



(12) DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

(11) N° de publication :
MA 38024 A1

(51) Cl. internationale :
**A61K 36/71; A61P 25/20;
A61P 25/00**

(43) Date de publication :
30.11.2016

(21) N° Dépôt :
38024

(22) Date de Dépôt :
21.04.2015

(71) Demandeur(s) :
**UNIVERSITÉ MOHAMMED V DE RABAT, Angle avenue Allal El Fassi et Mfadel
Cherkaoui Al Irfane 8007. N.U RABAT (MA)**

(72) Inventeur(s) :
**FARDI Bouchra ; Amina ZELLOU ; Y.CHERRAH ; K.ALLAOUI ; Houssein tligui ; Sara
AOUFI ; rachid ELJOUDI**

(74) Mandataire :
KARTIT ZAID

(54) Titre : **EFFET SEDATIF DE L EXTRAIT ALCALOIDIQUE ET ETHANOIQUE DES
GRAINES DE DELPHINIUM STAPHYSAGIA**

(57) Abrégé : **EFFET SEDATIF DE L EXTRAIT ALCALOIDIQUE ET ETHANOIQUE DES
GRAINES DE DELPHINIUM STAPHYSAGIA**

Abrégé :

La présente invention utilisait l'extrait ethanologique et alcaloïdique pour l'étude de l'activité psychotrope des graines de *Delphinium staphysagria* grâce à une batterie de tests comportementaux utilisées en psychopharmacologie chez deux espèces de mammifères souris et rats, par voie orale. Ces extraits exercent des effets sédatifs significatifs à des degrés différents par rapport à la référence. L'extrait Alcaloïdique administrée par voie orale à la dose 5mg/kg prolonge l'effet hypnotique du Thiopental sodique.

Le but de l'invention est d'extraire les alcaloïdes des graines de DS présager un spectre thérapeutique intéressant lié de la drogue cherchant à donner une base scientifique à l'utilisation de cette drogue

**Titre : Effet sédatif de l'extrait alcaloïdique et éthanolique des
graines de *Delphinium Staphysagria***

30 NOV 2016

Description

Notre invention concerne le domaine de la phytothérapie et la pharmacologie par l'usage de *Delphinium staphysagria*, très connu dans son aire de répartition naturelle, est un arbuste pouvant dépasser un mètre de hauteur, et très largement utilisé par les tradipraticiens contre les névralgies, la diurèse, maux de dent, la chute des cheveux.

Le recours aux plantes à des fins thérapeutiques est connu depuis bien longtemps. En effet les plantes constituent l'essentiel de la pharmacopée soit sous leur forme brute, soit sous formes galéniques plus élaborées comme les extraits. L'importance du règne végétal n'a pas cessé d'être démentie, que ce soit à travers la découverte des anticancéreux (vinorelbine, docetaxil), antipaludiens (quinine, artemisine), des antalgiques (morphine extraite de l'opium) des anesthésiques (curares). Il n'existe aucun domaine thérapeutique pour lequel les plantes feraient défaut. En cancérologie de nombreuses molécules cytotoxiques sont originaires de plantes, exemple, le poison du fuseau extraits des aiguilles d'if *Taxus bachata* et *Taxus revifolia* à l'origine du Taxol.

L'utilisation correcte des plantes dans des buts médicaux exige une approche méthodique et rationnelle. Dans ce sens l'étude des propriétés pharmacologiques d'une plante constitue une étape primordiale. Une étude chimique pourra isoler et doser des substances chimiques pures ou des groupes chimiques définis, qui devront être corrélés à l'activité pharmacologique. Actuellement, la majorité des molécules synthétisées par les plantes d'intérêt pharmaceutiques sont extraites directement de la plante. Ces molécules, appelées métabolites secondaires,

Le genre *Delphinium* (Renonculacée) est une source très riche en alcaloïdes. A l'heure actuelle les chercheurs ont isolés à partir des différents organes du Genre *Delphinium* plus de 40 alcaloïdes diterpéniques MDL et MSAL présentant une différence de toxicité due à la différence entre leurs structures. Ces alcaloïdes sont isolés, séparés et identifiés à partir de plusieurs espèces de *Delphinium* d'Asie, Europe et Amérique du Nord, doués d'activités pharmacologiques: analgésique, anti-inflammatoire et psychotrope (Ben et Jayno, 1983).

Notre invention porte sur *Delphinium staphysagria* (DS) que l'on rencontre au Maroc dans le Rift et dans la péninsule tingitane ; elle pousse dans les forêts et les broussailles fraîches de la plaine et des basses montagnes spontanées.

Delphinium staphysagria, très connu dans son aire de répartition naturelle, est un arbuste pouvant dépasser un mètre de hauteur, et très largement utilisé par les tradipraticiens contre les névralgies, la diurèse, maux de dent, la chute des cheveux. *Delphinium staphysagria* appartient à la famille des Renonculacées contient

de nombreuses substances chimiques capables de manifester diverses activités pharmacologiques. Nous nous sommes intéressés aux alcaloïdes qui sont des composés organiques azotés et naturels, le plus souvent d'origine végétale.

Les études phytochimiques antérieures réalisées sur les graines de *Delphinium staphysagria*, ont révélé la présence de plusieurs types d'alcaloïdes Staphinine, Delphinine Delphidine, Néoline, Néoline triacétate ; d'autre alcaloïdes ont été identifiés à partir de l'espèce *Delphinium staphysagria* marocaine.

