

ÉLÉMENTS DE MONOGRAPHIE SUR *NAUCLEA LATIFOLIA* SM. (RUBIACEAE) : CHIMIE, ACTIVITÉS BIOLOGIQUES, TOXICITÉ

Par

* KABORE, I.Z. ; GUISSOU, I.P. ; SOURABIE, S. et GNANGAO, G.

* Institut de Recherches en Sciences de la Santé (IRSS/CNRST)
01 BP. 7192 OUAGADOUGOU - BURKINA FASO

RESUME

Les auteurs rapportent les résultats d'une étude réalisée sur *Nauclea latifolia* Sm. (Rubiaceae), une plante médicinale de la tradithérapeutique infantile au Burkina Faso.

Ce travail, effectué dans un cadre pluridisciplinaire au niveau de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS/CNRST) a porté sur les aspects microbiologique, pharmacologique et toxicologique de la plante.

Les résultats issus de l'étude phytochimique ont révélé la présence de groupes de substances chimiques potentiellement actives : alcaloïdes (formes libres et hétérosidiques), tannins (polyphénols), stérols, triterpènes, etc.

La présence de ces groupes de principes chimiques au sein du végétal pourrait expliquer les diverses activités biologiques de *Nauclea latifolia* Sm. observées à plusieurs niveaux :

- *au plan microbiologique* par l'existence d'une action antibactérienne des extraits d'écorces de racines de la drogue vis-à-vis de germes microbiens pathogènes testés in vitro ;
- *au plan pharmacologique* par la mise en évidence d'une interaction des principes chimiques de *Nauclea latifolia* Sm. avec des neuromédiateurs (acétylcholine, sérotonine, nicotine) impliqués dans le fonctionnement du tractus digestif ;
- *au plan toxicologique* par l'existence d'une toxicité générale aiguë de divers extraits de racines de la plante testés sur des souris albinos.

Mots clés :

Nauclea latifolia Sm. (Rubiaceae), tradithérapeutique, activité antibactérienne, pharmacologique, toxicologique, DL50.

ABSTRACT

The authors present the results about *Nauclea latifolia* Sm. (Rubiaceae), a medicinal plant which is particularly used in the infantile traditherapeutic medicine in Burkina Faso.

The aim of this work was to determine the antimicrobial, pharmacological and toxicological properties of the roots barks extracts of the plant. The results showed that hydro-alcoholic and alkaloïdic extracts of the roots barks were capable to inhibit the growth of pathogenic germs as *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*.

Toxico-pharmacological results permitted equally to determine the lethal dose 50 (LD50) of roots extracts from *Nauclea latifolia* Sm.. LD50 from hydro-alcoholic of bark extracts : 1600 mg/kg and LD50 of the alkaloïdic extracts (hydrochlorates) was 250 mg/kg ; these roots extracts have been tested in mouses.

KEY WORDS :

Nauclea latifolia Sm., traditherapeutic, LD50, antimicrobial, pharmacological.

INTRODUCTION

Le recours aux recettes de la médecine et de la pharmacopée traditionnelles connaît un regain d'intérêt à l'heure actuelle depuis la dévaluation du francs CFA ; cela a eu pour conséquence un renchérissement des biens de consommation courante en général et en particulier une accessibilité de plus en plus difficile des médicaments et autres produits de soins de santé pour les bourses démunies.

Au Burkina Faso, il existe une plante médicinale, *Nauclea latifolia* Sm. dont les écorces de racines sont très prisées en tradithérapeutique pour le traitement des pathologies gastro-intestinales infantiles, des douleurs abdominales (coliques), de certaines affections parasitaires et hépatobiliaires (KABORE, 1986 ; KERHARO, 1974 ; GUINKO, 1989 ; SOURABIE, 1990).

Suite à des enquêtes ethnobotaniques et ethnopharmacognosiques menées auprès de tradipraticiens de renommée, nous avons entrepris au sein de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS/CNRST) une série d'études visant à mettre en évidence un certain nombre de propriétés intrinsèques de la plante qui justifient son emploi en médecine traditionnelle africaine.

