

TOXICITE AIGUE DE L'HUILE DE *RICINUS COMMUNIS* L CHEZ LES SOURIS BLANCHES FEMELLES *MUS MUSCULUS*

Guergour. H^{a,d}, Mahdeb. N^c, Allouni. R^a, Benouadah. Z^{b,d}, et Bouzidi. A^{a□}

^a Département de biochimie, Faculté des sciences de la nature et de la vie Université de Sétif, 19000 Sétif Algérie.

^b Département de biologie animale, Faculté des sciences de la nature et de la vie Université de Sétif, 19000 Sétif Algérie.

^c Département d'agronomie, Faculté des sciences de la nature et de la vie Université de Sétif, 19000 Sétif Algérie.

^d Département de Biologie, Centre universitaire de B.B.A, 34000 B.B.A, Algérie

□ E-mail address: bouzidiab@yahoo.fr

Résumé

La toxicité aiguë de l'extrait brut de l'huile de *Ricinus communis* L a été évaluée par détermination la (LD₅₀) chez des souris femelle *Mus Musculus* qui ont reçu différentes doses de l'huile par administration intra péritonéale et l'étude de quelques paramètres en relation avec particulièrement le foie et le rein.

Cette étude a permis de calculer la DL₅₀ = 5623,41 mg/kg, avec une diminution significative de la masse relative du cœur, du foie et du cerveau après 1^{er} jour, et des poumons, du cœur, des reins et du cerveau après le 5^{ème} jour. Les analyses biochimiques ont révélé une augmentation significative de la créatinine après le 5^{ème} jour, et une augmentation de l'ALP et de GOT après le 1^{er} jour tandis que le glucose n'a montré aucun changement notable.

L'étude histologique du foie montre l'atteinte par le péliose et des congestions des tubules rénaux au niveau de reins des souris traités avec l'huile de ricin surtout après le 5^{ème} jour de l'application.

L'ensemble des paramètres biochimiques et histologiques montre l'effet toxique retardé de l'huile de ricin (après plusieurs jours de son application).

Mots clés: *Ricinus communis*, huile de ricin, toxicité, souris, foie, rein.

Abstract

The acute toxicity of the crude extract oil from *Ricinus communis* L was assessed by determining the (LD 50) female mice *Mus Musculus* who received different doses of the oil by intraperitoneal administration and the study of some parameters related particularly liver and kidney. This study allowed to calculate the LD 50 = 5623.41 mg / kg, with a significant decrease in the relative mass of the heart, liver and brain after the first day, and lung, heart, kidney and brain after the fifth day. Biochemical analyzes revealed a significant increase of creatinine after the fifth day, and an increase in ALP and GOT after 1 day while glucose showed no significant change.

The histological study of the liver shows the attack by the péliose and the congestions of the renal tubules on the level of kidneys of the mice treated with the castor oil especially after the 5th day of the application.

The whole of the biochemical and histological parameters shows the delayed toxic effect of the castor oil (after several days of its application).

Key words: *Ricinus communis*, castor oil, toxicity, liver, kidney.

2.1.2 Matériel végétal

Il est constitué des graines de *Ricinus communis* récoltées au mois de Juillet- Août 2010, période de maturation des graines, dans la région de Beni Aziz située Nord Est à 70 Km de la ville de Sétif (fig. 1).



Fig. 1 : Les graines de *Ricinus communis* L.

2.2 Méthode utilisée

2.2.1 Extraction d'huile de ricin

L'extraction d'huile de ricin a été effectuée à l'aide de Soxhlet. Les graines ont été séchées dans une étuve à 60° C pendant 7 heures afin de réduire son contenu d'humidité.

La pâte des graines obtenue (50g) a été placée dans une cartouche de cellulose, celle-ci est placée à son tour dans l'appareil de Soxhlet, chauffé à 60 ° C. L'huile de ricin en première étape est extraite à chaud sous reflux par 150 ml d'hexane pendant 3 heures (au moins 8 cycles sont nécessaires pour un épuisement total des graines). A l'issue de cette opération, l'hexane est évaporé, et le rendement est calculé (Akpan et al., 2006)

1 Introduction:

Ricinus communis L est une plante de la famille des Euphorbiacées (Witchard, 1997; Malathi et al., 2006). En Algérie et dans pays arbes, elle est connue sous le nom de " Kharouaa" (Hammiche et Maiza, 2006).