Les alcaloïdes constituent le non générique de près d'un millier de substances naturelles ou synthétiques appartenant à la chimie des substances, ayant des propriétés thérapeutiques ou toxiques remarquables surtout à l'état pur même à faible dose. Les alcaloïdes sont parmi les plus importants des produits naturels, en raison de leurs propriétés biologiques. Ces alcaloïdes sont utilisés comme remède en médecine de certaines pathologies aiguës comme le cancer, l'hypertension artérielle le diabète et l'hépatite. Les investigations réalisées par la microchimie ont permis de montrer que les alcaloïdes sont le plus souvent localisés dans les tissus périphériques: assises externes, des écorces de tige et de racines, tégument des graines, ces molécules sont normalement stockées dans les vacuoles

Chez l'Homme, les alcaloïdes diterpéniques agissent principalement sur le système nerveux central et cardiovasculaire; où l'un de leurs sites d'action est le canal Na^+ voltage-dépendants des membranes cellulaires des tissus excitables, sur laquelle ils agissent soit comme activateurs ou inhibiteurs (Jutta Friese, 1997). Outre ce canal ionique Na^+ , plusieurs autres cibles moléculaires ont été identifiés, y compris le récepteur de type NMDA glutamate, le récepteur de GABA de type A, et les canaux K^+ voltage-dépendants. D'autres métabolites agissent aussi comme antagonistes sur les récepteurs de l'acétylcholine nicotinique

Les chimistes sont parvenus à modifier la structure de certaines molécules que les plantes renferment, afin de les rendre moins toxiques, plus efficaces ou de leur conférer une meilleure biodisponibilité.

L'extraction des alcaloïdes repose, sur le fait qu'ils existent habituellement dans la plante à l'état de sels et sur leur basicité, c'est-à-dire leur solubilité différentielle des bases et des sels dans l'eau d'une part, dans les solvants organiques d'autre part.

Les essais de la toxicité aiguë, sont les premières études entreprises dès que quelques grammes d'une substance pharmacologiquement actives sont disponibles. Ils sont effectués de manière à permettre de déceler les signes de toxicité aiguë et de déterminer les modalités de la mort La détermination de la dose létale permet d'apprécier les niveaux de dose qui peuvent engendrer la mort de l'animal de laboratoire, de connaître les symptômes de l'intoxication aiguë ainsi que les circonstances de la mort. Le produit est administré par la voie d'administration usuelle (voie orale).

Ces études fournissent des indications sur les effets probables d'un surdosage aigu chez l'homme et peuvent être utiles pour la conception d'étude de la toxicité par administration répétée chez les espèces animales adéquates.

Les essais de toxicité par administration unique doivent être effectués de manière à permettre de déceler les signes de toxicité aiguë et de déterminer les modalités de la mort. Une évaluation quantitative de la dose

létale approximative doit être effectuée chez des espèces appropriées et des informations doivent être données sur le rapport dose/effet (CCE, 1992)

La présente invention utilisait l'extrait éthanolique et alcaloïdique pour l'étude de l'activité psychotrope des graines de *Delphinium staphysagria* grâce à une batterie de tests comportementaux utilisées en psychopharmacologie chez deux espèces de mammifères souris et rats, par voie orale. Ces extraits exercent des effets sédatifs significatifs à des degrés différents par rapport à la référence. L'extrait Alcaloïdique administrée par voie orale à la dose 5mg/kg prolonge l'effet hypnotique du Thiopental sodique.

Le but de l'invention est d'extraire les alcaloïdes des graines de DS présager un spectre thérapeutique intéressant lié de la drogue cherchant à donner une base scientifique à l'utilisation de cette drogue

Matériel et Méthodes

Matériel végétal : *Delphinium staphysagria* a été récolté dans la région de Chefchaouen, Nord du Maroc, en juin 2010. Un spécimen a été déposé au département de Botanique à l'institut scientifique de Rabat identifié sous le N° RAB 65077.

Obtention des extraits éthanoliques et alcaloïdiques

L'extrait éthanolique est obtenu par macération à froid. 250 g de graines de DS sont mis à macérer à l'abri de lumière dans l'éthanol 80% pendant 24h sous agitation. L'extrait est filtré et concentré sous pression réduite à 50°C ; le résidu sec obtenu est ensuite placé au dessiccateur afin d'éliminer totalement toute trace de solvant, puis l'extrait éthanolique est réservé à -4°C.

Le changement de pH permet de purifier l'extrait alcaloïdique. Le résidu sec est repris par l'acide sulfurique 0.5 M, les alcaloïdes se solubilisent sous forme de sels dans la phase aqueuse et sont alcalinisés par une base, NaOH 20%, l'extraction se fait par le dichlorométhane [11,12].

Produits testés

- Extrait alcaloïdique administré aux doses 10 et 20mg/kg par voie orale,
- Extrait éthanolique administré aux doses 20 et 40mg/kg par voie orale,
- Bromazépam : (7-Bromo-2,3-dihydro-5-(2-pyridinyl)-1H-1,4-Benzodiazépine-2-one) administré à la dose 10mg/kg par voie orale.

Animaux

Les tests ont été réalisés sur des souris Swiss et des rats Wistar de sexe male issus du laboratoire de l'élevage (animalerie centrale de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat). Le poids des souris se situe entre 20 et 30g, celui des rats 180 g et 220 g. Les animaux maintenus dans les mêmes conditions de température 20°C, l'accès à l'eau et aux aliments à volonté, l'utilisation des animaux a été faite en conformité avec les guides d'utilisation des animaux de laboratoire, selon les directives du Journal Officiel des Communautés Européennes.

Essais toxicologiques

Les essais de la toxicité sont les premiers essais entrepris après l'obtention des deux extraits. La DL_{50} est déterminée selon la ligne directrice de l'OCDE.