Cette étude, fruit d'un travail pluridisciplinaire, est une synthèse de l'ensemble des résultats obtenus sur *Nauclea latifolia* Sm. (Rubiaceae), au triple plan microbiologique, pharmacologique et toxicologique.

OBJECTIFS

Trois pôles d'intérêt figuraient au nombre des objectifs à savoir :

- rechercher les supports pharmacodynamiques explicatifs de l'activité de la plante dans les manifestations gastro-intestinales ;
- évaluer l'action antibactérienne de la plante vis-à-vis des souches de germes pathogènes au moyen de tests in vitro ;
- déterminer la toxicité de la plante par une étude de la dose létale 50 (DL50) de différents extraits des écorces de racines de la plante sur l'animal (souris albinos), ceci dans le but de fixer une marge de sécurité d'emploi de la drogue.

MATERIEL ET TECHNIQUES D'ETUDE

1. Matériel

- La matière première végétale

Elle est constituée par les écorces de racines de *Nauclea latifolia* Sm. ; celles-ci après un séchage à la température ambiante sont réduites en poudre fine, de couleur jaune et de saveur amère. Cette poudre est alors épuisée par des solvants de polarité croissante en vue d'obtenir différents types d'extraits indispensables aux divers tests à réaliser, les extraits utilisés sont les suivants :

- l'extrait aqueux lyophilisé (macération, décoction)
- l'extrait sec chloroformique (organique)
- l'extrait hydro-alcoolique de macération 7:3 v/v (lyophilisat)
- l'extrait de totum alcaloïdique rendu sous forme de chlorhydrates d'alcaloïdes de solubilité plus aisée.

- Le matériel biologique comprend :

- l'intestin isolé (Iléon) prélevé chez un cobaye d'environ 300g et maintenu en vie dans un liquide nutritif (tyrode) ;
- des souris albinos (race NMRI) provenant de l'animalerie de l'Institut, d'un poids moyen de 34g. Ces animaux sont stabulés dans les conditions de température (25°C) et d'humidité relative (60%) du laboratoire ;
- de germes microbiens pathogènes, isolés puis identifiés après une coproculture de selles d'enfants malades au niveau du laboratoire de Biologie du Centre Hospitalier National Yalgado OUEDRAOGO (CHN-YO) de Ouagadougou ;

- des produits de référence (agonistes) :

. acétylcholine	:	20 mcg/l
. nicotine	:	02 mgg/l
. sérotonine	:	30 mcg/l
. prostaglandines E2	:	35 mcg/l

2. Technique d'étude

2.1. Tests pharmacologiques : étude des contractions isotoniques de l'Iléon de Cobaye

Les contractions sont réalisées par l'utilisation d'agonistes de référence en absence puis en présence des extraits de plante (macéré, décocté lyophilisés) selon les méthodes classiques (COLOT, M. 1972). Les contractions obtenues en absence d'extraits sont notées cent pour cent (100%) ; elles font l'objet d'une comparaison en vue de rechercher un effet synergique ou antagonique des extraits à différentes concentrations à l'égard des produits de référence.

2.2. Tests microbiologiques : détermination du pouvoir antibactérien des extraits d'écorces de racines de *Nauclea latifolia* Sm.

Un test préliminaire de non toxicité du solvant d'extraction (éthanol/eau 7:3 v/v) sur les germes à tester est réalisé suivant un protocole mis au point lors d'une étude précédente (SOURABIE, 1990).

Pour l'essai antimicrobien proprement dit, chaque micro-organisme de l'étude est ensemencé dans un bouillon nutritif (bouillon trypticase soja) pendant 18 à 24 heures en vue d'obtenir une suspension de germe (inoculum) qui sera testé contre les extraits végétaux.

Une quantité fixe de l'inoculum (0,5 ml de suspension) est mise au contact de quantités croissantes (volumes) d'extraits de plante et en présence d'un facteur de croissance ; ceci à travers une série de tubes à essais stérilisés au préalable. L'ensemble est mis à incuber au bout de 18 à 24 heures à 37°C en étuve.