Elle est largement cultivé dans la plupart des subtropicales sèches (Ziyu et al., 2008; Cheema et al.,

Ricinus communis), sont utilisées importantes, elles contiennent 50% d'huile et l'huile de ricin est un gras principal est le 12-oléique, connu qu'acide ricin oléique (Witchard, 1997; Akpan et al., 2006). Elle est traditionnellement employée pour l'usage interne comme purgatif. Elle est aussi utilisée comme émoullient dans le traitement externe et comme solvant pour les

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail dont l'objectif essentiel consiste à étudier la toxicité de l'extrait brut d'huile de ricin chez des souris femelle *Mus musculus* et d'évaluer son effet sur quelques paramètres biochimiques liés à la structure et la fonction rénal et hépatique dans les conditions de la toxicité aigue.

2. Matériels et méthodes

2.1 Matériels

2.1.1 Matériel animal

Le matériel animal est constitué des souris blanches femelles pesant entre 20 et 30 g (*Mus musculus*) provenant de l'institut Pasteur d'Alger, ayant libre accès à l'eau et la nourriture standard (croquettes, Ets ONAB El Kseur, Béjaia) *ad libitum* et acclimatés aux conditions d'élevage de l'animalerie, Département de Biochimie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de sétif.

alcalin) a été fait l'aide d'un Beckman coulter Synchro CX-9 clinical system

Technique histologique

L'étude pathomorphologique comprend la coloration avec l'hématoxyline de fines coupes de 5µm d'épaisseurs et l'observation au microscope optique.

2.5 Les analyses statistiques

Les résultats obtenus sont exprimés en moyenne \pm SD et analysés par one-way ANOVA suivi par Dunnett test pour la comparaison multiple avec le groupe control.

Le seuil de signification a été fixé à $p < 0,05$.

3. Résultats et discussion

3-1 Extraction de l'huile de ricin

La plante (*Ricinus communis L*) utilisée dans notre étude est identifiée sur la base de la description des caractéristiques morphologiques de la plante (Bruneton, 1999 ; Couplan et Styner, 2000).

L'extraction par solvant d'huile de ricin à partir des graines de *Ricinus communis L* a permis d'obtenir un extrait de couleur jaune pale plus ou moins épais avec un rendement d'extraction de 30% , ces résultats sont en concordance avec ceux trouvés par Akpan et al., (2006) et Garba (2006).

3.2 Analyse qualitative

L'analyse de l'extrait de l'huile de ricin des graines de *Ricinus communis* par CCM sur gel de silice nous a permis de mettre en évidence la présence de plusieurs spots, dont le principale correspond au l'huile de ricin (fig. 2).

2.3. Détermination de la LD₅₀

Après une période d'habituation, cinq lots de souris femelles sont traitées par l'huile des graines de *Ricinus communis L* par simple application par voie intra péritonéale, avec les doses suivantes: 2190, 3650, 7300, 10950, 14600 mg/kg. Le groupe témoin a reçu de l'eau physiologique.

Après administration d'huile de ricin aux animaux, ils sont observés individuellement chaque heure pendant le premier jour et chaque jour pendant 14 jours. Le comportement et les symptômes cliniques des animaux sont notés pendant toute la durée de l'expérience.

Évaluation de la toxicité aiguë

Pour l'évaluation de la toxicité aigue d'huile de ricin, les souris sont réparties en 3 groupes expérimentaux renfermant chacun 10 animaux :

- Un groupe d'animaux témoins.
- Deux groupes d'animaux traités avec la dose 2433.3 mg/kg ($\approx 1/3$ DL₅₀)
- Toxicité aiguë de 1^{er} jour : un groupe traité (lot 1).
- Toxicité aiguë de 5^{ème} jour : un groupe traité (lot 2).

Les animaux sont privés de nourriture 24 heures avant l'essai. Ils sont pesés au moment de l'application de l'extrait d'huile de ricin.

Le 1^{er} groupe sacrifié 24h après l'application.

Le 2^{ème} groupe sacrifié 5 jours après l'application avec le groupe témoin.

2.4 Les paramètres biochimiques

Le prélèvement du sang est effectué par ponction cardiaque à l'aide d'une seringue contenant de l'héparine. les souris sont anesthésiées au départ par l'éther diéthylique.

