

# Activité anti-inflammatoire des proanthocyanes de *Entada africana*

I. SANOU<sup>1</sup>, G. BIRINGANINE<sup>2</sup>, M. OUÉDRAOGO<sup>1</sup>, I. P. GUISSOU<sup>1</sup>,  
O. G. NACOULMA-OUÉDRAOGO<sup>3</sup>

## Résumé

Dans cet article, nous démontrons que les écorces de tige de *Entada africana* du Burkina Faso contiennent des proanthocyanes pouvant être purifiées par passage sur colonne C-18 puis sur colonne LH-20. Les proanthocyanes ainsi obtenues à la dose de 1 g/kg ont entraîné une diminution de l'œdème des pattes de souris induit par la carragénine de l'ordre de 1,55 % au bout d'une heure et de 21,43 % au bout de trois heures contre 2,70 % puis 22,79 % pour 0,05g/kg d'acide acétyl salicylique. Ainsi, l'utilisation par les populations des tiges ou des écorces de *Entada africana* dans certains processus inflammatoires semble justifiée.

**Mots-clés :** *Entada africana*, proanthocyane, anti-inflammatoire.

## Anti-inflammatory activity of *Entada africana* proanthocyanes

### Abstract

*Entada africana* is a tree widely used in traditional medicine in Burkina Faso. It contains proanthocyanes which can be purified by column chromatography with C-18 then LH-20. These products can reduce carragenin oedema induced on mouse paw. According to our study, this reduction was 1.55 % in one hour and 21.43 % in three hours with 1g/kg versus 2.70 % and 22.79 % with 0.05g/kg of salicylic acid. Thus we think that there is a foundation in the using of some part of *Entada africana* by African peoples against some inflammation process.

**Keywords :** *Entada africana*, proanthocyan, anti-inflammatory.

### Introduction

*Entada africana* (Guill. Et Perr.) est un arbre de la famille des Mimosaceae qui est très largement utilisé dans la pharmacopée traditionnelle en région sahélienne. Des résultats d'enquêtes ethnobotaniques ont permis d'attribuer de nombreuses propriétés à cette plante : anti-inflammatoire, cicatrisant, antitussif, fortifiant, diurétique, fébrifuge, spasmolytique, antalgique, tranquillisant, antihémorroïdaire, antibactérien, antiviral....(ADJANOHOUN *et al.*, 1979 ; KHERARO *et*

<sup>1</sup>Unité de formation et de recherches des sciences de la santé, Université de Ouagadougou, 03 B.P. 7021.

<sup>2</sup>Unité de formation et de recherches des sciences de la vie et de la terre, Université de Ouagadougou, 03 B.P. 7021.

<sup>3</sup>Institut de pharmacie, ULB, Campus Plaine, Bd du Triomphe CP 205-4, Bruxelles 1050.

ADAM, 1974 ; NACOUлма-OUÉDRAOGO, 1996). *E. africana* est largement distribuée dans la moitié Nord du Burkina Faso où elle est retrouvée généralement dans les bas-fonds et le long des cours d'eau.

Les investigations chimiques indiquent au niveau des feuilles et des écorces de tige et de racine, la présence de tanins, de proanthocyanes, de saponosides, de triterpénoïdes, de roténone, de gomme, d'alcaloïdes et d'isoflavones (BEP BIVER-OLIVER, 1986 ; KHERARO et ADAM, 1974 ; NACOUлма-OUÉDRAOGO, 1996). Malheureusement aucune étude appliquée portant sur les constituants purifiés de cette plante n'est encore disponible au Burkina Faso.

Cet article a pour but d'étudier l'activité anti-inflammatoire des proanthocyanes extraits de la poudre d'écorce de *E. africana*.

## Matériel et méthode

### Matériel

Les écorces de tige de *E. africana* (Guill. et Perr.) ont été récoltées en mars 1998 sur un site de peuplement naturel (Gampèla - Burkina Faso). Les échantillons ont été reconnus par le département des plantes médicinales de l'Institut de recherche en sciences de la santé.

Les écorces séchées ont été réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique.

### Méthodes

#### Production des proanthocyanes

L'extraction a été réalisée par macération pendant 6 heures de 20 g de poudre dans 600 ml d'un mélange acétone - méthanol - eau - acide ascorbique (40 : 40 : 20 : 0,1). Après filtration, le surnageant a été réduit au rotavapor pour éliminer les solvants organiques puis dégraissé avec de l'éther de pétrole (3 x 100 ml) avant d'être purifié.