Après 24 heures d'incubation, un repiquage en milieu solide gélosé spécifique du germe étudié est effectué en boîte de Pétri; une nouvelle incubation pendant 18 à 24 heures à 37°C est opérée et à l'issue de celle-ci, l'on procède à la lecture des résultats par rapport à un témoin :

- une présence de colonies microbiennes à la surface de la gélose en boîte de Pétri témoigne de l'absence d'une action antibactérienne ;

- par contre une absence de germes à la surface de la gélose traduit bien un effet antimicrobien c'est-à-dire une action inhibitrice de croissance du micro-organisme testé;

Réalisation d'un antibiogramme :

Des tests d'inhibition sur une souche microbienne (*E. coli* O₁₂₇) ont été réalisés en comparaison avec des antibiotiques de référence utilisés en médecine conventionnelle.

2.3. essais toxicologiques : étude de la toxicité aiguë

L'étude toxicologique est réalisée selon la méthode classique consacrée (TREVAN, 1927) et ses différentes améliorations successives (MILLER et TAINTER, 1944 ; LITCHFIELD et WILCOXON, 1949 ; PRIEUR et coll. 1973 ; DESCOTES, 1985) citées par SOME (1995/96). Les animaux, d'un poids moyen de 34g et âgés d'environ trois mois sont mis à jeûn pendant 24 heures ; ils sont répartis en 4 lots de 8 et un lot témoin de 6 souris chacun. Le produit à administrer (totum alcaloïdique transformé en chlorhydrates et lyophilisat d'extrait hydroalcoolique) est solubilisé dans l'eau physiologique puis administré par voie intra-péritonéale. Les animaux témoins reçoivent quant à eux le solvant sans extrait de plante.

Le test est répété trois fois ; les souris traitées sont observées pendant les deux heures suivantes pour la toxicité immédiate puis pendant une semaine (toxicité retardée) en vue de déterminer le pourcentage de morts par lot. Une courbe représentative de l'évolution de la mortalité en fonction des doses reçues est établie pour l'évaluation graphique (Papier Log-Probit) de la DL50 de chacun des extraits.

L'intervalle de confiance des DL50 est calculé selon WEPIERRE (1981). La DL1 et DL99 sont situées ainsi que leur rapport respectif.

RESULTATS

- **Le screening phytochimique** a mis en évidence plusieurs groupes de substances chimiques dont les principaux sont : les tannins (polyphénols), les alcaloïdes (formes libres et hétérosidiques), les stérols, les triterpènes, les saponines et à un degré moindre les coumarines et les composés réducteurs notamment les glucides.

- **Les essais pharmacologiques** réalisés sur l'intestin isolé de cobaye ont permis les observations suivantes :

- les agonistes de référence testés seuls sur l'Iléon de Cobaye en absence d'extrait de plante ont entraîné une contraction à cent pour cent de l'organe isolé ;

- les extraits aqueux (décocté, macéré), de même que l'extrait sec chloroformique (organique), utilisés à différentes concentrations (50 et 100 mg/l pour les extraits aqueux; 8 et 16 mg/l pour l'extrait organique) ont réduit fortement les contractions obtenues par les différents agonistes.

Il y a donc un effet antagonique manifeste entre neuromédiateurs et extraits d'écorces de racines de *Nauclea latifolia* Sm. autour d'un même organe-cible.

Une comparaison entre les divers extraits montre que l'extrait chloroformique est plus actif que les extraits aqueux (macéré et décocté) car entraînant une forte réduction des contractions (de l'intestin de Cobaye) obtenues par les agonistes.

- Les tests antimicrobiens in vitro :

Le blanc témoin (solvant éthanol/eau 7:3 v/v) est demeuré sans action nocive sur les souches bactériennes choisies.

Par contre ces mêmes souches bactériennes (*E. coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* et *Shigella flexneri*) ont vu leur croissance inhiber en présence du lyophilisat d'extrait hydro-alcoolique et du totum alcaloïdique de macération des écorces de racines de *Nauclea latifolia* Sm.. La sensibilité à l'action inhibitrice de croissance provoquée par les extraits de drogue varie en général d'un germe à l'autre (histogramme 1).

Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI), expression de l'action antibactérienne des extraits d'écorce de racine ont été déterminées ; celles-ci présentent également des variations selon la sensibilité du micro-organisme testé (histogramme 2).