Etude de l'activité psychotrope

L'étude des effets sédatif, tranquillisant, hypnotique et catatonigène a été réalisée grâce aux tests comportementaux suivants :

Test de la traction :

Ce test consiste à suspendre la souris par les pattes antérieures à un fil métallique tendu horizontalement. Une souris normale effectue un rétablissement en moins de 5 secondes.

Test de la cheminée :

Il consiste à placer une souris dans une éprouvette de 2l dont la tête est en bas ; on note le temps mit par la souris pour sortir à reculons, une sédation est installée si le temps dépasse 30secondes.

Test de la planche à trous

Il permet d'explorer la curiosité et le désir de fuite de l'animal. Pour ce faire, on utilise une planche à trous de 40cmx40cm et de 1.8cm d'épaisseur, percé de 16 trous de 3cm de diamètre régulièrement espacés, les souris sont disposés une à une au centre de la planche. Sur le détecteur électronique est affiché le nombre de fois où la souris plonge la tête dans un des trous doté de cellules photoélectriques, le nombre de trous explorés est révélé au bout de 1, 2, 3, 4 et 5min ; pendant toute la durée de l'essai, le ou les observateurs doivent être rigoureusement silencieux et immobiles.

Test Rota rod

Nous avons utilisé l'appareil ugo Basil Rota Rod modél 7600, pour l'étude du test Rota rod. Les souris sont placées sur le mat horizontal de 50cm de long qui tourne librement autour de son axe avec une vitesse de rotation constante.

Le temps de l'animal sur la barre est mesuré à 30, 60 et 120 min après l'administration orale des deux extraits des graines de *Delphinium staphyagria* chez cinq souris par lot à 20 et 40mg/kg pour l'extrait éthanolique et 10 et 20mg/kg pour l'extrait alcaloïdique. Le bromazepam est utilisé comme témoin positif (10mg/k, VO). Un pré-test est obligatoire pour pouvoir sélectionner les souris qui dépassent 60s sur la barre (Témoin négatif).

Pour chaque test, trois lots de 5 souris sont utilisés :

- Lot témoin recevant le solvant de l'extrait ;
- Lot de référence recevant le bromazepam ;
- Lot traité par l'extrait.

Recherche d'une action hypnotique

Les rats ayant reçu l'hypnotique ont perdu leur reflexe de redressement. Mis sur le dos, ces animaux gardent cette position, contrairement au lot témoin qui se retourne.

Ainsi on mesure les :

- Temps d'endormissement, temps écoulé entre l'injection de l'hypnotique et la suppression du reflexe de redressement (TE).
- Temps de sommeil, temps écoulé entre la disparition du reflexe de redressement et sa réapparition (TS).

Recherche d'une action catatonigène

Les tests habituellement utilisés pour rechercher une activité catatonigène mettent en évidence la catalepsie, qui peut être caractérisée chez l'animal par l'association de perte d'initiative motrice et plasticité.

L'animal est considéré comme cataleptique s'il accepte de croiser les pattes antérieures avec les pattes postérieures homolatérales.

On suit l'évolution de la catalepsie toutes les 15minutes.

Etude des interactions médicamenteuses Thiopental sodique

L'action hypnotique d'une substance peut être confirmée par ses effets potentialisateurs vis-à-vis de la narcose barbiturique.

Trois lots de cinq rats sont utilisés :

- Lot témoin : recevant Thiopental sodique 60mg/kg IP,
- Lot de référence recevant : Thiopental sodique 60mg/kg IP + Bromozépam 30mg/kg VO,
- Lot traité par les extraits : Thiopental sodique 60mg/kg IP+ (EE 10mg/kg, EA 5mg/kg) VO.

..Analyse statistique

La comparaison des moyennes des mesures entre les lots a été réalisée par le test de Student. Une différence significative est représentée par un $p < 0,05$; $n=5$ représente la taille de l'échantillon.

RESULTATS

Toxicité aigue

La DL_{50} de l'extrait alcaloïdique et éthanolique administrés par voie orale, calculée par la méthode décrite dans la ligne directrice de l'OCDE 423 est respectivement de 200mg/kg et 300mg/kg par VO

Selon la ligne Directrice de L'OCDE 423 pour les essais de produits chimiques, l'extrait éthanolique est classé dans la catégorie SGH de danger IV définie par $300\text{mg/kg} < DL_{50} < 2000\text{mg/kg}$ et l'extrait alcaloïdique est classé dans la catégorie SGH de danger III définie par $50\text{mg/kg} < DL_{50} < 300\text{mg/kg}$.

Activité psychotrope

Les résultats sont exprimés par rapport au témoin et par rapport à la référence Bromazepam administrée par voie orale à la dose 10mg/kg ;

Test de la traction :

Le temps moyen de rétablissement évalué 15min après l'administration des produits, est nettement supérieur au lot témoin et au seuil de 5 secondes. Il augmente en fonction de la dose, on note aussi un temps de chute pour le lot traité par l'extrait alcaloïdique administré à la dose 20mg/kg VO, comparable à celui de la substance de référence Bromazepam 10mg/kg VO.

Test de la cheminée :

Les souris traitées à l'extrait éthanolique 40mg/kg VO, et par l'extrait alcaloïdique 10mg/kg et 20mg/kg VO remontent le tube en un temps supérieur au seuil de 30secondes. La plupart n'ont pas essayé de remonter le tube durant les deux minutes d'observation.

Test de la planche à trous :

L'extrait alcaloïdique réduit significativement le nombre cumulatif de trous explorés (en rapport avec la curiosité) et le nombre d'espaces parcourus entre deux trous (en rapport avec la l'activité motrice) en comparaison avec le lot témoin et à la substance de référence administrée par voie orale à la dose 10mg/kg.

