

Effet antihypertensif de BpF₂, une fraction d'extrait aqueux de feuilles de *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) chez le lapin

Léandre K. KOUAKOU^{1*}, Kouakou J-C. ABO², Flavien TRAORE² & Ehouan E. EHILE¹.

¹Laboratoire de Physiologie Animale, Pharmacologie et Pharmacopée, UFR des Sciences de la Nature, Université d'Abobo-Adjamé, 02 BP : 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Physiologie Animale, UFR Biosciences, Université de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

*Adresse pour les correspondances (E-mail : kouakoukl@yahoo.fr)

Reçu le 24-10-2006, accepté le 14-02-2008

Résumé

Les feuilles de *Bidens pilosa* L. sont largement utilisées dans la pharmacopée traditionnelle. Nous avons cherché à mettre en évidence les effets antihypertensifs de ces feuilles. L'analyse phytochimique révèle que la fraction 2, dénommée BpF₂, de l'extrait aqueux des feuilles de *Bidens pilosa* L. (Asteraceae), contient des flavonoïdes, des polyphénols et des tanins catéchiques. Pour des doses comprises entre 1 et 25 mg/kg de poids corporel, cette fraction chromatographique induit une hypotension dose-dépendante chez le lapin. Cet effet explique le potentiel antihypertenseur de cette fraction. Ces effets ressemblent à ceux bien connus de l'acétylcholine (ACh). Toutefois, alors que l'atropine inhibe totalement l'hypotension induite par l'ACh, elle ne reverse que partiellement l'hypotension provoquée par BpF₂. Ces résultats suggèrent fortement la présence de deux types de principes actifs dans cette fraction active BpF₂:

- les principes actifs cholinomimétiques de type muscarinique,
- les principes actifs non cholinomimétiques dont la nature reste à déterminer.

La présence de ces substances dans la fraction active pourrait justifier, au moins en partie, l'utilisation traditionnelle de *Bidens pilosa* L. contre l'hypertension artérielle.

Mots clés: *Bidens pilosa* L., acétylcholine, substance cholinomimétique de type muscarinique, substance non cholinomimétique.

Abstract

Antihypertensive effects of BpF₂, an active fraction of the aqueous extract from Bidens pilosa L. (Asteraceae) leaves in the rabbit.

The fraction 2, called BpF₂, of the aqueous extract from Bidens pilosa L. (Asteraceae) leaves, contained flavonoids, polyphenols and catechic tannins. For doses ranging from 1 to 25 mg/kg of body weight, this chromatographic fraction induced a dose-dependent hypotension in the rabbit. This effect explained the antihypertensive potential of the fraction.

These effects resembled those well-known of acetylcholine (ACh). However, whereas atropine completely inhibited the effect induced by ACh, its action remained partial on that caused by BpF₂.

These results suggested the presence of two types of active components in BpF₂ fraction.

- *muscarinic and cholinomimetic activity,*
- *non cholinomimetic activity to be clarified.*

The study showed at least two hypotensive activities in BpF₂ fraction, justifying the traditional use of Bidens pilosa L. against hypertension.

Key words: *Bidens pilosa* L., acetylcholine, muscarinic cholinomimetic activity, non cholinomimetic activity.

1. Introduction

Bidens pilosa L. est une plante herbacée qui possède des tiges tétragones, un peu poilues. Ses feuilles, pétiolées, pinnatifides, sont constituées par 3 à 5 folioles ovales ou lancéolées, acuminées, à dents très pointues sur la marge. Les capitules, discoïdes, riches d'environ 30 fleurs, ont un cœur jaune et des ligules blanches. Les fruits sont des akènes côtelés très finement soyeux, noirs, surmontés par deux arêtes (Bouquet & Debray, 1974; Adjanohoun & Aké Assi, 1979; Boullard, 2001).

Au Congo, le décocté de la plante entière est employé comme anti-poison. Ce décocté est utilisé contre les affections grippales et les fièvres, alors que les feuilles de la plante servent à soigner les hémorroïdes. Au Rwanda, la plante est aussi considérée comme anti-poison, tandis que les feuilles recouvrent divers usages pharmacologiques incluant des vertus vulnéraires et des potentialités de soins contre les hépatites ou hépatosplénomégalies, les otites et le psoriasis (Boullard, 2001). En Côte d'Ivoire, les effets anti-diarrhéiques et anti-inflammatoires de son utilisation en médecine traditionnelle ont été rapportés par Bouquet et Debray (1974) et Adjanohoun et Aké Assi (1979).

D'autres effets pharmacologiques relatifs à cette plante ont été rapportés. Geissberger et Sequin (1991) ont montré que différents extraits de cette plante possèdent des activités anti-microbiennes et anti-inflammatoires. Des tests *in vitro* effectués par Brandao *et al.* (1997) ont montré que cette plante inhibe à 90% l'activité de *Plasmodium falciparum*. Enfin, Dimo *et al.* (1999) ont décrit les effets hypotenseurs et diurétiques de l'extrait méthanolique des feuilles de *Bidens pilosa* L. sur les rats.