- pour la solution hydro-alcoolique de macération de la poudre d'écorces de racines :

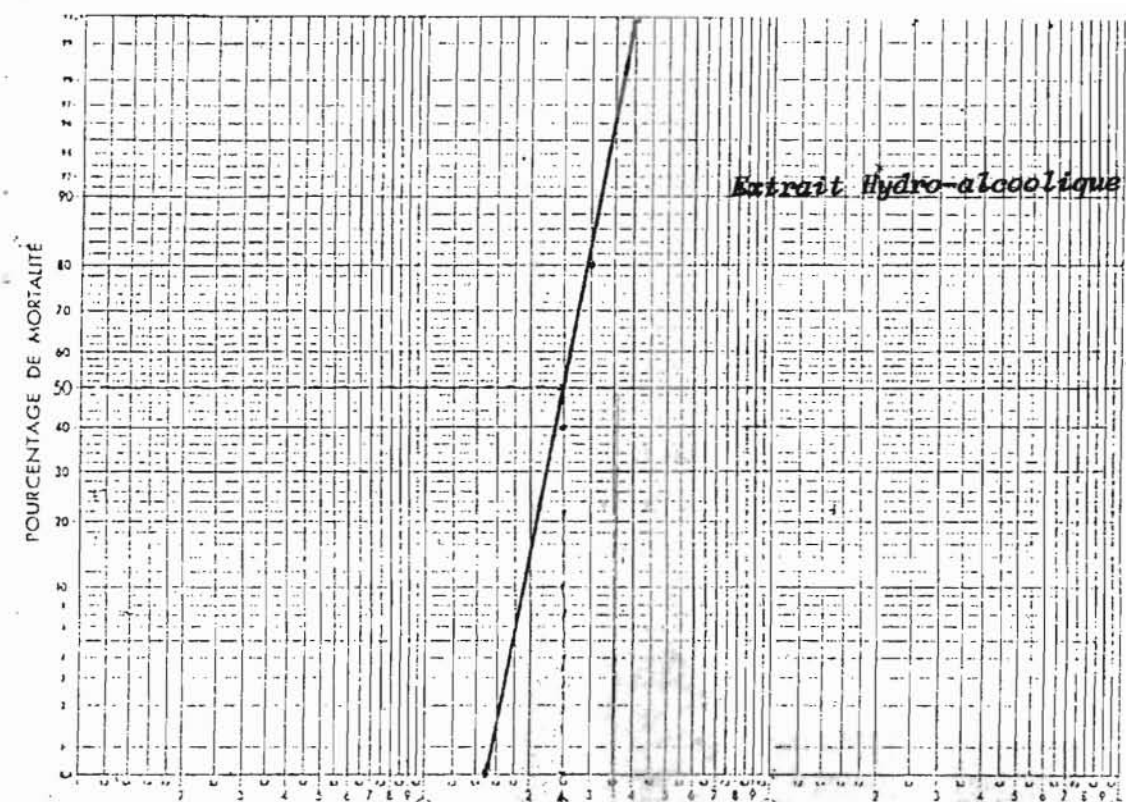
- . *E. coli* et *S. aureus* : CMI = 2,50 mg/ml
- . *Sal. typhi* et *Sh. flexneri* : CMI = 1,25 mg/ml

- pour les alcaloïdes des écorces de racines en solution hydro-alcoolique :