Test rota- Rod :

Les résultats du test rota Rod illustrés par les histogrammes sont regroupés sur la figure1. Après 30min de l'administration orale de l'extrait alcaloïdique, le temps moyen de l'animal sur la barre diminue d'une façon significative ($p < 0.001$). 1h après l'administration, la capacité des souris à rester sur la barre augmente.

on sédatif de l'extrait éthanolique (20, 40mg/kg VO) et alcaloïdique (10mg/kg VO). Les résultats sont exprimés en \pm SEM (n=10) par rapport au groupe témoin.

	<i>Témoin</i>	<i>Bromzépam 10mg/kg VO</i>	<i>EE 20mg/kg VO</i>	<i>EE 40mg/kg VO</i>	<i>EA 10mg/kg VO</i>	
Nombre de chutes	0	5	0	1	1	3
Temps moyen de chute en (sec)	0,00 \pm 0,00	9,21 \pm 0,04	0,00 \pm 0,00	16,5 \pm 0,0	12,14 \pm 0,00	7
Nombre de réactions positives	5	0	5	4	4	2
Temps moyen de rétablissement (sec)	0,70 \pm 0,02	0,00 \pm 0,00	1,30 \pm 0,07	5,407 \pm 0,022	11,007 \pm 0,763	1
Nombre de réponses positives	5	0	5	4	2	0
Temps moyen pour remonter le tube (sec)	4,100 \pm 0,031	t > 2 min	14,984 \pm 0,216	32,502 \pm 0,020	56,500 \pm 0,028	t
Nombre de trous explorés en 5 min	8,000 \pm 2,449	0,600 \pm 0,548	5,00 \pm 1,58	4,000 \pm 1,581	2,00 \pm 1,59	1,000

Figure 1 : Comportement des souris sur la tige tournante après administration orale de l'extrait éthanolique (20 et 40mg/kg) et l'extrait alcaloïdique (10 et 20mg/kg) et Bromozepam (10mg/kg). Les résultats sont présentés en secondes (moyennes \pm écart types), n= 5 souris par lot. $p < 0.001$.

Effet hypnotique

Les deux extraits Ethanolique (20mg/kg ; 40mg/kg) et Alcaloïdique (10mg/kg ; 20mg/kg) ne montrent aucun effet hypnotique chez le rat.

Pouvoir cataleptique : On n'observe pas de catalepsie chez les rats traitées par les deux extraits

Interaction médicamenteuse :

L'extrait alcaloïdique administré par voie orale à la dose 5mg/kg prolonge l'effet hypnotique du Thiopental sodique administré par voie intra péritonéal à la dose 60mg/kg (Tableau 2).

raction médicamenteuse de l'extrait éthanolique (EE 10mg/kg, VO) et l'extrait alcaloïdique (EA 5mg/kg, VO). Le
 a moyenne \pm écart type, $p < 0.001$ par rapport au groupe témoin.

	Thiopental 60mg/kg IP	sodique Thiopental + Bromozépam 30mg/kg VO	sodique 60mg/kg + EE 10mg/kg	Thiopental 60mg/kg +EA 5mg/kg VO
camenteuse	<i>TE</i>	2 min +55 s \pm 2,915 s	1 min +48 s \pm 3,162 s	2min +32 s \pm 2,550s
	<i>TS</i>	38 min +40 s \pm 28,34s	2h0min30s \pm 2,73s	52min9s \pm 11,67s
				2min +14 s \pm 3,873s
				1h0min50s \pm 2,121s

Tableau III: Pourcentage de variation du TE et TS du groupe EA 5mg/kg VO + Thiopental sodique 60mg/kg IP et le groupe EE 10mg/kg VO + Thiopental sodique 60mg/kg IP par rapport au groupe Témoin.

La variation du TE et TS chez les rats recevant EA 5mg/kg VO + Thiopental sodique 60mg/kg IP est respectivement de 31%, 65% par rapport aux rats traités par le Thiopental sodique. Chez le groupe recevant EE 10mg/kg VO + Thiopental sodique 60mg/kg IP, la variation du TE et TS est respectivement de 15% et 26%.

On peut dire que l'extrait EA (5 mg/kg VO) prolonge l'effet hypnotique du Thiopental sodique (60 mg/kg IP) plus que l'extrait EE (10 mg/kg VO) (Tableau III).

Les études chimiques faite sur l'espèce *Delphinium staphysagria* ont pu identifiés et isolés plusieurs composés à savoir les flavonoïdes, les hétérosides dianthramidiques et les alcaloïdes, L'activité sédatrice de l'extrait éthanolique des graines de *Delphinium staphysagria* serait due à la présence de ces composés qui sont en effet connus, doués de propriétés psychotropes.

Les récepteurs nicotiniques d'acétylcholine (nAChR) sont des canaux cationiques ligand-dépendants trouvés dans tout le corps, ils servent de médiateur de diverses fonctions physiologiques. De type musculaire nAChR situés dans la région plaque motrice des fibres musculaires, ils jouent un rôle essentiel dans la contraction musculaire et donc la fonction motrice.

Le mécanisme de l'activité sédatrice est basé sur l'inhibition des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, Les alcaloïdes MSAL et MDL [15] de type *Delphinium* sont des bloqueurs des canaux sodiques ou des antagonistes des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, dit anti arythmique. Ils sont appliqués dans le traitement de diverses maladies neurologiques.