L'objectif de cette étude est de déterminer les principes actifs des principaux groupes chimiques contenus dans la fraction BpF₂ de l'extrait aqueux des feuilles de *Bidens pilosa* L. et de préciser les effets pharmacologiques de ces composés sur la pression artérielle de lapin.

2. Matériel et méthodes

2.1. Préparation de la fraction active de *Bidens pilosa* L. (BpF₂)

Cent grammes (100g) de poudre obtenue à partir de feuilles de *Bidens pilosa* L., préalablement séchées à l'air libre et à la température ambiante, sont mixés pendant 48 heures dans deux litres d'eau distillée. La solution obtenue est filtrée sur du coton hydrophile et du papier Whatman. Deux litres d'eau distillée sont ajoutés au culot, puis mixés pendant deux heures et filtrés également.

Les filtrats sont lyophilisés à l'aide d'un lyophilisateur de marque Telstar. La poudre obtenue subit un fractionnement sur gel de séphadex G25 fine. Cinq fractions ont été obtenues et testées. La fraction chromatographique F2 de l'extrait aqueux de *Bidens pilosa* L. utilisée dans ce travail, dénommée BpF₂ (*Bidens pilosa* fraction F2) s'est révélée être la plus active sur la pression artérielle de lapin.

2.2. Caractérisation des principaux constituants chimiques de BpF₂

La recherche des stérols et des terpènes s'est faite grâce à la réaction de Liebermann. La caractérisation des composés appartenant au groupe des polyphénols a été faite par la réaction au chlorure ferrique. Les composés appartenant au groupe des flavonoïdes ont été mis en évidence par la réaction à la cyanidine. Les composés appartenant au groupe des tanins ont été montrés grâce à la réaction de Stiasny. Les composés quinoniques libres ou combinés ont été mis en évidence grâce à la réaction de Borntraeger. La recherche des saponosides est basée sur la propriété qu'ont les solutions aqueuses contenant des saponosides de mousser après agitation. La recherche des alcaloïdes a été faite à l'aide des réactifs généraux de caractérisation des alcaloïdes. Deux réactifs ont été utilisés, à savoir, le réactif de Dragendorff (réactif à l'iodobismuthate de potassium) et le réactif de Bouchardât (réactif iodo-ioduré).

2.3. Animaux

Les lapins utilisés appartiennent à l'espèce *Oryctolagus cuniculus* (Leporidae). Ils proviennent de fermes situées à Abobo, une commune de la ville d'Abidjan, et pèsent en moyenne $2 \pm 0,2$ kg. Ils sont acclimatés pendant trois jours à l'animalerie de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) des Sciences de la Nature de l'Université d'Abobo-Adjamé.

2.4. Dispositif expérimental et technique d'enregistrement de la pression artérielle

Le dispositif expérimental utilisé pour l'enregistrement de la pression artérielle est le manomètre de Ludwig.

Le lapin est anesthésié par injection intrapéritonéale d'éthyl-uréthane dosé à 40%, à raison de 1g/kg de poids corporel. Sa carotide est disséquée et intubée à l'aide d'un cathéter relié au manomètre. Les variations de la pression carotidienne, qui sont transmises à la colonne de mercure du dispositif, sont enregistrées grâce à un stylet qui transcrit les mouvements du mercure sur un cylindre enfumé tournant à une vitesse constante.

La fraction active de *Bidens pilosa* L. et les substances pharmacodynamiques sont injectées par la veine saphène du lapin.

2.5. Substances chimiques

Les substances utilisées dans le cadre de cette étude sont: l'acétylcholine (ACh) et l'atropine (ATR) du laboratoire SIGMA (St Louis, MA, USA).

2.6. Traitement des enregistrements

Les enregistrements obtenus ont été scannés puis inversés grâce aux logiciels Photo Editor et Paint de Microsoft.

2.7. Analyses statistiques

L'analyse statistique des données est réalisée grâce au logiciel Statistica (Kemel Version 5.5, StatSoft France). Les résultats sont donnés sous forme de moyennes suivies des erreurs standards sur la moyenne. La différence entre deux valeurs a été déterminée par le test *t* de Student et est considérée comme significative pour $P < 0,05$.

3. Résultats

3.1. Etude phytochimique

Les résultats de l'analyse phytochimique qualitative de la fraction active 2 (BpF₂) de l'extrait aqueux des feuilles de *Bidens pilosa* L., sont consignés dans le tableau 1. Ils montrent que la

fraction 2 de *Bidens pilosa* L. ne contient pas d'alcaloïdes, de quinones, de saponosides, de tanins galliques, de terpènes et de stérols. En revanche, dans cette fraction se trouvent les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins catéchiqes.

Ces expériences ont été répétées au moins 3 fois.

Tableau 1 : Composition chimique de la fraction active 2 (BpF₂) des feuilles de *Bidens pilosa* L.