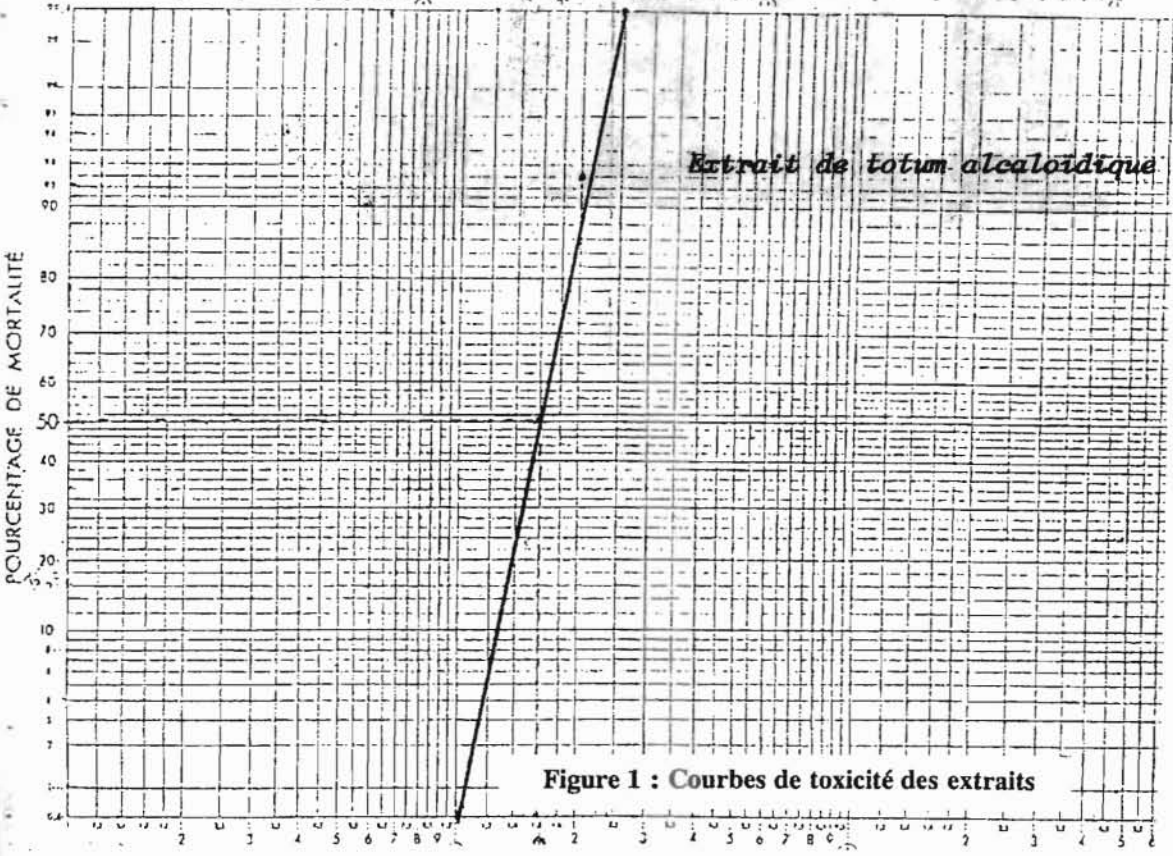
- . *E. coli* et *S. aureus* : CMI = 0,23 mg/ml
- . *Sal. typhi* et *Sh. flexneri* : CMI = 0,11 mg/ml

- Létalité et courbe de toxicité aiguë

Les résultats de la toxicité générale aiguë de l'extrait hydro-alcoolique lyophilisé et de l'extrait de totum alcaloïdique rendu sous forme de chlorhydrates d'alcaloïdes sont représentés sur papier Log-Probabilité pour courbes de toxicité.