L'extrait éthanolique administré à la dose 40mg/kg et l'extrait alcaloïdique des graines de *Ds* administré par VO à la dose 20mg/kg provoquent de façon significative à $p < 0,001$ un allongement du temps de rétablissement, une perte de l'initiative et de la curiosité, une diminution du temps de maintien sur la barre. ce temps augmente 30 min après l'administration des deux extraits, et l'animal reprend son activité.

Les deux extraits éthanolique et alcaloïdique exercent donc un effet sédatif sur le SNC, vis-à-vis de la substance de référence Bromozépam administrée par VO à la dose 10mg/kg, l'extrait éthanolique a une activité sédatif moins importante que celle de l'extrait alcaloïdique qui exerce un effet sédatif comparable à celui de la substance de référence.

Aux doses expérimentales, 100mg/kg VO pour l'extrait éthanolique et 50mg/kg VO pour l'extrait alcaloïdique, les deux extraits n'ont pas d'effet hypnotique, ni de pouvoir catatonigène.

L'extrait alcaloïdique administré par VO à la dose de 5mg/kg, avec un pourcentage de variation du TS de 65% par rapport aux rats traités par le Thiopental sodique prolonge l'effet hypnotique du Thiopental sodique ; il est donc plus efficace que l'extrait éthanolique. La variation du TE et TS chez les rats recevant EA 5mg/kg VO + Thiopental sodique 60mg/kg IP est respectivement de 31%, 65% par rapport aux rats traités par le Thiopental sodique. Chez le groupe recevant EE 10mg/kg VO + Thiopental sodique 60mg/kg IP, la variation du TE et TS est respectivement de 15% et 26%.

On peut dire que l'extrait EA (5 mg/kg VO) prolonge l'effet hypnotique du Thiopental sodique (60 mg/kg IP) plus que l'extrait EE (10 mg/kg VO) (Tableau III).

Liste des figures et des tableaux

Figure 1 : Structure chimique des alcaloïdes des espèces de *Delphinium*.

Figure 2: Structure des alcaloïdes de l'espèce *Delphinium Staphisagria*

Figure 3 : Comportement des souris sur la tige tournante après administration orale de l'extrait éthanolique (20 et 40mg/kg) et l'extrait alcaloïdique (10 et 20mg/kg) et Bromozepam (10mg/kg). Les résultats sont présentés en secondes (moyennes \pm écart types), n= 5 souris par lot. $p < 0.001$.

Tableau 1: Action sédatif de l'extrait éthanolique (20, 40mg/kg VO) et alcaloïdique (10mg/kg VO). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type, $p < 0.001$ par rapport au groupe témoin.

Tableau II: Interaction médicamenteuse de l'extrait éthanolique (EE 10mg/kg, VO) et l'extrait alcaloïdique (EA 5mg/kg, VO). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type, $p < 0.001$ par rapport au groupe témoin.

Tableau III: Pourcentage de variation du TE et TS du groupe EA 5mg/kg VO + Thiopental sodique 60mg/kg IP et le groupe EE 10mg/kg VO + Thiopental sodique 60mg/kg IP par rapport au groupe Témoin.

Revendications

1. Nouvelle utilisation de l'extrait ethanologique et alcaloïdique des graines de Delphinium staphysagria caractérisé en ce que les extraits exercent des effets sédatifs et tranquillisants sur le système nerveux central et un prolongement de l'effet hypnotique du Thiopental sodique.
2. Nouvelle utilisation de l'extrait ethanologique et alcaloïdique des graines de Delphinium staphysagria selon la revendication 1 caractérisé en ce que l'extrait Alcaloïdique administrée par voie orale à la dose 5mg/kg prolonge l'effet hypnotique du Thiopental sodique.
3. Nouvelle utilisation de L'extrait alcaloïdique administré par voie orale à la dose 5mg/kg prolonge l'effet hypnotique du Thiopental sodique administré par voie intra péritonéal à la dose 60mg/kg (Tableau 2).