Groupes chimiques	Fraction active (BpF ₂)
Alcaloïdes	-
Flavonoïdes	+
Polyphénols	+
Quinones	-
Tanins catéchiqes	+
Tanins galliques	-
Saponosides	-
Terpènes + Stérols	-

NB: - le signe (+) signifie que la réaction est positive
- le signe (-) signifie que la réaction est négative

3.2. Effets antihypertenseurs de la fraction BpF₂

La figure 1A est un enregistrement type de l'effet antihypertenseur de BpF₂ sur la pression artérielle de lapin. Les doses croissantes de BpF₂, comprises entre 5 et 25 mg/kg de poids corporel (P.C.), diminuent fortement l'hypertension induite par l'adrénaline (ADR) dosé à 5.10⁻³mg/kg de P.C. Les résultats obtenus ont permis de construire la courbe exprimant la diminution de l'hypertension induite par l'adrénaline, en fonction de la dose de BpF₂ (Fig. 1B).

La valeur de la pression artérielle normale moyenne dans cette série d'expérimentations est de 99,33 ± 1,45 mm Hg. L'adrénaline, administrée à la dose de 5.10⁻³ mg/kg de P.C. induit une augmentation d'une valeur de 78,09 ± 4,15 mm Hg de la pression artérielle normale. L'injection de doses croissantes de BpF₂, allant de 5 à 25 mg/kg de P.C., diminue l'hypertension créée par l'adrénaline dosé à 5.10⁻³ mg/kg, de 19,52 ± 3,20% à 97,18 ± 1,61%.

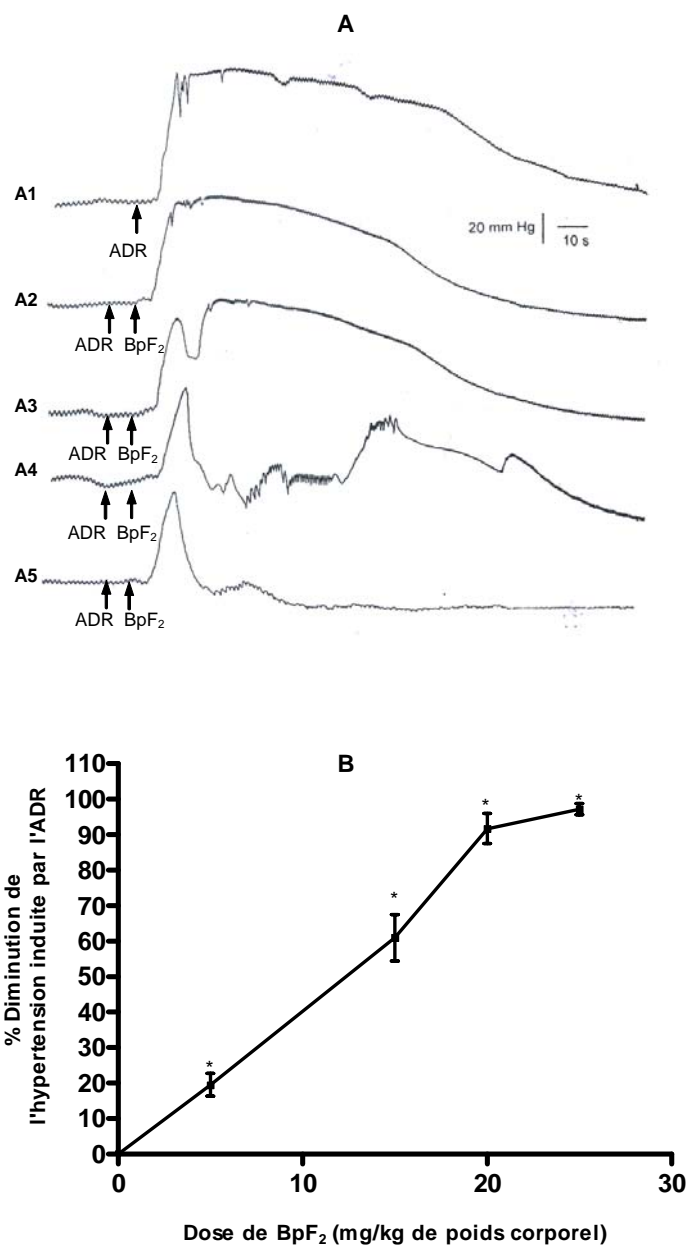


Figure 1 : Effet antihypertenseur de BpF₂ sur la pression artérielle de lapin.

A: Effet de BpF₂ sur l'hypertension induite par l'adrénaline en fonction de la dose.

A1: Effet de l'adrénaline (ADR) à $5 \cdot 10^{-3}$ mg/kg P.C.. A2 à A5: Effet d'ADR à $5 \cdot 10^{-3}$ suivi de l'effet de BpF₂ à 5 (A2), 15 (A3), 20 (A4) et 25 (A5) mg/kg P.C.

Les flèches indiquent le moment d'injection des différentes substances

B: Diminution de l'hypertension induite par l'adrénaline en fonction de la dose de BpF₂

* $P < 0,05$: Différence significative comparée au pourcentage de réduction de l'adrénaline où la concentration de BpF₂ est nulle. $n=3$.

3.3. Etude comparée des effets doses réponses de la fraction BpF₂ et de l'ACh

Les figures 2A et C montrent un enregistrement type de l'hypotension dose dépendante induite par BpF₂ et l'acétylcholine chez le lapin.

BpF₂ entre 1 et 25 mg/kg de P.C. et l'ACh entre 5.10^{-7} et 5.10^{-4} mg/kg de P.C provoquent des hypotensions doses dépendantes réversibles.

