

ACTIVITE ANOPHELINOCIDE DES EXTRAITS AQUEUX, TERPENIQUES, ET STEROÏDIQUES DES PLANTES *Mentha aquatica* ET *Artemisia annua*

[ANOPHELINOCIDE ACTIVITY OF THE AQUEOUS, TERPENIC AND STEROIDIC EXTRACTS OF THE PLANTES *Mentha aquatica* AND *Artemisia annua*]

Bertin Zawadi Musaka¹, Janvier Bandibabone Balikubiri¹, Jean Augustin Rubabura Kituka², Chihire Barhahakana², Josué Fikiri Kwigonda³, and Luc Ombeni Bashwira¹

¹Laboratoire d'Entomologie Médicale et Parasitologie,
Centre de Recherche en Sciences Naturelles de Lwiro (CRSN-LWIRO), R.D. Congo

²Laboratoire d'entomologie agricole du CRSN - Lwiro, R.D. Congo

³Institut Supérieur Pédagogique de Walungu, R.D. Congo

Copyright © 2014 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: *Artemisia annua* and *Mentha aquatica* are plants, the first being an annual plant of variable size and the second in a perennial grass rependu D.R.CONGO. Both are used because of their toxic activity in *Acanthoscelides obtectus* and against *Plasmodium falciparum*. Aqueous extracts, terpene, and steroids from the leaves are equipped with a power that acts anophélinocide for 6 days. The DL100 and the LD50 of total extracts are respectively 0.37g/ml and 0,16g/ml for *M. aquatica*, 0.16g/ml and 0.08g/ml for *A. annua*.

KEYWORDS: activity anophélinocide, aqueous extracts, terpenes, steroids, *Mentha aquatica* and *Artemisia annua*.

RESUME: *Artemisia annua* et *Mentha aquatica* sont des plantes, la première étant une plante annuelle de taille variable et la seconde une herbe pérenne rependue en R.D.CONGO. Toutes les deux sont utilisées suite à leur activité toxique chez *Acanthoscelides obtectus* et contre le *Plasmodium falciparum*. Les extraits aqueux, terpéniques, et steroïdiques issus de leurs feuilles sont dotés d'un pouvoir anophélinocide qui agit pendant 6 jours. Les DL100 et le DL50 des extraits totaux sont respectivement de 0,37g/ml et 0,16g/ml pour *M. aquatica* ; 0,16g/ml et 0,08g/ml pour *A. annua*.

MOTS-CLEFS: activité anophélinocide- extraits aqueux- terpéniques- steroïdiques- *Mentha aquatica* et *Artemisia annua*.

1 INTRODUCTION

Le paludisme est une maladie due à un hématozoaire du genre plasmodium transmis à l'homme lors de la piqûre par le moustique femelle du genre anophèle caractéristique de la région intertropicale. Cette maladie entraîne plus de deux millions de décès chaque année dont les enfants en âge pré-scolaire et les femmes enceintes sont les plus affectés avec plus de 15% de mortalité [1]. Les études entomologiques réalisées à Lwiro et ses périphéries (province du Sud –Kivu, RD.Congo) situé à 1750m d'altitude depuis 1998 jusqu'en 2008 font état de six espèces d'anophèles entre autre *Anophèles gambiae*, *Anophèles funestus*, *Anophèles marschalli*, *Anophèles demeilloni*, *Anophèles coustani* et *Anophèles christyi* [2]. Les deux

premières espèces atteignent un taux de prévalence allant jusqu'à 97,5% et sont les vecteurs plus dangereux du plasmodium dans cette aire d'étude et permanentes tout au long de l'année [3].

En RD. CONGO, le paludisme est endémique ; cependant son degré d'endémicité varie d'une région à une autre. A Lwiro par exemple, le niveau d'endémicité du paludisme selon la classification internationale, est compris entre 11% et 50% [4]. Dans cette aire, le paludisme est la cause principale des consultations dont 20% d'hospitalisation sont causés par le paludisme parmi lesquels un taux de 8% est observé d'année en année [4].