MSAL Alkaloids

MDL Alkaloids

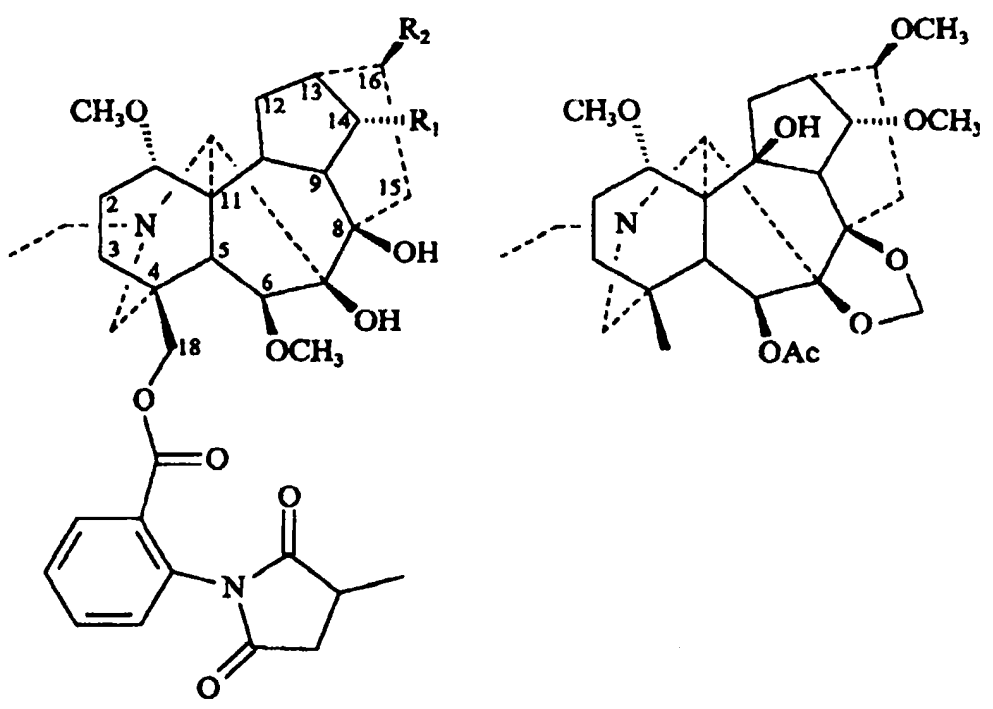
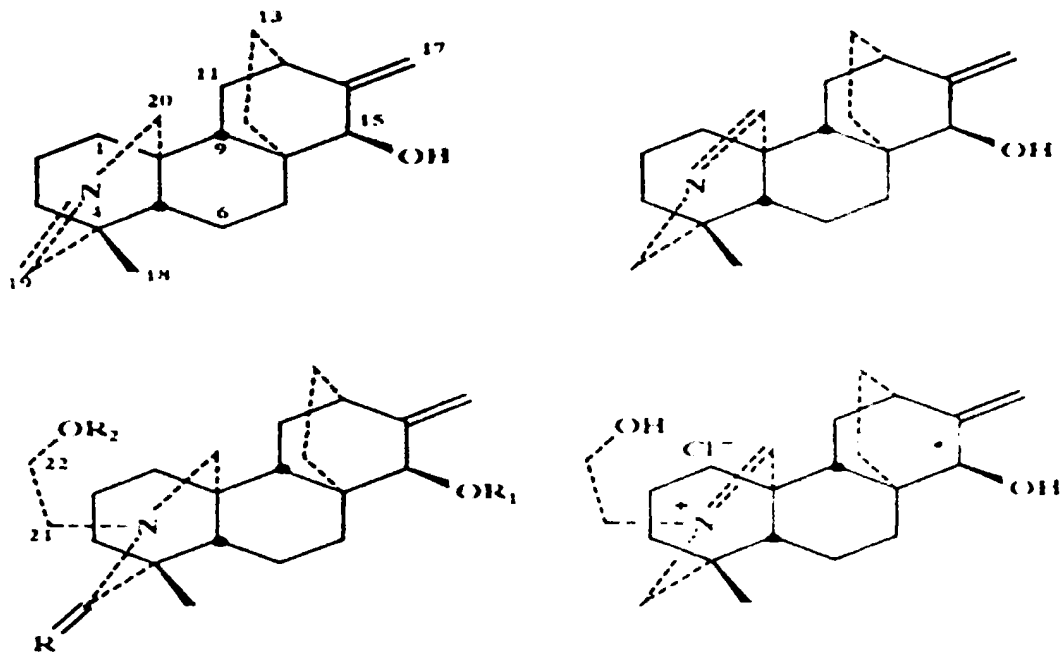
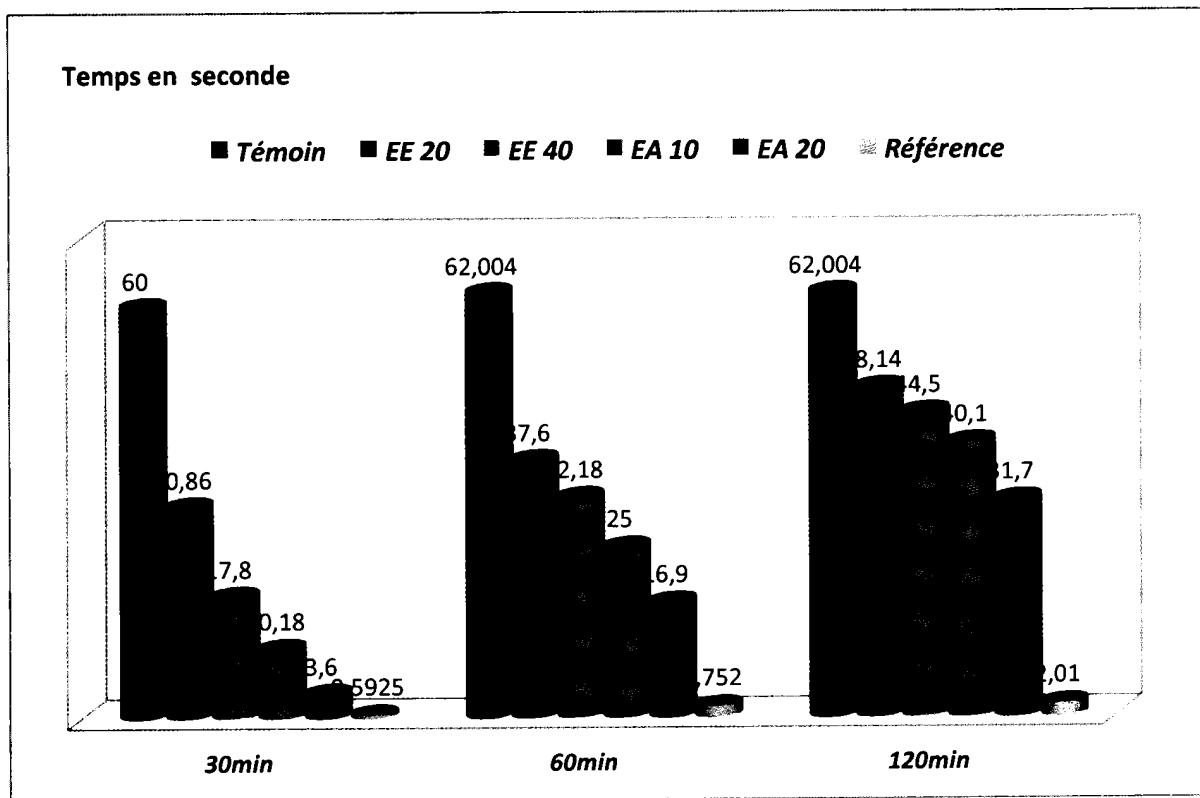
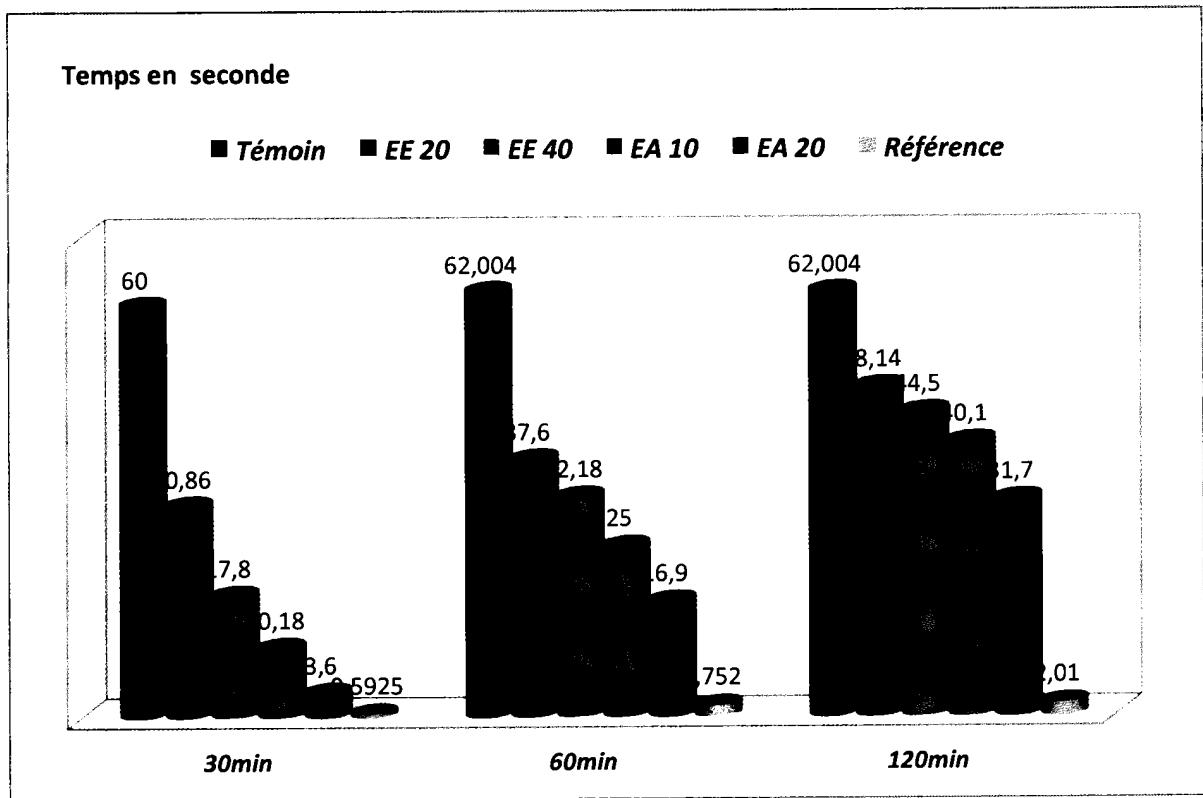