BpF₂ provoque des chutes de la pression artérielle variant entre $8,99 \pm 2,93\%$ et $45,69 \pm 0,27\%$ tandis que l'ACh induit des hypotensions comprises entre $18,53 \pm 2,05\%$ et $37,26 \pm 1,35\%$ par rapport à la pression artérielle normale du lapin. Les courbes des figures 2B et D ont permis de déterminer les doses efficaces 50% (DE₅₀) de BpF₂ et de l'ACh qui sont respectivement de 4,10 mg/kg et $7,56.10^{-6}$ mg/kg de P.C.

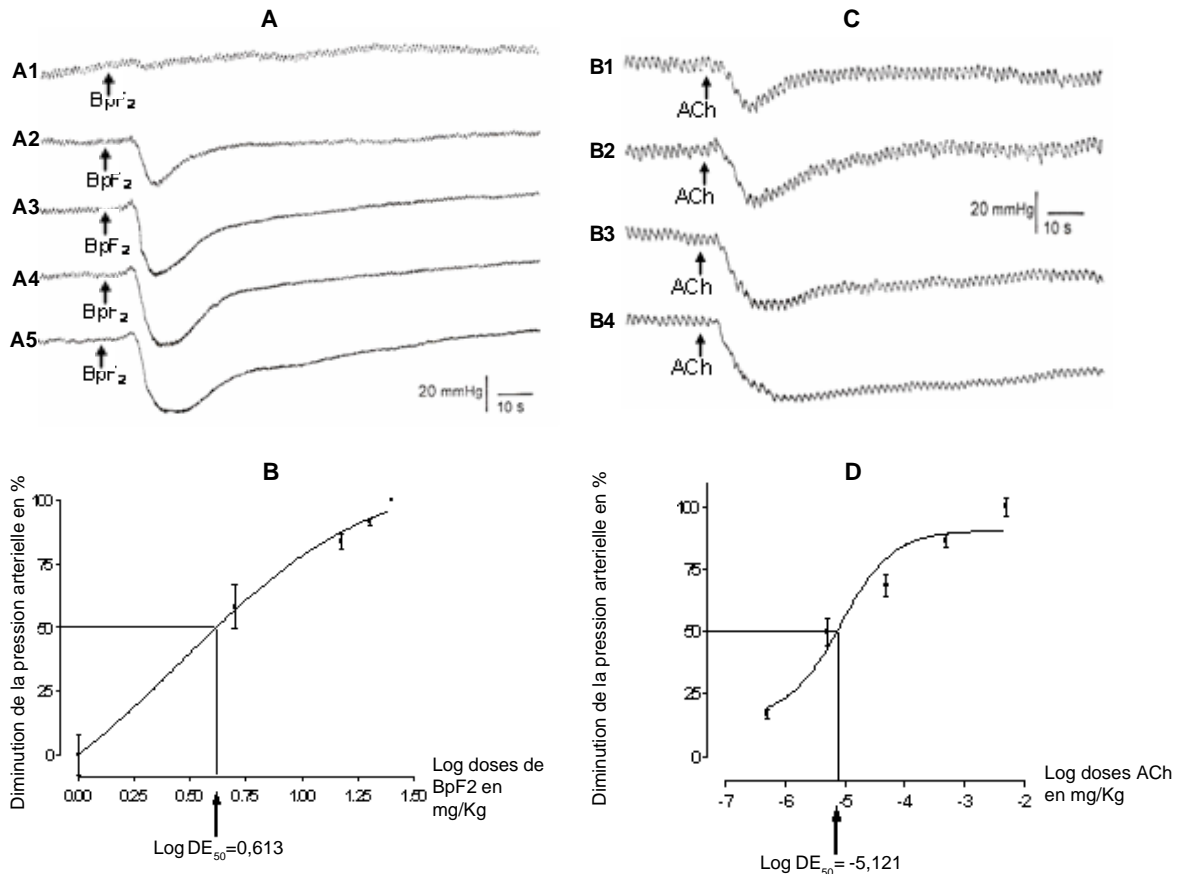


Figure 2: Effets doses réponses de BpF₂ et de l'acétylcholine sur la pression artérielle de lapin.

A: Effet dose réponse de BpF₂

A1 à A5: Effet de BpF₂ à 1(A1), 5(A2), 15(A3), 20(A4) et 25(A5) mg/kg P.C.
Les flèches indiquent le moment d'injection de BpF₂.

B: Diminution de la pression artérielle en fonction de la dose de BpF₂

La dose efficace 50% (DE₅₀) est 4,10 mg/kg P.C.

*P<0,05 : Différence significative. n=4.

C: Effet dose réponse de l'ACh.

C1 à C4: Effet de l'ACh à 5.10^{-7} (C1), 5.10^{-6} (C2), 5.10^{-5} (C3) et 5.10^{-4} (C4) mg/kg P.C.

Les flèches indiquent le moment d'injection de l'ACh.

D: Diminution de la pression artérielle en fonction de la dose de l'ACh.

La dose efficace 50% (DE₅₀) est de $7,56.10^{-6}$ mg/kg P.C.

*P<0,05 : Différence significative n=4.