La purification a été faite par chromatographie sur colonne de C-18 (Kieselgel, Merck, Darmstadt) en éluant successivement avec l'eau, le mélange eau- méthanol (85 : 15) puis le mélange méthanol - acide acétique (100 : 0,01) pour donner respectivement les fractions f1, f2 et f3. La fraction f3 contenant les polyphénols (rendement = 60,40 %) a été débarrassée des traces de substances lipophiles par extraction liquide- liquide avec l'éther de pétrole (3 x 10 ml) puis des traces de solvants organiques par réduction au rotavapor à 30 °C avant d'être reprise par un volume équivalent d'éthanol. Le mélange obtenu a été fractionné sur une colonne de LH-20 (Kieselgel, Merck, Darmstadt) en éluant successivement avec un mélange éthanol - eau (1 : 1) jusqu'à la disparition de la coloration rouge due aux anthocyanes (f3a) et avec un mélange acétone - eau (7 : 3) pour donner f3b contenant les proanthocyanes. Cette fraction f3b a été lyophilisée et conservée à 4 °C à l'abri de la lumière pour les tests.

#### Test anti-inflammatoire

L'étude de l'effet anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode de l'œdème par injection de carragénine sous l'aponévrose de la patte postérieure de souris provoquant un œdème de la région métatarsienne. Pour cela, ont été utilisées des souris mâles de 25 à 40 g et une suspension

à 1 % de carragénine dans du NaCl à 0,9 %.

En pratique, trois lots de 10 souris ont été mis à jeun pendant 12 heures :

- le lot témoin reçoit la carragénine ;
- le lot test reçoit la carragénine et une solution de proanthocyane ;
- le lot référence reçoit la carragénine et une solution d'acide acétyl salicylique.

Le jour du test, le volume ( $V_i$ ) de la patte droite de chaque souris a été déterminé à l'aide du pléthysmomètre puis chaque souris du lot test a reçu par voie intra-péritonéale la solution de proanthocyane à tester (1 g dans 10 ml d'eau distillée) à la dose de 1g/kg. Pour les souris du lot de référence, la dose d'acide acétyl-salicylique administrée était de 0,05g/kg. Une heure après, chaque souris a reçu une injection de 0,05 ml de la suspension de carragénine dans le coussinet plantaire de la patte postérieure droite. Enfin, le volume de cette patte été déterminé une heure ( $V_1$ ) puis trois heures ( $V_3$ ) après. Pour chaque souris, 3 mesures ont été faites.

L'activité anti-inflammatoire a été calculée en pourcentage de réduction de l'œdème (P) chez les souris traitées par rapport aux témoins.

Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte au temps x peut être exprimé selon la formule  $P_{aug} = (V_x - V_i) \times 100 / V_i$ .

$V_i$  étant le volume initial de la patte,  $V_x$  = volume de la patte au temps x ;

$M_o$  = pourcentage moyen d'augmentation du volume de la patte droite du lot témoin ;

$M$  = pourcentage moyen d'augmentation du volume de la patte droite du lot traité ;

Le pourcentage de réduction de l'œdème peut être exprimé selon la formule :

$P = (M_o - M) \times 100 / M_o$ .

## Résultats

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux I, II, III, IV, V et VI.

Les volumes moyens en ml des pattes postérieures droites des souris sont :

- témoins : 1,296+/-0,485 en une heure et de 1,737+/-0,247 en trois heures ;
- souris-tests : 1,276+/-0,331 puis 1,365+/-0,365 ;
- souris références : 1,261+/-0,260 puis 1,341+/-0,243.

Ainsi, après administration de la substance, le pourcentage de réduction de l'œdème est :

- pour les proanthocyanes

$P_1 = 1,55$  % au bout d'une heure ;

$P_3 = 21,43$  % au bout de trois heures.

- pour l'acide acétyl salicylique

$P_1 = 2,70$  % au bout d'une heure ;

$P_3 = 22,79$  % au bout de trois heures.