La réduction de cette endémie, demande l'intégration des mesures curatives et préventives bien que le parasite responsable de cette endémie est résistant à l'égard de certains médicaments comme la chloroquine [4]. La même résistance est observée chez les vecteurs à l'égard de quelques insecticides considérés comme polluants [5].

Parmi les méthodes préventives du paludisme, l'utilisation des substances capables soit de chasser ou de tuer les anophèles pour briser le cycle de développement des vecteurs contribuerait à la réduction du paludisme. De ce fait, *Mentha aquatica* et *Artemisia annua* contiendraient des principes actifs anophélinocides contre les anophèles adultes, agents vecteurs du paludisme.

Le deux plantes étaient choisies suite à leur activité toxique sur *Acanthoscelides obtectus* et *Sitophilus zeamais*; insectes ravageurs des denrées stockés [6] et l'action des feuilles de *Artemisia annua* L sur le plasmodium [7]. Elles ont été récoltées au centre de recherche de Lwiro situé à 1750m d'altitude à l'Est de la R.D.Congo et identifiées au laboratoire de botanique du même centre.

Mentha aquatica est une herbe pérenne, odoriférante à tige pourpre rampante, s'amincissant aux nœuds de 30 à 50cm de longueur. Les feuilles opposées courtement pétiolées ovales à la base. Les fleurs rosâtre-bleues ou blanches jusqu'à 7mm de longueur. *Artemisia annua* est une plante annuelle très odorante, de taille variable de 20cm à plus de 2m de hauteur. La tige principale est dressée sillonnée –striée avec des rameaux alternes. Ses feuilles glabres à lobes dentées pectinées, les inflorescences terminales sont en panicules globuleuses de 2 à 3mm de diamètre. Les fleurs centrales sont hermaphrodites avec une couleur jaune pâle et les fruits sont des akènes obovoïdes glabres et striés [8].

2 MATERIELS ET METHODES

2.1 MATERIEL VEGETAL ET PREPARATION DES EXTRAITS

Les deux plantes *Artemisia annua* (Asteraceae) et *Mentha aquatica* (Lamiaceae) étaient collectées à la station de Lwiro, province du Sud-Kivu à l'Est de la R.D.Congo en juin 2008 et identifiées au laboratoire de botanique du même centre.

Après séchage, 30g de poudre issus de chaque plante étaient macérés dans 300ml d'éthanol pendant 24heures dans un bœcher. Après filtration, et évaporation du solvant, les résidus étaient analysés par screening phytochimique pour identifier les différents principes actifs contenus dans ces deux plantes et leur teneur [6].

S'agissant des extraits aqueux totaux, 30g de poudre pour chaque plante étaient également macérés dans 300ml d'eau distillée ce qui nous a permis de faire le pré-test.

2.1.1 EXTRAITS TERPÉNIQUES

Les résidus des extraits organiques totaux étaient récupérés dans un mélange d'hexane et d'eau distillée dans la proportion 2:1. Deux phases de solutions, différentes par leurs couleurs se sont créées, puis séparées par décantation étant donné que celle terpénique était émergente et de couleur verdâtre par rapport à la phase aqueuse contenant encore les stéroïdes. La phase terpénique était chauffée, évaporée et les résidus étaient récupérés par l'eau distillée avant de procéder aux différentes dilutions.

2.1.2 EXTRAITS STÉROÏDIQUES

La phase stéroïdique était chauffée et évaporée. Les résidus étaient récupérés dans 5ml de chloroforme puis dilués dans l'eau distillée en vue d'obtenir les différentes concentrations des extraits stéroïdiques. Les papiers disques étaient imprégnés des solutions terpéniques, stéroïdiques de différentes concentrations avant le test d'activité anophélinocide.