3.4. Etude comparée de l'antagonisme atropinique contre la fraction BpF₂ et l'ACh

3.4.1. Effets de l'ACh en présence d'ATR

En présence de concentrations croissantes d'atropine dosée entre $5 \cdot 10^{-7}$ et $5 \cdot 10^{-3}$ mg/kg de P.C., l'hypotension induite par l'ACh à $5 \cdot 10^{-4}$ mg/kg de P.C. est progressivement supprimée (Fig. 3A). Elle s'annule complètement en présence

d'atropine dosée à $5 \cdot 10^{-3}$ mg/kg de P.C.

En effet, l'efficacité de l'hypotension produite par l'ACh à $5 \cdot 10^{-4}$ mg/kg de P.C., qui est de $40,53 \pm 1,56\%$ en absence d'ATR, est réduite à $34,9 \pm 2,80\%$ en présence d'ATR $5 \cdot 10^{-7}$ mg/kg de P.C., à $24,31 \pm 3,08\%$ après l'ATR $5 \cdot 10^{-5}$ mg/kg de P.C., pour s'annuler avec l'ATR $5 \cdot 10^{-3}$ mg/kg de P.C. (Fig. 3B). Ainsi l'ACh à $5 \cdot 10^{-4}$ mg/kg de P.C. est inhibée à 100% par l'ATR à $5 \cdot 10^{-3}$ mg/kg de P.C.

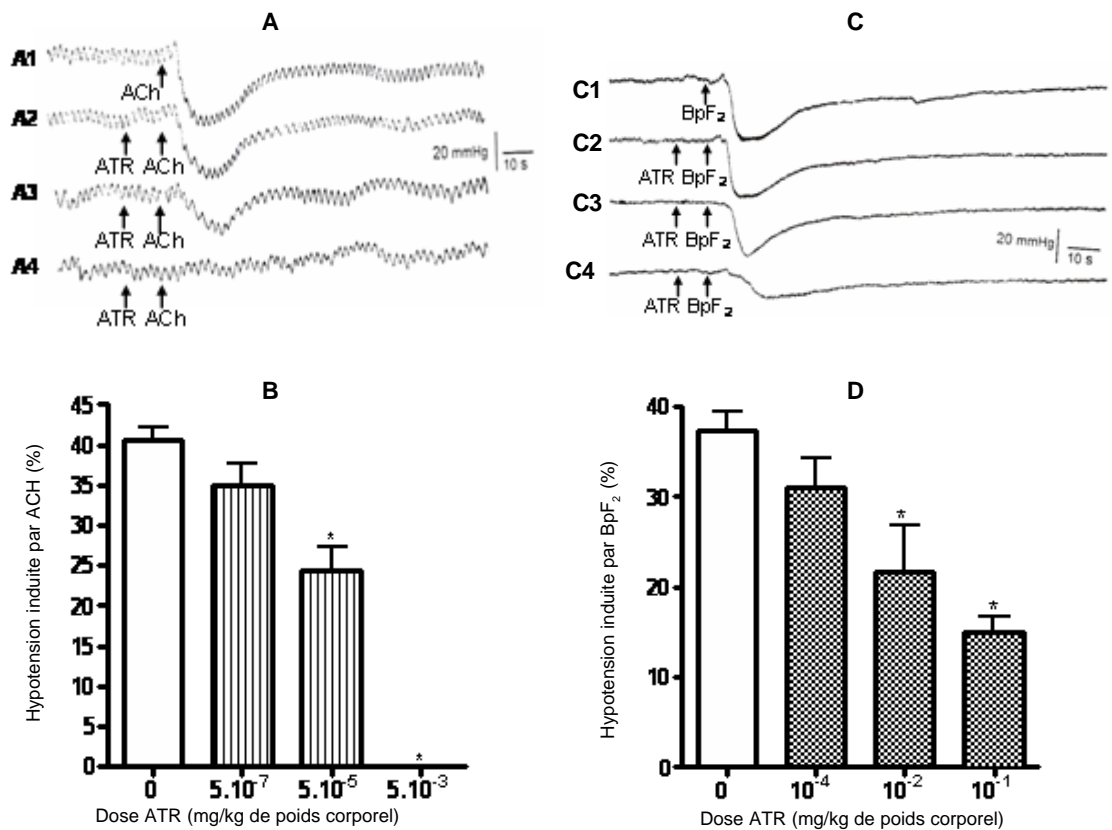


Figure 3 : Effets de l'ACh et de BpF₂ en présence d'ATR sur la pression artérielle

A: Effet de l'ACh en présence d'ATR.

A1: Effet de l'ACh à $5 \cdot 10^{-4}$ mg/kg P.C.; A2 à A4: Effets de l'ATR $5 \cdot 10^{-7}$ (A2); ATR $5 \cdot 10^{-5}$ (A3) et ATR $5 \cdot 10^{-3}$ (A4) mg/kg P.C. suivis de l'effet de l'ACh à $5 \cdot 10^{-4}$ mg/kg P.C.

Les flèches indiquent le moment d'injection des différentes substances.

B: Evaluation de l'hypotension induite par l'ACh en présence d'ATR.

Différence significative * $P < 0,05$ comparée au placebo; $n=3$.