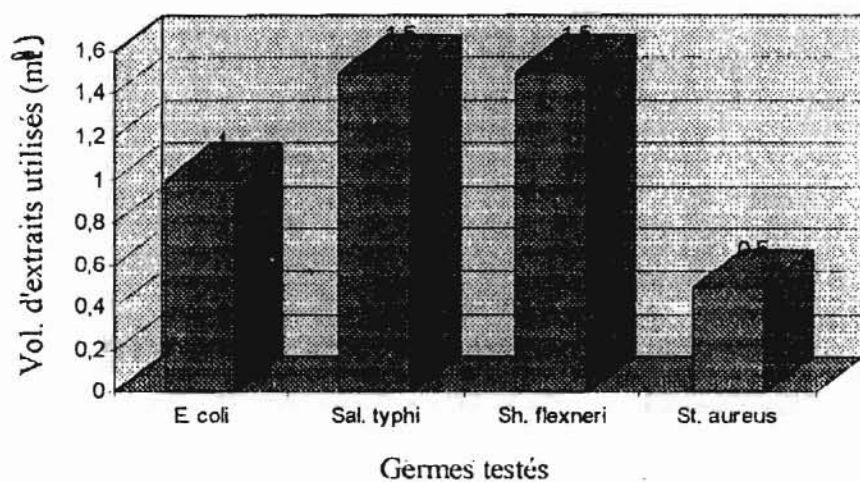
a



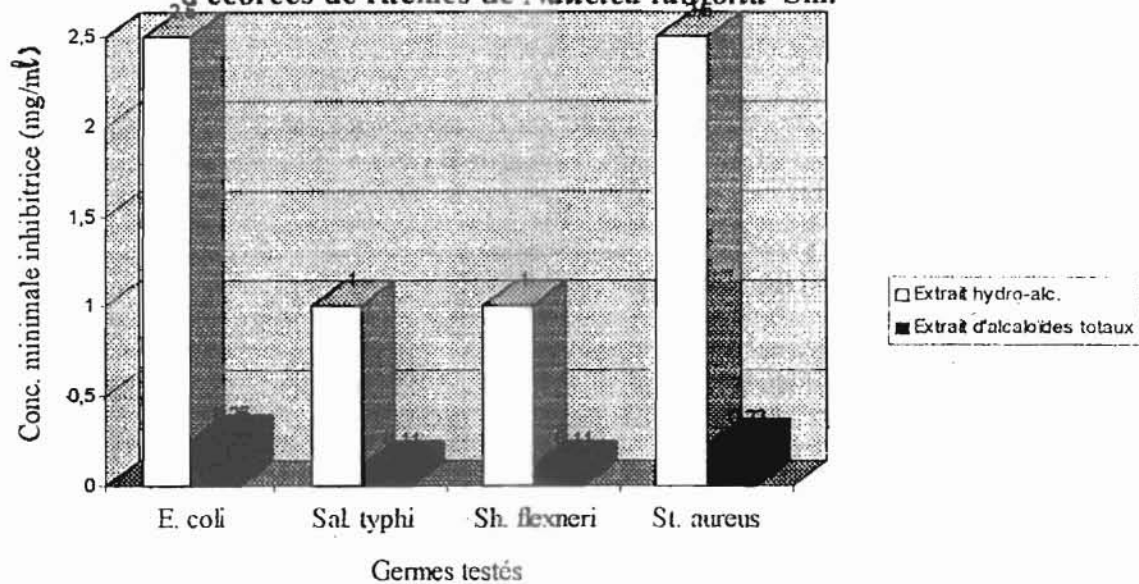
b

Figure 1 : Courbes de toxicité des extraits

Histogramme 1 : action antibact. de l'extrait hydro-alcoolique des écorces de racines de *Nauclea latifolia* Sm. sur les germes testés.



**Histogramme 2 : Conc. minimale inhibitrice (CMI) des extraits
d'écorces de racines de *Nauclea latifolia* Sm.**



Les courbes sont des droites où les valeurs des DL50 sont notées

- extrait hydro-alcoolique lyophilisé :
DL50 = 1600 mg/kg (1280 ; 2000)
- chlorhydrates d'alcoïdes :
DL50 = 250 mg/kg (211 ; 295)

L'activité antibiotique de la drogue *Nauclea latifolia* a été évaluée par rapport à des antibiotiques de référence utilisés en médecine conventionnelle.

A cet effet, deux types d'extraits de la plante ont fait l'objet de tests :

- l'extrait hydro-alcoolique obtenu à partir de la poudre de la drogue végétale ;
- l'extrait alcaloïdique (chlorhydrates d'alcoïdes).

Les résultats de ces tests sont consignés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Diamètres moyens d'inhibition de développement d'E. coli O_{127} sur disques d'antibiotiques et sur disques imprégnés d'extraits d'écorces de racines de *Nauclea latifolia* Sm.

1. DISQUES D'ANTIBIOTIQUES	
Néomycine)	
Kanamycine (Kanamycine)	18,00
Acide pipémidique (Pipram)	15,00
Acide nalidixique (Négram)	12,00
Streptomycine (Streptomycine)	10,00
Colistine (Colimycine)	11,00
Polymyxine (Polymyxine B)	16,00
	9,50
2. DISQUES DE PAPIER WATHMAN IMBIBES D'EXTRAIT HYDROALCOOLIQUE	13,50
3. DISQUES DE PAPIER WATHMAN IMBIBES D'EXTRAIT ALCALOÏDIQUE	15,50

Les chiffres dans la colonne de droite représentent les diamètres moyens d'inhibition en mm.