L'analyse des paramètres hématologiques (RBC, WBC, PLT, HGB, HCT, MCV, MPV, RDW, MCH, MCHC) a été effectuée à l'aide d'un Beckman coulter Médonic.

Le dosage des paramètres sériques (Glucose, Créatinine, les transaminases, phosphatase

D'après la classification des produits chimiques de Frank (1992), (DL₅₀ > 5000 mg/kg) l'extrait de l'huile des graines de *Ricinus communis* est classée dans la catégorie des produits faiblement toxiques.

3.5. Etude de la toxicité aigue

L'étude de la toxicité aigüe de l'extrait de l'huile de ricin n'a montré aucun signe de toxicité durant le 1^{er} jour, cependant un amaigrissement et des diarrhées et une baisse du poids corporel des souris femelles traitées et sacrifiées après le 5^{ème} jour, ont été observés.

Cette perte de poids pourrait être expliquée par une réduction de la consommation de nourriture (perte d'appétit), mais aussi à une diminution de la quantité des aliments absorbés.

La diarrhée peut être expliquée par une action irritante qui est due à l'acide ricin oléique. La diarrhée peut être due à l'augmentation de la perméabilité cellulaire entraînant des modifications considérables du transport de l'eau et des électrolytes (Arseneault, 2000).

L'examen macroscopique des organes (rein et foie) des souris, n'a révélé aucun changement morphologique dans les organes des souris traitées en comparaison avec ceux des souris témoins.

La masse relative des différents organes chez les souris témoins et traitées par l'huile de ricin des graines de *Ricinus communis* a montré une diminution significative après le 1^{er} jour respectivement des poumons, du cœur, du foie et de cerveau.

Une diminution significative des masses relatives respectivement des poumons, du cœur, des reins et de cerveau pendant le 5^{ème} jour après l'application (tab.1).

Pour la toxicité aigüe de 1^{er} jour, on n'a pas enregistré de changements notables à l'exception du MPV qui a montré une augmentation significative. Au cours du 5^{ème} jour, on a enregistré une augmentation significative des



Fig 2 : Séparation par chromatographie sur couche mince de l'huile de ricin des graines de *Ricinus communis* L. Phase mobile : hexane/éther diéthylique /acide acétique : 60/40/1 (V/V/V). Révélateur : réactif de Godin.

3.3 Détermination de la DL₅₀ de l'huile de ricin chez les souris femelles

Observation du comportement et tableau clinique des animaux

Dès le début du traitement, on a observé chez les animaux une carte clinique caractérisée par un comportement normal dans les premières heures avec une accélération de rythme cardiaque, suivi de diarrhées et d'amaigrissement dans les jours suivants. Secondairement, l'activité des animaux se réduit, leur démarche devient lente. La mort survient dès la 3^{ème} heure. Les souris ayant survécues restent dans un état critique après le 15^{ème} jour.

3.4. Calcul de la DL₅₀ par la méthode de LITCHFIELD et WILCOXON

A partir de la courbe « Dose-Effet » de l'huile de ricin sur les souris femelles (fig. 3), on tire les valeurs

La DL₅₀ = 5623,41 mg/kg.

La DL₁₆ = 3467,4 mg/kg

La DL₈₄ = 10471,3 mg/kg

Pour le seuil de probabilité P= 0.05, l'intervalle de la DL₅₀ est compris entre 4261, 8 mg/kg < DL₅₀ < 7419, 9 mg/kg.

d'enzymes normalement localisés dans le cytosol, sont libérés dans le sang. Leurs estimations dans le sérum sont utilisées comme des marqueurs pour mesurer l'endommagement des hépatocytes (Witthawaskul et al., 2003; Kumar et al., 2004).

L'urée et la créatinine restent des paramètres sémiologiques pour établir un diagnostic sur la fonction rénale (Serge, 1985; Hilaly et al., 2003). Sur le plan biochimique, la toxicité aigue est associée à une altération significative de quelques paramètres biochimiques clés incluant les transaminases, l'urée et créatinine.