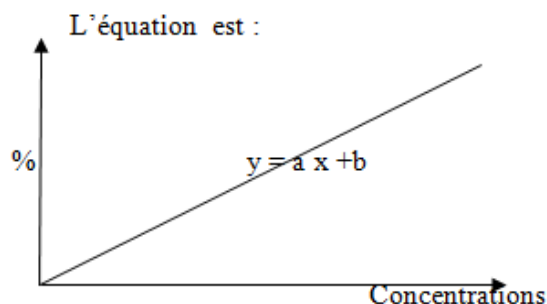
2.2 TEST D'ACTIVITÉ ANOPHÉLINOCIDE

La capture des anophèles dont les deux espèces *Anophèles gambiae* et *Anophèles funestus* était faite dans les maisons d'habitation de Lwiro entre 4h -6h du matin par notre équipe technique du laboratoire d'entomologie médicale outillée des lampes torches, des tubes à essai et l'ouate. L'identification des spécimens était réalisée au sein du même laboratoire [9], suivi du test proprement en utilisant les tubes cylindriques et transparents de 125mm de longueur et 44mm de diamètre ayant le papier disque contenant l'extrait soit de la solution- mère ou celle déjà diluée et où nous exposons les anophèles à tester.

Après exposition pendant une heure, les anophèles testées étaient gardées dans le tube à OMS ne contenant pas d'imprégnation et cela durant 24 heures pour une observation. Le taux de mortalité était évalué après toutes les observations pour se rassurer de l'impact de ces extraits tel que recommande la procédure de WHO [10]. Chaque test répété trois fois était suivi de l'évaluation du taux de mortalité entraîné par tel ou tel principe actif.

2.3 CALCUL DU TAUX DE MORTALITE

Le calcul du taux de mortalité s'effectue à partir de la moyenne de pourcentage pour les différentes expériences réalisées. Après la détermination du taux de mortalité, nous avons calculé le taux de mortalité théorique (DL50 et DL 100) à partir d'une équation de la droite de régression qui traduit la corrélation entre le taux de mortalité et les concentrations de différents extraits de ces deux plantes [10].



3 RESULTATS

Les résultats des extraits aqueux issus de ces deux plantes prouvent que toutes les deux ont une action anophélinocide; cependant *Mentha aquatica* paraît plus efficace à l'égard des anophèles par rapport à *Artemisia annua* tel que présenté dans le tableau1.

Tableau 1: Taux de mortalité moyen à partir des extraits aqueux totaux

Plantes	Anophèles	Test 1	Test2	Test3	Moyenne du taux de mortalité (%)	Concentration en g/l
<i>Mentha aquatica</i>	7	6	5	5	76.2	0.28
	7	1	2	3	28.6	0.028
	7	1	1	1	14.3	0.0028
	7	0	0	0	0.0	0.00028
<i>Artemisia annua</i>	7	1	2	2	23.8	0.04
	7	0	0	0	0.00	0.004
	7	0	0	0	0.00	0.0004
	7	0	0	0	0.00	0.00004
Témoin (eau)	7	0	0	0	0.00	

S'agissant des extraits terpéniques, le constant était le même car les extraits issus de *Mentha aquatica* s'avèrent plus efficaces que issus de *Artemisia annua* nonobstant leur concentration tel qu'on peut le constater dans le tableau 2

Tableau 2: Taux de mortalité moyen à partir des extraits terpéniques

Plantes	Anophèles	Test 1	Test2	Test3	Moyenne du taux de mortalité (%)	Concentration en g/l
<i>Mentha aquatica</i>	7	7	7	7	100.00	0.04
	7	1	1	0	9.5	0.004
	7	0	0	0	0.00	0.0004
	7	0	0	0	0.00	0.00004
<i>Artemisia annua</i>	7	3	4	4	52.4	0.6
	7	0	1	0	4.8	0.06
	7	0	0	0	0.00	0.006
	7	0	0	0	0.00	0.0006
Témoin (eau)	7	0	0	0	0.00	

Quant aux extraits stéroïdiques, le taux de mortalité varie en fonction de la concentration comme on peut le constater dans le tableau 3. Cela se traduit par la similarité constatée entre ces deux plantes à partir du screening phytochimique relevant l'abondance des stéroïdes chez *Mentha aquatica* et *Artemisia annua*.