Figure 1







		175	108	152	134
		2320,6	9000	3129	6600
Variation en pourcentage / témoin		-62%	-15%	-31%	
		74%	26%	65%	



**RAPPORT DE RECHERCHE
AVEC OPINION SUR LA BREVETABILITE**
(Conformément aux articles 43 et 43.2 de la loi 17-97 relative à la
protection de la propriété industrielle telle que modifiée et
complétée par la loi 23-13)

Renseignements relatifs à la demande	
N° de la demande : 38024	Date d'entrée en phase nationale : 21/04/2015
Déposant : UNIVERSITÉ MOHAMMED V DE RABAT	
Intitulé de l'invention : EFFET SEDATIF DE L'EXTRAIT ALCALOÏDIQUE ET ETHANOÏQUE DES GRAINES DE DELPHINIUM STAPHYSAGIA	
Le présent document est le rapport de recherche avec opinion sur la brevetabilité établi par l'OMPIC conformément aux articles 43 et 43.2, et notifié au déposant conformément à l'article 43.1 de la loi 17-97 relative à la protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.	
Les documents brevets cités dans le rapport de recherche sont téléchargeables à partir du site http://worldwide.espacenet.com , et les documents non brevets sont joints au présent document, s'il y en a lieu.	
Le présent rapport contient des indications relatives aux éléments suivants :	
Partie 1 : Considérations générales	
<input checked="" type="checkbox"/> Cadre 1 : Base du présent rapport <input type="checkbox"/> Cadre 2 : Priorité <input type="checkbox"/> Cadre 3 : Titre et/ou Abrégé tel qu'ils sont définitivement arrêtés	
Partie 2 : Rapport de recherche	
Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité	
<input type="checkbox"/> Cadre 4 : Remarques de clarté <input checked="" type="checkbox"/> Cadre 5 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle <input type="checkbox"/> Cadre 6 : Observations à propos de certaines revendications dont aucune recherche significative n'a pu être effectuée <input type="checkbox"/> Cadre 7 : Défaut d'unité d'invention	
Examineur: S.BENCHEKROUN	Date d'établissement du rapport : 07/05/2015
Téléphone: 212 5 22 58 64 14/00	