RBC et une diminution significative de MCH et MCHC (tab. 2)

Sachant que l'augmentation des érythrocytes et des leucocytes est due à la surproduction des éléments de régulation de l'hématopoïèse tels que les CSF (Colony stimulating factor), l'EPO (Erythropoietin), la TPO (Thrombopoietin) par les macrophages et les cellules stromales de la moelle osseuse et fournissant ainsi un environnement local favorable pour l'hématopoïèse (Chang-Gue et al., 2003; Udu et al., 2005). Cette augmentation est associée à une diminution du taux d'hémoglobine et du MCHC chez les femelles indiquant ainsi la diminution de la concentration d'hémoglobine dans les globules rouges. On assiste donc à une hypochromie (Bain, 2006).

Il est évident que l'altération hépatique est due à une fuite des enzymes cellulaires dans le plasma. Quand les membranes plasmiques des hépatocytes sont endommagées, une variété

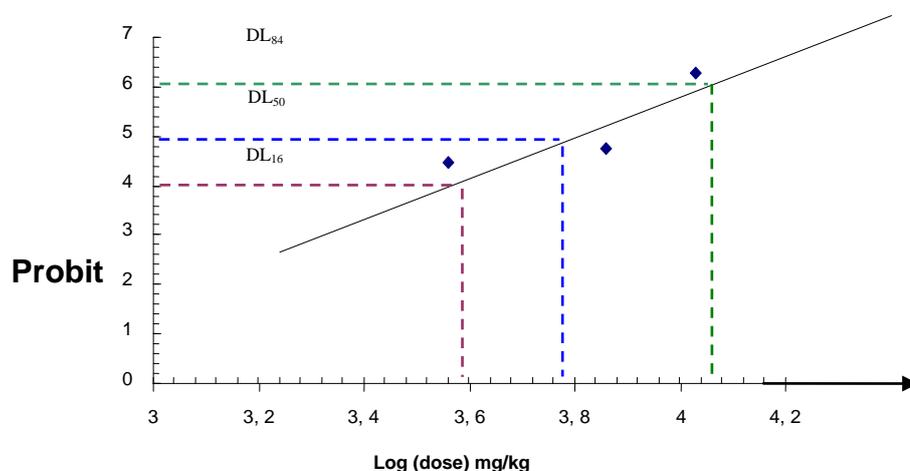


Fig. 3 : Estimation de la DL₅₀ chez les souris femelles traitées par voie intra péritonéale par l'huile de ricin des graines de *Ricinus communis* L.

Tableau 1 : Masse relative des organes des souris traitées avec l'huile de Ricin et témoins ; présentée sous forme de moyenne \pm SD

Masse	Poumons	Cœur	Reins	Rate	Foie	Cerveau
Souris						
Témoins	0,0080 \pm 0,00024	0,00548 \pm 0,00025	0,0124 \pm 0,00046	0,00574 \pm 0,00046	0,0761 \pm 0,00590	0,0189 \pm 0,00060
Souris 1 ^{er}	0,0065* \pm 0,00028	0,00448* \pm 0,00019	0,0110 \pm 0,00041	0,0044 \pm 0,00034	0,0578* \pm 0,00253	0,0147*** \pm 0,00077
Souris 5 ^{eme}	0,0066** \pm 0,00027	0,0041** \pm 0,00024	0,0107* \pm 0,00047	0,00636 \pm 0,00076	0,0755 \pm 0,00481	0,0163* \pm 0,000422

□ Significativement différent pour $p < 0.05$

Tableau 2 : Paramètres hématologiques des souris blanches femelles traitées dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 2433.3 mg/kg (1 / 3 de la DL₅₀) d'huile de *Ricinus communis* L. Les traitées et témoins ; présentée sous forme de moyenne \pm SD.

Paramètres Hématologiques	RBC 10 ⁶ /mm ³	MCV μm ³	HCT %	MPV μm ³	WBC 10 ³ /mm ³	HGB gr/dl	MCH pg	MCHC g/dl
Souris	6,80 \pm 0,245	43,8 \pm 0,720	29,7 \pm 0,874	6,833 \pm 0,8155	8,433 \pm 1,296	11,69 \pm 0,2807	17,31 \pm 0,5582	39,51 \pm 1,030
Souris traités 1 ^{er} Jour	6,53 \pm 0,238	42,0 \pm 1,09	26,2 \pm 1,49	8,575* \pm 0,3437	5,533 \pm 0,9415	12,21 \pm 0,3512	19,95 \pm 1,080	47,55 \pm 2,457
Souris traités 5 ^{eme} jour	7,94* \pm 0,480	41,6 \pm 0,761	34,12 \pm 2,213	6,800 \pm 0,2214	5,440 \pm 1,158	11,20 \pm 0,7314	14,12* \pm 0,1319	32,94** \pm 0,2943

□ Significativement différent pour $p < 0.05$

dégradation des composés protéiques, mais aussi par une atteinte de la fonction rénale.

