg. En utilisant ces valeurs dans la formule (1), l'ES de la DL<sub>50</sub> est de 28. Par conséquent, la DL<sub>50</sub> de l'extrait du bulbe est de 222,84 ± 28 mg/kg.

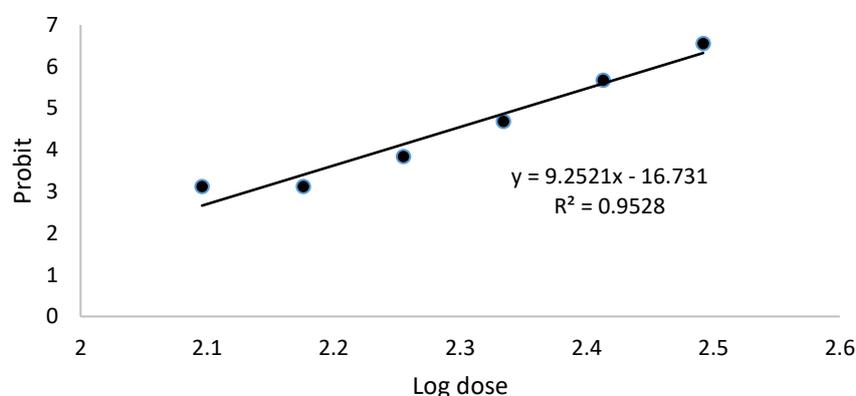


Figure 4 : Tracé du probit en fonction du log-dose pour le calcul de la DL<sub>50</sub> de l'extrait du bulbe

## DISCUSSION

Les résultats de la composition phytochimique sont identiques avec ceux rapportés dans la littérature [1,7]. La présence des hétérosides cardiotoniques de type bufadiénolides est confirmée par la réaction de Liebermann Burchard qui est caractéristique pour les substances dérivées de la bufanolide. Les réactifs de Kedde et Raymond-Marthoud, quant à eux, sont négatifs ou beaucoup moins sensibles avec les bufadiénolides. Les six classes de composés à activité biologique

identifiées chez le bulbe d'*Urginea maritima* justifient les vertus thérapeutiques attribués à cette plante médicinale [15]. Le rendement d'extraction des hétérosides cardiotoniques est supérieur à celui déjà signalé par Wagner et Bladt [4] pour la variété de Scille rouge soit (<0,1%). Cela est peut-être expliqué par le fait que de nombreux facteurs expérimentaux et environnementaux influencent le rendement d'extraction des métabolites bioactifs des plantes [16-18] notamment la méthode d'extraction et la nature du sol dans lequel

pousse la plante. Les couleurs et les valeurs des  $R_f$  des produits 2 et 3 sont similaires à celles obtenues par Wagner et Bladt [4] respectivement pour le scilliroside et le scillarène A dans les mêmes conditions. En ce qui concerne la digoxine, le spot obtenu est en accord avec celui décrit par Wagner et Bladt [4] dans les mêmes conditions. Balbaa et al. [19] et Iizuka et al. [20], ont signalé que les bufadiénolides sont caractérisés par la présence d'un cycle lactone à six chaînons ( $\alpha$ -pyrone) situé en C-17 $\beta$  et qu'ils possèdent une absorption caractéristique dans l'UV ; d'abord à (200-220nm) et une seconde absorption à (296-299 nm). Ainsi, les résultats obtenus confirment la nature des hétérosides cardiotoniques. Les syndromes observés confirment que la Scille rouge provoque la mort à travers le système nerveux central. Le résultat est identique à celui obtenu par Savarie et Pimentel [21] et Mulholland et al. [22]. La  $DL_{50}$  est considérée comme modérément toxique selon l'échelle de Hodge et Sterner (1943). Ce résultat a montré que l'extrait du bulbe est doublement plus efficace chez le rat que la poudre du bulbe rapporté par Verbiscar et al. [5].