Partie 1 : Considérations générales		
Cadre 1 : base du présent rapport		
Les pièces suivantes de la demande servent de base à l'établissement du présent rapport :		
<ul style="list-style-type: none"> • <u>Description</u> 12 Pages • <u>Revendications</u> 3 • <u>Planches de dessin</u> 2 		
Partie 2 : Rapport de recherche		
Classement de l'objet de la demande :		
CIB : A61K36/00, A61K36/71, A61P25/00, A61P25/20		
Bases de données électroniques consultées au cours de la recherche :		
EPOQUE, Orbit		
Catégorie*	Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	N° des revendications visées
A	Toxicité aigue et activité anti-inflammatoire des grains de delphinium staphysagria, Bouchra FARIDI, Yahia Cherrah, 01/01/2014 Abrégé	1-3
A	Pharmacological evaluation of Sedative and Hypnotic activities of methanolic extract of Lycopus europaeus in mice, 08/12/2013, Dr. Abdul Aziz, Imran Ahmad Khan	1-3
*Catégories spéciales de documents cités :		
<p>-« X » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément</p> <p>-« Y » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier</p> <p>-« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>-« P » documents intercalaires ; Les documents dont la date de publication est située entre la date de dépôt de la demande examinée et la date de priorité revendiquée ou la priorité la plus ancienne s'il y en a plusieurs</p> <p>-« E » Éventuelles demandes de brevet interférentes. Tout document de brevet ayant une date de dépôt ou de priorité antérieure à la date de dépôt de la demande faisant l'objet de la recherche (et non à la date de priorité), mais publié postérieurement à cette date et dont le contenu constituerait un état de la technique pertinent pour la nouveauté</p>		

Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité		
<i>Cadre 5 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle</i>		
Nouveauté (N)	Revendications 1-3 Revendications aucune	Oui Non
Activité inventive (AI)	Revendications 1-3 Revendications aucune	Oui Non
Possibilité d'application Industrielle (PAI)	Revendications 1-3 Revendications aucune	Oui Non
<p>Il est fait référence aux documents suivants. Les numéros d'ordre qui leur sont attribués ci-après seront utilisés dans toute la suite de la procédure</p> <p>D1 : Toxicité aigue et activité anti-inflammatoire des grains de delphinium staphysagria, Bouchra FARIDI, Yahia Cherrah, 01/01/2014</p> <p>1. Nouveauté (N) :</p> <p>Aucun des documents ci-dessus ne divulgue l'ensemble des caractéristiques techniques des revendications 1-3, d'où l'objet desdites revendications est nouveau au sens de l'article 26 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.</p> <p>Remarque importante :</p> <p>Lors de la recherche, on a pu ressortir un article scientifique « Phytochimie, toxicité aigue et activités pharmacologiques des graines de Delphinium staphysagria » publié le 22/12/2014 par Bouchra FARIDI, Yahia Cherrah, Amina Zellou, Katim Alaoui, cités en tant qu'inventeur dans la présente demande, et se rapportant au même objet.</p> <p>Comme c'est une divulgation qui a été faite avant la date de dépôt de ladite demande, mais dans un délai de 12 mois, elle n'est pas considérée comme une divulgation opposable au titre de la nouveauté et l'activité inventive au sens de l'article 27 de la loi N° 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.</p> <p>Par ailleurs, il est à noter que bon nombre de lois nationales et régionales (notamment européennes) ne contiennent pas la disposition de l'article 27 susmentionné, appelée communément « délai de grâce ». Aussi si le déposant envisage une extension de sa demande de brevet à l'échelle internationale, l'article publié sera pris en considération lors de l'examen de sa demande ce qui peut aboutir potentiellement à son rejet.</p> <p>2. Activité inventive (AI) :</p> <p>Le document D1 qui est considéré comme l'état de la technique le plus proche de l'objet de la revendication 1 décrit l'activité anti-inflammatoire des graines de Delphinium staphysagria. Cette dernière a été évaluée sur des œdèmes induits par la carragénine et par traumatisme expérimental chez le rat, qui ont montré que l'extrait éthanolique des graines de DS administré par voie orale à la dose de 40 mg/kg et l'extrait alcaloïdique des graines de DS administré par voie orale à la dose de 20mg/kg réduisent significativement l'œdème provoqué par la carragénine ou par traumatisme avec une meilleure efficacité de l'extrait alcaloïdique par rapport à l'extrait éthanolique.</p> <p>Par conséquent l'objet de la revendication 1 diffère de D1 par l'extrait éthanolique et alcaloïdiques des</p>		

graines de delphinium staphysagria.

Le problème que la présente invention se propose de résoudre peut donc être considéré comme la fourniture d'extrait éthanolique et alcaloïdique pour l'étude de l'activité psychotrope des graines de Delphinium staphysagria.

La solution proposée par le déposant est considérée inventive puisqu'il n'y a aucune incitation dans l'art antérieur, et qu'il n'est pas évident pour l'homme du métier, que l'extrait éthanolique et alcaloïdiques des graines de delphinium staphysagria exercent un effet sédatif sur le système nerveux centrale.

Par conséquent, l'objet des revendications 1-3 implique une activité inventive conformément à l'article 28 de la loi 17-97 modifiée et complétée par la loi 23-13.

3. Possibilité d'application industrielle (PAI) :

L'objet de la présente invention est susceptible d'application industrielle au sens de l'article 29 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13, parce qu'il présente une utilité déterminée, probante et crédible.