II. DISCUSSION

Les résultats du criblage chimique montrent la richesse des extraits de racines de *Nauclea latifolia* Sm. en substances chimiques potentiellement actives. La présence de plusieurs groupes de principes chimiques majeurs dans le cas de notre échantillon est également corroborée par d'autres auteurs ayant travaillé sur des espèces sénégalaise (HOTELLIER, 1976, 1977, 1980, 1981), nigériane (DEENI, 1991) de la même plante.

Ces constituants chimiques seraient les véritables supports des propriétés antibactérienne, pharmacologique et toxicologique observées pendant cette étude.

L'antagonisme qui oppose l'action des agonistes (acétylcholine, sérotonine, nicotine, etc...) à celle des différents extraits de racines de la plante au niveau de l'intestin isolé de Cobaye, illustre bien l'existence d'une interaction entre le système cholinergique et lesdits extraits au niveau du fonctionnement du tractus digestif (GUISOU, I.P., 1991, LOMPO, M. 1987).

Cette action antagonique des extraits de *Nauclea latifolia* Sm. illustrée par la forte réduction des contractions obtenues par les produits de référence (agonistes) s'apparente à une action pharmacodynamique de type antispasmodique ; cette propriété pourrait justifier l'usage des racines de cette plante dans le traitement traditionnel des pathologies spasmodiformes, notamment les coliques abdominales.

En outre, nos résultats font état de l'existence d'une différence d'activité entre les divers extraits utilisés ; cette différence d'action s'explique par la nature des principes chimiques présents dans chaque type d'extrait : ainsi les extraits renfermant les groupes chimiques de nature alcaloïdique exerceraient une activité plus prononcée par rapport aux autres extraits notamment hydro-alcooliques où l'on rencontre des substances chimiques à activité plus ou moins mal définie.

Enfin nos résultats sont similaires à ceux déjà observés par d'autres auteurs qui attribuent la primauté des actions biologiques de *Nauclea latifolia* Sm. aux principes alcaloïdiques variés contenus dans le végétal (HOTELLIER, 1980, 1981).

CONCLUSION

Au vu des résultats obtenus au cours de ce travail, nous pouvons affirmer que l'utilisation des écorces de racines de *Nauclea latifolia* Sm. en tradithérapeutique en tant qu'alternative à la médecine moderne se trouve pleinement justifiée.

Aussi l'engouement des populations à s'en procurer peut constituer également un handicap en ce sens qu'elle est menacée de disparition et ceci du fait d'un mauvais prélèvement de l'échantillonnage d'où une mort programmée du végétal à plus ou moins long terme.

La désertification et la déforestation progressives de l'environnement constituent également une autre menace pour la survie de cette plante aux vertus médicinales qui ne sont plus à démontrer.

Aussi dans le cadre d'un développement sanitaire durable, nous préconisons comme solution à titre de sauvegarde de cette essence médicinale, l'utilisation des feuilles à la place des racines comme mentionné dans une de nos études antérieures (SOURABIE, S. 1995).

De même la sélection et la culture des espèces riches en principes actifs peuvent être envisagées à l'instar de la station de culture de plantes médicinales de FARAKO-BA à Bobo-Dioulasso. Il faudrait envisager l'hémisynthèse de substances biologiquement plus actives à partir des constituants majoritaires de la plante.