**Tableau I.** Évolution du volume des pattes droites des souris témoins en ml x 100.

Vi				V1				V3			
T1	T2	T3	Moy	T1	T2	T3	moy	T1	T2	T3	Moy
7	8	7	7,333	16	16	14	15,666	22	22	22	22,000
10	11	10	10,333	23	27	25	25,000	26	31	31	29,333
8	8	8	8,000	16	17	14	15,666	22	21	23	22,000
9	9	11	9,666	23	26	22	23,666	27	28	28	27,666
9	10	8	9,000	20	24	24	22,666	24	26	25	25,000
8	8	6	7,333	16	19	19	18,000	18	22	23	21,000
10	9	11	10,000	24	27	25	25,333	24	25	27	25,333
7	8	6	7,000	18	20	18	18,666	19	19	21	19,666
7	8	6	7,000	20	24	24	22,666	20	18	22	20,000
10	9	11	10,000	17	18	19	18,000	18	19	19	18,666

Vi = volume initial de la patte ;

V1 = volume de la patte au bout d'une heure ;

V3 = volume de la patte après 3 heures ;

T1 = volume de la patte à la première mesure ;

T2 = volume de la patte à la deuxième mesure ;

T3 = volume de la patte à la troisième mesure ;

Moy = volume moyen de la patte = (T1+T2+T3)/3.

**Tableau II.** Évolution du volume des pattes droites des souris tests en ml x 100.

Vi				V1				V3			
T1	T2	T3	Moy	T1	T2	T3	moy	T1	T2	T3	Moy
9	10	10	9,666	20	22	21	21,000	20	24	25	23,000
6	8	8	7,333	14	13	9	12,000	21	21	23	21,666
8	8	8	8,000	19	18	20	19,000	21	21	21	21,000
10	8	8	8,666	21	23	22	22,000	20	24	21	21,666
8	8	9	8,333	19	21	22	20,666	16	19	17	17,333
7	8	8	7,666	18	18	17	17,666	15	15	15	15,000
12	12	12	12,000	19	21	21	20,333	20	20	23	21,000
7	8	8	7,666	20	18	19	19,000	19	21	21	20,333
6	8	6	6,666	15	17	16	16,000	16	17	18	17,000
7	9	9	8,333	20	25	22	22,333	18	20	17	18,333

**Tableau III.** Évolution du volume des pattes droites des souris références en ml x 100.

Vi				V1				V3			
T1	T2	T3	Moy	T1	T2	T3	moy	T1	T2	T3	Moy
9	9	9	9,000	21	21	22	21,333	22	22	21	21,666
8	9	9	8,666	21	20	21	20,666	19	22	20	20,333
10	9	9	9,333	22	19	20	20,333	20	20	20	20,000
7	9	8	8,000	18	19	19	18,666	22	19	22	21,000
7	6	9	7,333	19	21	20	20,000	22	20	22	20,666
10	11	12	11,000	20	21	20	20,333	23	23	20	22,000
8	7	9	8,000	17	17	21	18,333	20	19	19	19,333
7	9	9	8,333	15	18	17	16,666	21	18	18	19,000
12	11	11	11,333	23	22	21	22,000	23	23	22	22,666
8	8	8	8,000	21	21	19	20,333	19	19	19	19,000

**Tableau IV.** volumes moyens des pattes droites des souris témoins en ml x 100.

Vi	V1	V3	M1	M3
7,666	15,666	22,000	104,30	186,95
10,333	25,000	29,333	141,93	183,87
8,000	15,666	22,000	95,83	175,00
9,666	23,666	27,666	144,82	186,20
9,000	22,666	25,000	40,74	177,77
7,333	18,000	21,000	145,45	186,36
10,000	25,333	25,333	153,33	153,33
7,000	18,666	19,666	166,66	195,23
7,000	22,666	20,000	223,80	185,71
10,000	18,000	18,666	80,00	86,66
Moyennes	1		29,6+/-48,5	173,7+/-24,7

**Tableau V.** Volumes moyens des pattes droites des souris tests en ml x 100.

Vo	V1h	V3h	M1h	M3h
9,666	21,333	23,000	117,24	137,93
7,333	20,666	21,666	63,63	195,45
8,000	20,333	21,000	137,50	162,50
8,666	18,666	21,666	153,85	150,00
8,333	20,000	17,333	148,00	108,00
7,666	20,333	15,000	130,43	95,65
12,000	18,333	21,000	69,44	75,00
7,666	16,666	20,333	147,82	165,21
6,666	22,000	17,000	140,00	155,00
8,333	20,333	18,333	168,00	120,00
Moyennes	1		27,59+/-33,14	136,47+/-36,57

**Tableau VI.** Volumes moyens des pattes droites des souris références en ml x 100.

Vi	V1h	V3h	M1h	M3h
9,000	21,000	21,666	137,03	140,73
8,666	12,000	20,333	138,47	134,62
9,333	19,000	20,000	117,86	114,29
8,000	22,000	21,000	133,32	162,50
7,333	20,666	20,666	172,73	181,82
11,000	17,666	22,000	84,84	100,00
8,000	20,333	19,333	129,16	141,66
8,333	19,000	19,000	100,00	128,00
11,333	16,000	22,666	94,12	100,00
8,000	22,333	19,000	154,16	137,50
Moyennes			126,16+/-26,01	134,11+/-24,39

Calcul :

- Pour les proanthocyanes

P1 = 1,55 % au bout d'une heure ;

P3 = 21,43 % au bout de trois heures.