C: Effet de BpF₂ en présence d'ATR.

C1: Effet de BpF₂ à 15 mg/kg; C2 à C4: Effet de l'ATR 10^{-4} (C2); ATR 10^{-2} (C3); ATR 10^{-1} (C4) mg/kg P.C. suivis de l'effet de BpF₂ à 15 mg/kg de P.C.

Les flèches indiquent le moment d'injection des différentes substances.

D: Evaluation de l'hypotension induite par BpF₂ en présence d'ATR.

Différence significative * $P < 0,05$ comparée au placebo; $n=3$.

3.4.2. Effets de BpF₂ en présence d'Atropine (ATR)

Comme l'hypotension induite par l'ACh, celle provoquée par BpF₂ à 15 mg/kg de P.C. chez le lapin est progressivement inhibée par l'ATR dosée entre 10⁻⁴ et 10⁻² mg/kg de P.C. (Fig. 3C). Cependant, pour une dose d'ATR aussi élevée que 10⁻¹ mg/kg de P.C., cette inhibition est toujours partielle.

L'hypotension induite par BpF₂ à 15 mg/kg P.C. qui était de 37,32 ± 1,95% en absence d'ATR, diminue à 30,9 ± 3,24%, 21,55 ± 5,15% et 14,91 ± 1,74% en présence des doses respectives d'ATR de 10⁻⁴, 10⁻² et 10⁻¹ mg/kg de P.C. (Fig. 3D). L'atropine à la dose de 10⁻¹ mg/kg de P.C. provoque ainsi un taux d'inhibition maximal de 60,28 ± 2,65% de l'hypotension induite par BpF₂.

4. Discussion

L'isolation chromatographique de la fraction active 2 de l'extrait de feuilles de *Bidens pilosa* L. a révélé la présence de flavonoïdes, de polyphénols et de tanins catéchiques.

L'étude des effets pharmacologiques de la même fraction montre que BpF₂ a un potentiel antihypertenseur, comme les extraits de *Stephania tetrandra* (Yu *et al.*, 2004), de *Berberis vulgaris* (Fatehi-Hassanabab *et al.*, 2005) et de BGG,F5, une fraction chromatographique de *Morinda Morindoïdes* (N'Guessan *et al.*, 2004). Ces mêmes études indiquent que BpF₂, de 1 à 25 mg/kg de P.C., a des effets hypotenseurs dose dépendante chez le lapin, semblables à ceux des extraits de nombreuses plantes médicinales telles que *Mareya micrantha* (Abo, 1996; Abo *et al.*, 2000), *Daucus carota* (Gilani *et al.*, 2000), *Swartzia madagascariensis* (Soro *et al.*, 2004), *Heliotropium indicum* (Traoré *et al.*, 2002) et *Gossypium barbadense* (Hasrat *et al.*, 2004). Ces résultats sont conformes aux études de Dimo *et al.* (1999) qui ont montré que l'extrait méthanolique des feuilles de *Bidens pilosa* L. induisait un effet hypotenseur qui est plus significatif chez les rats spontanément hypertendus, que chez les rats hypertendus par surcharge de sel et les rats normotendus.

Ces effets pharmacologiques de la fraction active de *Bidens pilosa* L. ressemblent à ceux bien connus de l'acétylcholine sur la pression

artérielle (Bolton, 1981). En conséquence, ces effets supposent la présence de substances cholinomimétiques dans cette fraction.

Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons entrepris l'étude comparée des antagonismes ATR-BpF₂ et ATR-ACh. Les résultats obtenus montrent que les effets hypotenseurs de l'ACh sont totalement inhibés par l'ATR, contrairement aux effets de BpF₂ qui ne sont que partiellement inhibés par l'ATR. En conséquence, cette étude suggère l'existence de substances cholinomimétiques de type muscarinique dans la fraction active de l'extrait de feuilles de *Bidens pilosa* L. Ces substances pourraient agir selon le même mécanisme que l'acétylcholine. En effet, l'injection intraveineuse d'acétylcholine chez l'homme ou chez l'animal entraîne une chute immédiate et fugace de la pression artérielle provenant du ralentissement cardiaque et de la vasodilatation (Supple & Powell, 1981; Abo, 1996; N'Guessan *et al.*, 2004). Cette injection provoque une bradycardie par effet sinusal, une diminution de la conduction auriculo-ventriculaire et une diminution de la force de contraction ventriculaire. Le ralentissement cardiaque s'explique, en partie, par l'hyperpolarisation cellulaire consécutive à l'ouverture des canaux potassiques qui sont directement liés aux protéines G (Zakharov & Harvey, 1997; Kurachi & Ishii, 2003; Fleischmann *et al.*, 2004). La diminution de la force de contraction provient d'une diminution de l'entrée du Ca²⁺ dans la cellule, probablement par inhibition de l'adénylcyclase (Hartzell, 1988; Hanf *et al.*, 1993; Jurevièius & Fischmeister, 1996; Hanf *et al.*, 1998). L'injection d'acétylcholine entraîne une vasodilatation artérielle consécutive à la libération par l'endothélium d'une substance vasodilatatrice, le monoxyde d'azote (NO) ou d'un facteur hyperpolarisant (EDHF). (Furchgott & Zawadzki, 1980; Damas, 2002; Stuart-Smith, 2002; Takano *et al.*, 2004; Jiang *et al.*, 2005). Les effets vasodilatateurs de l'extrait aqueux de *Bidens pilosa* L. ont été montrés sur l'aorte isolé de rat par Dimo *et al.* (1998).