BIBLIOGRAPHIE

1. **HODGE A. C. et STERNER J.H. (1980):** In Etudes de toxicité : Quelques données fondamentales (A.K. DONE) TEMPO MEDICAL Afrique n°7
2. **COLOT, M. (1972) :** Notions techniques de pharmacologie générale. Masson et Cie, Paris, 137, 42-45
3. **DEENI, Y.Y. and H.S.N. Hussain (1991) :** Screening for antimicrobial activity and for alkaloids of *Nauclea latifolia* Sm. *Journal of Ethnopharmacology*, 35, pp. 95-96.
4. **GUINKO Sita (1989) :** Opothérapie : Quelques usages médicaux du miel dans l'Ouest du Burkina Faso. Bull. Méd. Trad., vol. 3, (2), pp. 11-115
5. **GUISSOU I.P. ; M. SAWADOGO ; KABORE I.Z. . J. FAMAY ; ATTASSI; M. HANOCK (1991) :** Contribution à l'étude pharmacologique de *Nauclea latifolia* Sm. (Rubiaceae) : mise en évidence d'une interaction des principes chimiques avec des neuromédiateurs impliqués dans le fonctionnement du tractus digestif. *Inter-Fac Afrique*, n°18, pp. 16-22
6. **HOTELLIER, F. (1976) :** Naufoline et descarbométhoxy- nauléchine, deux nouveaux alcaloïdes isolés de *Nauclea latifolia* Sm. (Rubiaceae) *C.R., Acad. Sc., Paris*, t.282, (29 Mars 1976), Série C, 595

7. **HOTELLIER, F. ; P. DELAVEAU et J.L. POUSSET (1977)** : Isolement de l'Isovincoside lactame (strictosamide) des écorces de racines de *Nauclea latifolia* Sm. (Rubiaceae)
Plantes médicinales et Phytothérapie, Tome XL, (2), pp. 106-108
8. **HOTELLIER, F. ; P. DELAVEAU et J.L. POUSSET (1980)** : Naucloïdinal et épinaucloïdinal, alcaloïdes de *Nauclea latifolia* Sm. (Rubiaceae)
Phytochemistry, vol. 19, pp. 1884-1885.
9. **HOTELLIER, F. ; P. DELAVEAU et J.L. POUSSET (1981)** : Nauclofoline, nouvel alcaloïde isolé de *Nauclea latifolia* Sm. (Rubiaceae)
C.R., Acad. Sc. Paris, t. 293(2 Nov. 1981), série II. 577.
10. **KABORE, I.Z. ; SAWADOGO, A. (1986)** : Effets toxiques de *Nauclea latifolia* Séminaire de Pédiatrie Africaine : Communication, Ouagadougou, 7-9 Novembre.
11. **KERHARO, J. (1974)** : La pharmacopée sénégalaise traditionnelle
Plantes médicinales et toxiques. Ed. Vigot Frères, Paris, 1963
12. **LITCHFIELD, J.T. ; WILCOXON, F.A. (1949)** : A simplified method for evaluating effet experiments. *J. Pharmacol. Ther. ; 95 ; 113*
13. **LOMPO, M. (1987)** : Contribution à l'étude pharmacologique de *Nauclea latifolia* Sm. (Rubiaceae) Thèse Doc. Pharmacie, n°68, Université de Dakar
14. **N. SOME ; L. SAWADOGO ; M. LOMPO ; J.L. POUSSET I.P. GUISSOU (1995/1996)** : Evaluation de la toxicité générale aiguë d'un extrait aqueux de la poudre de racines de *Tinospora bakis* (A. RICH) MIERS (Ménispermaceae)
Sci. et Tech., vol. XXII(1), Jul.-Déc. 1995/Janv.-Juin 1996, pp. 38-46.
15. **SOURABIE, S. (1990)** : Contribution à l'étude chimique et pharmacologique de *Nauclea latifolia* Sm. et *Holarrhena floribunda* (G. DON) DUR et SCHINZ : plantes de la pharmacopée traditionnelle burkinabè préconisées dans le traitement des gastro-entérites infantiles.
Mémoire de DEA, F.A.S.T., Université de Ouagadougou, Déc. 1990.
16. **SOURABIE, S. ; GUINKO, Sita, KABORE, I.Z. (1995)** : Contribution à l'étude chimique et microbiologique de *Nauclea latifolia* Sm. (Rubiaceae): Possibilité d'utilisation des feuilles comme succédané des racines dans le traitement traditionnel des gastro-entérites.
Revue Méd. Pharm. Afr., vol. 9, n°1, pp. 7-12
17. **WEPIERRE, J. (1981)** : Abregé de pharmacologie générale et moléculaire.
Masson Paris, 203, 169-174