Tableau 3: Taux de mortalité moyen à partir des extraits stéroïdiques

Plantes	Anophèles	Test 1	Test2	Test3	Moyenne du taux de mortalité (%)	Concentration en g/l
<i>Mentha aquatica</i>	7	2	1	2	23.8	0.03
	7	0	0	0	0.00	0.003
	7	0	0	0	0.00	0.0003
	7	0	0	0	0.00	0.00003
<i>Artemisia annua</i>	7	4	3	4	52.4	0.05
	7	2	1	1	19.1	0.005
	7	0	0	0	0.00	0.0005
	7	0	0	0	0.00	0.00005
Témoin (eau)	7	0	0	0	0.00	

Une fois les différents extraits testés, nous avons déterminé la dose susceptible d'entraîner la mort de 50% et 100% (DL 50 et DL 100) à partir de l'équation de la droite de régression dont l'indice variait en fonction de l'extrait et compris entre 0.9 et 1.

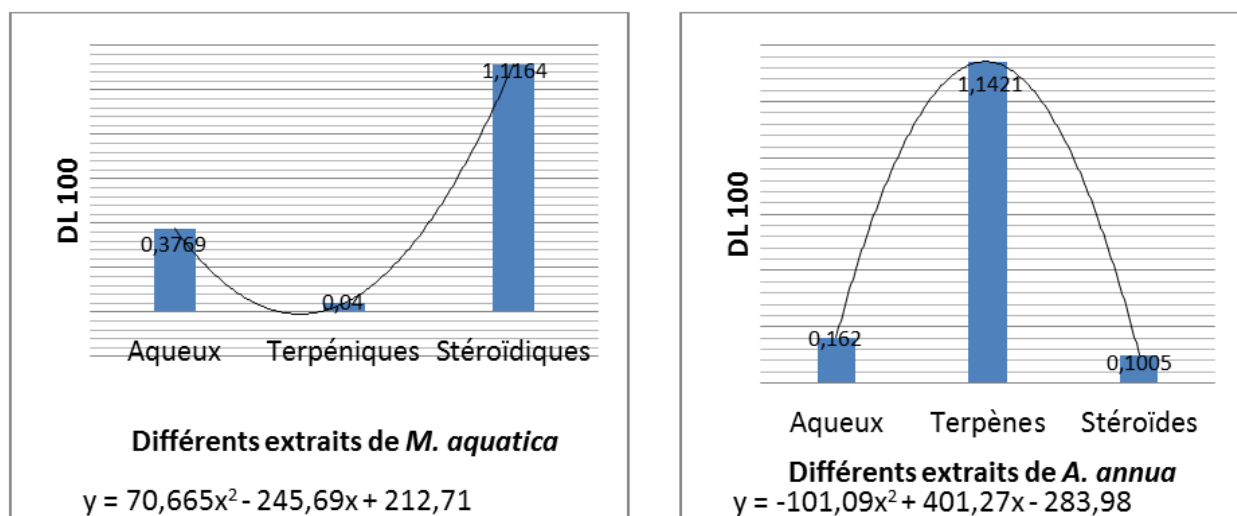


Fig 1 : La plus faible dose qui tue 100% d'anophèles (DL100) pour les extraits issus de ces deux plantes