L'observation des coupes histologiques des reins des souris traitées par rapport aux témoins a permis d'observer des congestions du parenchyme rénal dans les conditions de la toxicité aiguë (1^{er} et 5^{eme} jour).

L'étude histologique du foie des souris traitées révèle la présence des pélioses en comparaison avec les témoins dans les conditions de la toxicité aiguë.

Les résultats montrent clairement l'augmentation significative des transaminases surtout au 5^{eme} jour (fig. 4). Cet effet est probablement dû aux effets directs de l'huile de ricin et leurs métabolites sur les cellules hépatiques. Ceci pourrait être expliqué par une métabolisation et une excrétion lentes de l'huile et de leurs métabolites après l'atteinte hépatique et rénale. Une élévation du taux de la créatinine au 5^{eme} jour était notée, tandis que le glucose n'a montré aucun changement notable (fig. 5). Cette augmentation de la créatinine pourrait être expliquée par une augmentation de la

néanmoins nos études ont montré que l'huile de ricin a un effet toxique retardé sur quelques paramètres hématologiques et sérique liés à la structure et la fonction rénale et hépatique chez les souris.

4. Conclusion

Les résultats de la présente étude que le *Ricinus communis* L est classé parmi les plantes toxiques chez l'homme et les animaux, sa toxicité est due aux glycoprotéines qui sont des protéines d'inactivation ribosomale. Les données expérimentales de la toxicité aigue de l'huile de ricin chez femelles ($DL_{50} = 5623,41$ mg/kg) permettent de classer l'extrait d'huile de *Ricinus communis* L dans la catégorie des produits faiblement toxiques selon la classification de Frank.

Malgré que l'extrait brut d'huile de ricin soit classé parmi les produits non toxiques,

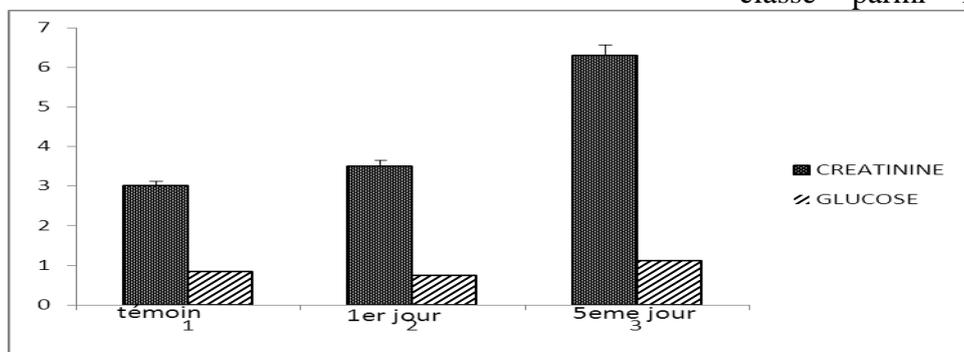


Fig. 5 : Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (glucose et créatinine) des souris traités et témoins dans les conditions de la toxicité aigue par la dose de 2433.3 mg/kg (1 / 3 de la DL_{50}) de l'huile de ricin des graines de *Ricinus communis* L.

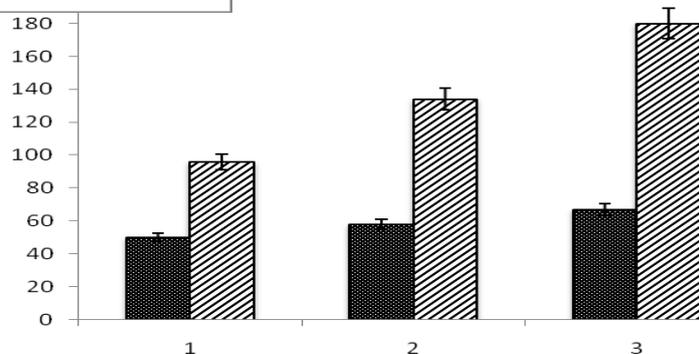


Fig. 4 : Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction hépatique (GPT et GOT) des souris traités et témoins dans les conditions de la toxicité aigue par la dose 2433.3 mg/kg (1 / 3 de la DL_{50}) de l'huile de ricin des graines de *Ricinus communis* L.