L'inhibition partielle des effets de la fraction active de l'extrait aqueux de feuilles de *Bidens pilosa* L. par l'ATR suggère la présence de principe actifs hypotenseurs non cholinomimétiques à côté des substances cholinomimétiques de type muscarinique dans cette fraction. Ces substances pourraient être des anticalciques.

Comme l'extrait aqueux de *Swartzia madagascariensis* (Soro et al., 2004), de *Mareya micrantha* (Abo et al., 2000) et la fraction chromatographique BGG₅F₅ de *Morinda morindoïdes* (N'Guessan et al., 2004), la fraction active de *Bidens pilosa* L. (BpF₂) pourrait contenir deux facteurs antihypertenseurs:

- les facteurs cholinomimétiques de type muscarinique dont les effets sont inhibés par l'atropine,
- les facteurs actifs non cholinomimétiques.

En effet, la comparaison des courbes doses réponses (Fig. 2B et 2D) confirme que l'hypotension induite par la fraction BpF₂ ne dépend pas de la seule ACh. En outre, la comparaison des figures 2A et 2C montre que la fraction BpF₂ semble induire une hypotension et une bradycardie plus durables (Fig. 2A) que l'ACh (Fig. 2C). Enfin, l'hypertension artérielle induite par l'adrénaline (ADR) est bloquée par la fraction BpF₂ (Fig. 1A), suggérant une interférence de cette fraction avec certaines classes de récepteurs adrénérgiques. Le pic résiduel d'hypertension qui n'est pas supprimé par la fraction BpF₂, semble être lié à l'action des récepteurs Bêta 1 (â1) au niveau du cœur, dont l'activation entraîne la contraction des fibres myocardiques. Par contre, BpF₂ semble inhiber une 2^{ème} catégorie de récepteurs adrénérgiques, en particulier les récepteurs alpha 1 (â1) localisés au niveau des vaisseaux et dont la stimulation provoque une réelle vasoconstriction. En conséquence, les substances hypotensives non cholinomimétiques de la fraction BpF₂ peuvent se comporter comme des bloqueurs alpha, induisant ainsi une hypotension durable par relaxation des vaisseaux périphériques.

5. Conclusion

Les études pharmacologiques de la fraction active de *Bidens pilosa* sur la pression artérielle de lapin ont révélé que cette fraction a un potentiel antihypertenseur qui se manifeste par la présence de deux types de principes actifs dans cette fraction BpF₂:

- les principes actifs cholinomimétiques de type muscarinique,
- les principes actifs non cholinomimétiques dont la nature reste à déterminer.

Les principes actifs cholinomimétiques de type muscarinique pourraient ainsi justifier en partie l'utilisation traditionnelle de cette plante contre l'hypertension artérielle.

Références citées

- Abo K.J-C., 1996. Effets pharmacologiques d'un extrait aqueux de *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae) sur l'activité cardiovasculaire de mammifères. Thèse. Université de Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire. 145 pp.
- Abo K.J-C., Aka K.J., Ehilé E.E., Guedé Guina F., & Traoré F., 2000. Effets cholinergiques d'un extrait aqueux brut de *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae) sur la pression artérielle et l'activité cardiaque. *A.B.M.* **5**: 11-20.
- Adjanooun E.S., & Aké Assi L., 1979. *Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire (Tome I)*. Abidjan, Côte d'Ivoire: Centre National de Floristique de l'Université Nationale de Côte d'Ivoire. 356 pp.
- Bolton T.B., 1981. Action of acetylcholine on smooth muscle membrane. In: Bülbringe, Nading A.F., Jones A.W. & Tomita T., Eds. *Smooth muscle*. London, GB: Edward Arnold. pp. 199-217.
- Boullard B., 2001. *Dictionnaire: Plantes médicinales du monde. Réalités et croyances*. Paris, France: Editions ESTEM. 636 pp.
- Bouquet A., & Debray M., 1974. *Plantes médicinales de Côte d'Ivoire*. Paris, France: Travaux et documents de l'O.R.S.T.O.M. n°32. 231 pp.
- Brandao M.G., Krettli A.U., Soares L.S., Nery G., & Marinuzzih C., 1997. Antimalarial activity of extracts and fractions from *Bidens pilosa* and other *Bidens* species (Asteraceae) correlated with the presence of acetylene and flavonoid compounds. *J. Ethnopharmacol.* **57**: 131-138.
- Damas J., 2002. L'acétylcholine endothéliale. *Rev. Med. Liege* **57**: 104-106.
- Dimo T., Rakotonirina S., Kamgang R., Tan P.V., Kamanyi A., & Bopelet M., 1998. Effects of leaf aqueous extract of *Bidens pilosa* (Asteraceae) on KCl- and norepinephrine-induced contractions of rat aorta. *J. Ethnopharmacol.* **60**: 179-182.
- Dimo T., Nguélefack T.B., Kamtchouing P., Dongo E., Rakotonirina A., & Rakotonirina S.V., 1999. Hypotensive effects of a methanol extract of *Bidens pilosa* L. on hypertensive rats. *CR. Acad. Sci. III.* **322**: 323-329.