## CONCLUSION

Le présent travail consiste à l'étude de l'activité redenticide de l'extrait de glycosides cardiotoniques obtenu à partir du bulbe d'*Urginea maritima*. L'analyse phytochimique a mis en évidence six classes chimiques dans le bulbe à savoir : tanins catéchiques, flavonoïdes, anthocyanes, hétérosides cardiotoniques de type bufadiénolides, coumarines et mucilages. Le criblage par TLC de l'extrait a montré 15 composés, sur lequel on a proposé d'identifier le scilliroside et le scillarene A en fonction de leurs couleurs et de leurs valeurs de  $R_f$ . La valeur  $DL_{50}$  obtenue est intéressante. L'extrait du bulbe d'*Urginea maritima* contient des substances qui favorisent un effet toxique chez le rat.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1]. Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Ed Tech. Doc, France, 721-742p.  
 [2]. Pascual-Villalobos M.J. (2002). Anti-insect activity of bufadienolides from *Urginea maritima*. Trends in new crops and new uses. ASHS Press VA. 564-566.  
 [3]. Gentry H.S., Verbiscar A.J. & Banigan T.F. (1987). Red squill (*Urginea maritima*, Liliaceae). Economic Botany. 41: 267-282.  
 [4]. Wagner H. & Bladt S. (1996). Plant drug analysis, A Thin Layer Chromatography Atlas. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, USA, 99-122p.

[5]. Verbiscar A. J., Banagan T. F. & Gentry H. S. (1986). Recent research on red Squill as a rodenticide. In Proceedings Twelfth Vertebrate Pest Conference, USA, 51-56.  
 [6]. Maire R. (1958). Flore de L'Afrique du Nord, Monocotyledonae : Liliales : Liliaceae. Vol V, Paul Lechevalier, France, 162-166p.  
 [7]. Paris R. R. & Moyse H. (1976). Précis de matière médicale. Tome I, Ed MASSON, France, 2-59p.  
 [8]. Lespagnol A. (1975). Chimie des médicaments. Tome II, Ed Tech. Doc, France.  
 [9]. Shyr S. E. & Staba E. J. (1976). Examination of Squill tissue cultures for Bufadienolides and anthocyanins. Planta medica. 29: 86-90.  
 [10]. Kopp V. B., Krenn L. & Jurenitsch J. (1990). Bufadienolide in Meerzwiebeln Bestimmung mittels Spektralphotometrie und HPLC. Deutsche Apotheker Zeitung. 130.Jahrg. 2175-2180.  
 [11]. Dias C., Borralho Graça J.A. & Lurdes Gonçalves M. (2000). *Scilla maderensis*, TLC screening and positive inotropic effect of bulb extracts. *Ethnopharmacology*. 71: 487-492.  
 [12]. Bhardwaj S., Deepika Gupta, Seth G.L. & Bihani S.D. (2012). Study of acute, Sub acute and chronic toxicity test. IJARPB. 2: 103-129.  
 [13]. Tripathi R., Kaushir D., Tripathi A., Rasal V.P. & Khan S.A. (2006). Acute and Subacute Toxicity Studies on Vetiver Oil in Rats. FABAD J.Pharm. Sci. 31: 71-77.  
 [14]. Randhawa M. A. (2009). Calculation of  $LD_{50}$  values from the method of Miller and Tainter, 1944. J Ayub Med Coll Abbottabad. 21: 184-5.  
 [15]. Iserin P. (2001). Larousse, Encyclopédie des plantes médicinales, Identification, Préparation, Soins. Ed Larousse, VUEF, France, 14-24p.  
 [16]. Mardawani M., Mohamad Wijayanuddin A., Adnan R. & Arshad A. (2013). Effect of Extraction Process Parameters on the Yield of Bioactive Compounds from the Roots of *Eurycoma longifolia*. Jurnal Teknologi. 60: 51-57.  
 [17]. Li Y., Kui-Shan W., Xiao R., Ying-Xian Z., Feng W. & Qiang W. (2018). Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Molecules*, 23: 762.  
 [18]. Kouwelton Patrick Franck Olivier K., Yaya S. & Sorho S. (2017). Détermination des paramètres influençant le rendement d'extraction hydro-alcoolique des métabolites secondaires de *Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae) et *Tridax procumbens* linn (Asteraceae). J. Soc. Ouest-Afr. Chim. 044: 15-22.  
 [19]. Balbaa S. I., Khafagy S. M., Khayyal S. E. & Girgis A. N. (1979). TLC-Spectrophotometric assay of the main glycosides of red Squill, a specific rodenticide. Nat. Prod. 42: 522-524.  
 [20]. Iizuka M., Warashina T. & Noro T. (2001). Bufadienolides and a new Lignan from the Bulbs of *Urginea maritima*. Chem. Pharm. Bull. 49: 282-286  
 [21]. Savarie P.J. & Pimentel D. (1991). The nature, modes of action, and toxicity of rodenticides. CRC Handbook of Pest Management in Agriculture. 11: 589-598.  
 [22]. Mulholland D.A., Schwikkard S.L. & Crouch N.R. (2013). The chemistry and biological activity Hyacinthaceae. Nat. Prod. Rep. 30: 1165-121