Kumar, B., Sharmila, P., Vanitha Pappa, M., Sundararajan, M., Rajasekara P. (2004) Hepatoprotective activity of *Trianthema portulacastrum* L. against paracetamol and thioacetamide intoxication in albino rats. *J. ethnopharmacol.* 92: 37-40.

Malathi, B., Ramesh, S., Venkateswara, K. R., Dashavantha, V. R. (2006). *Agrobacterium*-mediated genetic transformation and production of semiooper resistant transgenic castor (*Ricinus communis* L.). *Euphytica.* 147: 441-449.

Serge, B (1985). Révision accélérée en biochimie clinique. Maloine, Paris.

Sujatha, M., Reddy, T.P., Mahasi, M.J. (2008) .Role of biotechnological interventions in the improvement of castor (*Ricinus communis* L) and *Jatropha curcas* L. *Biotechnol. Adv.* 26: 424-435.

Udut, E.V., Zhdanov, V.V., Gur'iantseva, L.A., Minakova, M.I., Dygai, A.M. (2005) .Mechanisms of the erythropoiesis-stimulating effect of skullcap (*Scutellaria baicalensis*) extract. *Eksperimental'naia i Klinicheskaia Farmakologiya.* 68: 43-45.

Witchard, M. (1997). Paclobutrazol Is Phloem Mobile in Castor Oil Plant (*Ricinus communis* L.). *J. Plant Grow. Regul.* 16: 215-217.

Witthawaskul.P., Panthong,A., Kanjanapothi,D., Taesothikul,T., Lertprasertsuke.N.(2003) Acute and subacute toxicities of the saponin mixture isolated from *Schefflera leucantha* Viguiet. *J. ethnopharmacol.* 89: 115-121.

Witthawaskul.P., Panthong,A., Kanjanapothi,D., Taesothikul,T., Lertprasertsuke.N.(2003) Acute and subacute toxicities of the saponin mixture isolated from *Schefflera leucantha* Viguiet. *J. ethnopharmacol.* 89: 115-121.

Ziyu Dai., Gerald, E. E., Maurice S. B. K. (1992) .Control of Photosynthesis and Stomatal Conductance in *Ricinus communis* L. (Castor Bean) by Leaf to Air Vapor Pressure Deficit. *Plant Physiol.* 99: 1426-1434.

Références bibliographiques

Akpan, U. G., Jimoh, A., Mohammed, A. D. (2006). Extraction, Characterization and Modification of Castor Seed Oil. *Leonardo J. Sci.* 8: 43-52.

Arseneault, Y. (2000).Quelle est la place de l'huile de ricin dans le déclenchement de travail? *Québec pharmac.* 47: 746- 748.

Bain, B.J. (2006). Blood cells a practical guide. Ed Blackwell, Australia.

Borch-Jensen, C., Benny Jensen., Mathiasen, K., Jørgen, M. (1997). Analysis of Seed Oil from *Ricinus communis* and *Dimorphoteca pluvialis* by Gas and Supercritical Fluid Chromatography. *JAOCs.* 74 : 277-284.

Bruneton, J. (1999). Plantes toxiques : Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Tec et Doc. Paris.

Chang-Gue, S., Seung-Hyun, H., Jung-Hyo, C., Jang-Woo, S., Chin-Ho, C., Yeon-Weol, L., Chong-Kwan, C.(2003). Induction of hemopoiesis by saenghyuldan, a mixture of *Ginseng radix*, *Paeoniae radix alba*, and *Hominis placenta* extracts. *Act. Pharmacol. Sinica.* 24: 120-126.

Cheema, N. M., Muhammad, A., Ghulam, Q., Malik, A. R. (2010). Characterization of castor bean genotypes under various environments using SDS6PAGE of total storage proteins. *Pak. J. Bot.* 42: 1797-1805.

Couplan, F., Styner, E. (2000). Guides des plantes sauvages: comestibles et toxiques (1994), Delachaux & Niestle, Paris.

El Hilaly,J., Z.H. Israili. B Lyoussi, B. (2003) Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals. *J. ethnopharmacol.* 91: 43-50.

Garba, A, I (2006). Production of Detergent from Castor Oil. *Pract. Technol.* 9: 153-160.