- Fatehi-Hassanabad Z., Jafarzadeh M., Tarhini A., & Fatehi M., 2005. The antihypertensive and vasodilatory effects of aqueous extract from *Berberis vulgaris* fruit on hypertensive rats. *Phytother. Res.* **19**: 222-225
- Feischmann B.K., Duan Y., Fan Y., Schoneberg T., Ehlich A., Lenka N., Viatchenko-Karpinski S., Pott L., Hescheler J., & Fakler B., 2004. Differential subunit composition of G protein-activated inward-rectifier potassium channel during cardiac development. *J. Clin. Invest.* **114**: 994-1001.
- Furchgott R.F., & Zawadzki J.V., 1980. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* **288**: 373-376.
- Geissberger P., & Sequin U., 1991. Constituent of *Bidens pilosa* L. Do the components found so far explain the use of this plant in traditional medicine? *Acta. Trop.* **48**: 251-261.
- Gilani A. H., Shaheen E., Saeed S.A., Bibi S., Irfanullah, Sadiq M., & Faizi S., 2000. Hypotensive action of coumarin glycosides from *Daucus carota*. *Phytomedicine* **7**: 423-426
- Han X., Kubota I., Feron O., Opel D.J., Arstall M.A., Zhao Y.-Y., Huang P., Fishman M.C., Michel T., & Kelly R.A., 1998. Muscarinic cholinergic regulation of cardiac myocyte I_{Ca}-L is absent in mice with targeted disruption of endothelial nitric oxide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **95**: 6510-6515.
- Hanf R., Li Y., Szabo G., & Fischmeister R., 1993. Agonist-independent effects of muscarinic antagonists on Ca²⁺ and K⁺ currents in frog and rat cardiac cells. *J. Physiol.* **461**: 743-765.
- Hartzell H.C., 1988. Regulation of cardiac ion channels by catecholamines, acetylcholine and second messenger systems. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **52**: 165-247.
- Hasrat J.A., Pieters L., & Vlietinck A.J., 2004. Medicinal plants in Suriname: hypotensive effect of *Gossypium barbadense*. *J. Pharm. Pharmacol.* **56**: 381-387.
- Jiang Z-G., Nuttall A.L., Zhao H., Dai C-F., Guan B-C., Si J-Q., & Yang Y-Q., 2005. Electrical coupling and release of K⁺ from endothelial cells co-mediate ACh-induced smooth muscle hyperpolarization in guinea-pig inner ear artery. *J. Physiol.* **564**: 475-487.
- Jurevièius J., & Fischmeister R., 1996. Acetylcholine inhibits Ca²⁺ current by acting exclusively at a site proximal to adenylyl cyclase in frog cardiac myocytes. *J. Physiol.* **491**: 669-675.
- Kurachi Y., & Ishii M., 2003. Cell signal control of the G protein-gated potassium channel and its subcellular localization. *J. Physiol.* **554**: 285-294.
- N'Guessan J.D., Trébissou N.D., Bahi C., Zirihi G.N., & Guedé-Guina F., 2004. Effets de BGG,F5 (fraction chromatographique de *Morinda morindoïdes*) sur la pression artérielle carotidienne de lapin. *Rev. Méd. Pharm. Afr.* **18**: 35-44.
- Soro Y.T., Traoré F., Zahoui S.O., & Koné P.P., 2004. Effets pharmacologiques de *Swartzia madagacariensis* (Ceasalpiniaceae) sur le système cardiovasculaire de mammifères. *Rev. Méd. Pharm. Afr.* **18**: 59-70.
- Stuart-Smith K., 2002. Demystified...Nitric oxide. *J. Clin. Pathol.* **55**: 360-366.
- Supple E.W., & Powell W.S., 1981. Effect of acetylcholine on vascular capacity in the dog. *J. Clin. Invest.* **68**: 64-74.
- Takano H., Dora K.A., Spitaler M.M., & Garland C.J., 2004. Spreading dilatation in rat mesenteric arteries associated with calcium-independent endothelial cell hyperpolarization. *J. Physiol.* **556**: 887-903.
- Traoré F., Zahoui O.S., Néné-Bi S.A., & Koné P.P., 2002. Effets pharmacologiques de *Heliotropium indicum* (Boraginaceae) sur la respiration et le système cardiovasculaire de mammifères. *A.B.M.* **7**: 39-49.
- Yu X.C., Wu S., Chen C.F., Pang K.T., & Wong T.M., 2004. Antihypertensive and anti-arrhythmic effects of an extract of *Radix stephaniae* Tetrandae in the rat. *J. Pharm. Pharmacol.* **56**: 115-22.
- Zakharov S.I., & Harvey R.D., 1997. Rebound stimulation of cAMP-regulated Cl⁻ current by acetylcholine in guinea-pig ventricular myocytes. *J. Physiol.* **499**: 105-120.