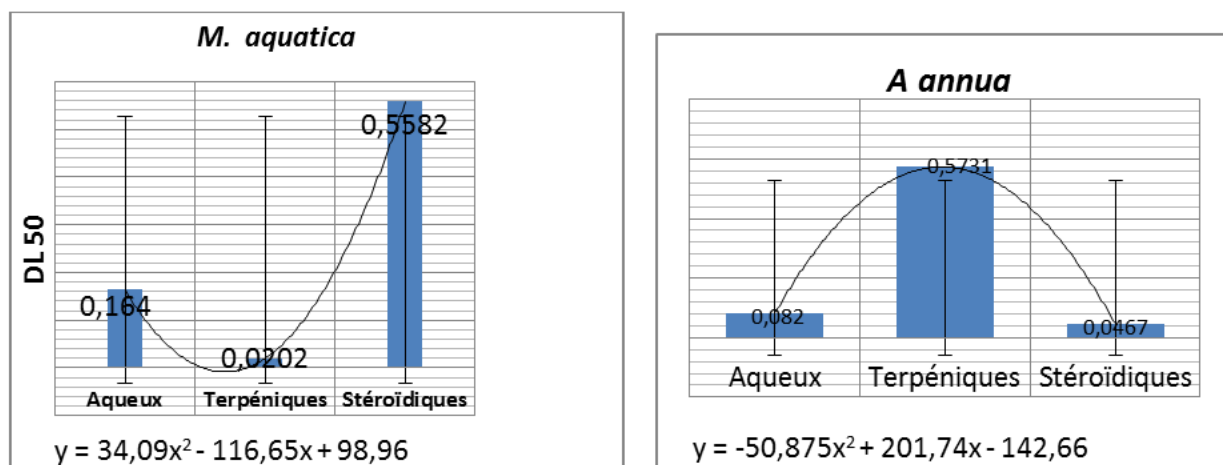


Fig 2 : La plus faible dose qui tue 50% d'anophèles (DL50) pour différents extraits

Légende

DL 100 : dose létale la plus faible qui tue 100% d'anophèles

DL 50 : dose létale la plus faible qui tue 50% d'anophèles.

Y : équation de la courbe de tendance

Au regard de la figure 2 (DL50), le constat est que les doses létales pour *Mentha aquatica* augmentent de terpènes, puis aux stéroïdes et en fin aux extraits aqueux. Ceci signifie que les terpènes manifestent une activité anophélinocide importante car une moindre concentration entraîne une mortalité importante chez les anophèles. Quant à *Artemisia annua*, nous constatons que les doses létales augmentent des stéroïdes puis aux extraits aqueux totaux et en fin aux terpènes; cela se justifie par la proportion plus importante en stéroïdes contenus dans cette plante par comparaison aux terpènes. Le DL100 dans *M. aquatica*, les extraits terpéniques sont plus anophélinocides, suivis de ceux aqueux et en fin les extraits stéroïdiques. La faible teneur en stéroïdes dans cette plante explique mieux cette concentration importante à faible activité anophélinocide. Le screening phytochimique de *A. annua* relève la présence des terpènes à l'état de trace, ce qui nécessite une concentration importante pour avoir une activité anophélinocide (DL 50 et DL100).

4 DISCUSSION

La lutte antipaludique nécessite l'intégration des mesures curatives ainsi que celles préventives. Le plasmodium présente une résistance face à certaines molécules telle que la chloroquine. Les vecteurs ont également une résistance à l'égard des insecticides [2].

Il est à signaler que l'activité anophélinocide décroît des terpènes aux extraits aqueux et en fin aux stéroïdes car pour *Mentha aquatica* où ses extraits (stéroïdiques) sont présents, les terpènes paraissent plus efficaces à moindre concentration.

Considérant la différence de concentration des extraits contenus dans ces deux plantes, nous comprenons mieux la différence entre elles en termes d'efficacité anophélinocide. Eu égard au tableau 2, nous le remarquons car pour *Mentha aquatica*, 0.04g/ml des extraits terpéniques entraînent la mortalité de 100% tandis que 0.6g/ml issus de *Artemisia annua* tuent 50% pour les mêmes extraits (terpéniques). Ainsi donc, les terpènes issus de *Mentha aquatica* ont une activité anophélinocide importante que ceux extraits d'*Artemisia annua*.

Le taux de mortalité sous l'action de stéroïdes contenus dans *M. aquatica* est dû aux différentes concentrations utilisées pour le DL100 et le DL50 (fig 1 et 2). De ce fait, 0.03g/ml issu de *Mentha aquatica* a un taux de mortalité de 25% tandis que 0.05g/ml extrait *Artemisia annua* entraîne 50% comme taux de mortalité (tableau 3). Le taux de mortalité causé par les stéroïdes ne varie pas en fonction de ces principes actifs issus de telle ou telle plante mais plutôt en fonction de la concentration de l'échantillon utilisé pour chaque plante. Les extraits aqueux totaux de *A. annua* sont efficaces non seulement aux vecteurs mais aussi aux parasites du paludisme [11].

Les extraits aqueux totaux de *Mentha aquatica* ont une activité anophélinocide plus importante par rapport à ceux d'*Artemisia annua*. Ceci se justifie pour deux niveaux: d'abord, c'est *Mentha aquatica* que sont fortement concentrés les

terpènes plus anophélinocides par rapport à *Artemisia annua* mais aussi, l'échantillon de *Mentha aquatica* est plus concentré (0,28g/ml) comparativement à celui de *Artemisia annua* (0,04g/ml).

S'agissant des extraits terpéniques, ils sont non seulement efficaces à très faible concentration mais aussi plus insecticide que les extraits stéroïdiques en général (tableaux 2et 3).

L'utilisation des extraits aqueux, terpéniques et stéroïdiques issus de ces deux comme anophélinocides, contribuerait à la réduction des vecteurs du paludisme, car ces extraits ont une activité toxique contre *Sitophilus zeamais* et *Acanthoscelides obtectus*, insectes ravageurs des denrées stockés [6].

5 CONCLUSION

Ainsi donc, l'utilisation extraits terpéniques de ces deux plantes pallierait aux insecticides qui restent par ailleurs coûteux. Cela contribuerait à la lutte contre les vecteurs pour réduire la prévalence du paludisme dans notre région et partout ailleurs où cette endémie décime la population.

REFERENCES

- [1] O.M.S. Maladies tropicales; progrès de la recherche. Genève. Pp 44- 57. 2004
- [2] Basabose K., Bagalwa M., et Chifundera K.,. Anophelinocidal activity of volatil oil from *Tagetes minuta* L (Asteraceae).Lwiro; Est de la R.D.Congo.Pp 1-4. 1997
- [3] Basabose K., Kilosho T., Notes sur les gîtes larvaires des vecteurs du paludisme dans la zone d'altitude à Lwiro. Est de la R.D.Congo. Pp 2-4. 1994.
- [4] Cemubac. Activité de la section«soins de santé primaire et nutrition » rapport annuel Bruxelles et Lwiro. Pp 5- 14. ,1992
- [5] Diannio Jmc.,. Impact de la résistance d'*Anophèles gambiae* à la perméthrine et à la deltaméthrine sur l'efficacité des MII. Médecine tropicale. Pp 15- 22. 1998.
- [6] Yalire M. Evaluation de la toxicité des extraits terpéniques et stéroïdiques de *Artemisia annua*, *Mentha aquatica* et *Tagetes minuta* à l'égard de *Sitophilus zeamais* et *Acanthoscelides obtectus*. ISP/BUKAVU/R.D.C. Pp 18- 26. 2000.
- [7] Ditsove V. Effet comparatif de la quinine, des dérivés de l'artémisine et des extraits aqueux et organiques de *Artemisia annua* L sur le *Plasmodium falciparum* in vitro. Département de Biologie-chimie .ISP/BUKAVU/R.D.C. Pp 14-21, 2001.
- [8] Hans, Martin. Médecine naturelle tropicale. Pp 34- 46. 2001.
- [9] Vouchet S. Clé de détermination des larves d'anophèles. Pp 1-3, 1985.
- [10] Who. Criteria and meaning of tests for determining susceptibility of resistance of insecticides. Who expert committee on insecticide. Pp 48-59. , 1970.
- [11] Magnus A., Bantuzeko C., Bieke D., Yvan H., Plaizier V. Evaluation of *Artemisia annua* infusion efficacy for the treatment of malaria in *Plasmodium chabaudi chabaudi* infected mice. Elsevier. Pp 344-348, 2009.