- Pour l'acide acétyl salicylique

P1 = 2,70 % au bout d'une heure ;

P3 = 22,79 % au bout de trois heures.

## Discussions

Dans cette étude, nous avons utilisé comme méthode de purification des proanthocyanes, une technique proposée par Howell (HOWELL, 1999) pour la production de proanthocyanes actifs sur *Escherichia coli* à partir de camberge. Le coût des colonnes chromatographiques à base de C-18 et de LH-20 rend la technique inaccessible pour la plupart des laboratoires africains. Des méthodes d'enrichissement comme celle utilisant un mélange acétone- eau (7 : 3) qui après évaporation de l'acétone sera extrait avec un mélange toluène - éther de pétrole (1 : 1) puis avec un mélange acétate d'éthyle- 2-butanol (1 : 1) dans lequel sont concentrées les proanthocyanes (VANHAELLEN *et al.*, 1990).

L'inflammation est un signe qui accompagne la plupart des affections médicales avec des manifestations plus ou moins marquées. Elle peut être combattue par utilisation d'anti-inflammatoires stéroïdiens ou non stéroïdiens. Les proanthocyanes étant des produits de polymérisation de la catéchine ou de l'épicatéchine, une comparaison des structures permet de les rapprocher des anti-inflammatoires non stéroïdiens comme l'acide acétyl-salicylique. Ces produits agissent sur la phase vasculaire de l'inflammation par inhibition des enzymes qui synthétisent la prostaglandine.

Au delà de la comparaison structurale, les proanthocyanes de *E. africana* à la dose de 1 g/kg montrent une activité assez proche de celle de 0,05 g/kg d'acide acétyl salicylique. Ainsi, après une heure d'observation, les pourcentages de réduction de l'œdème induit par la carragénine sur la patte droite des souris étaient de 1,55 % pour les proanthocyanes et de 2,70 % pour l'acide acétyl-salicylique. Au bout de trois heures d'observation, ces valeurs étaient respectivement de 21,4 % et 22,79 %.

L'effet anti-inflammatoire des proanthocyanes à été signalé par De Bruyne et ses collaborateurs qui ont noté que la prodelphinidine isolée de *Ribes nigrum* entraînait une réduction de l'ordre de 28 % de l'œdème de la patte de rat induit par la carragénine (De BRUYNE, 1995).

Comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les proanthocyanes sont capables d'inhiber l'agrégation plaquettaire par une inhibition de la synthèse de la thromboxane des plaquettes à partir de l'acide arachidonique par la cyclo-oxygénase. (CHENG *et al.*, 1989).

Les proanthocyanes interviennent dans le mécanisme antioxydant et contribueraient ainsi de façon significative aux systèmes de défenses de l'organisme (De BRUYNE, 1995 ; BLAZSO *et al.*, 1997 ; ROHDEWALD, 1998 ; PACKER *et al.*, 1999 ; CAO, 1997).

Des auteurs ont noté un pouvoir protecteur pour les yeux exposés aux agressions photo-oxydatives. Ainsi, une dose de 2,5 µg /ml de pycnogénol<sup>R</sup> (proanthocyanes) protège la paroi externe des segments et le pigment épithélial de la rétine de la peroxydation des lipides induite par le fer (UEDA *et al.*, 1996).

## Conclusion

*E. africana* (Guill. Et Perr.) contient des proanthocyanes qui sont connues pour leurs nombreuses propriétés biologiques. Leur purification fait appel à des techniques très complexes et onéreuses ce qui pourrait expliquer la rareté des études ayant abouti à l'identification de cet important groupe de principe actif qui pourtant est très largement répandu dans le monde végétal. Mais des méthodes utilisant des techniques d'enrichissement facilement réalisables dans nos laboratoires sont actuellement décrites. La catéchine et ses dérivés de condensation étant de bons antidiarrhéiques, les extraits ainsi obtenus pourraient constituer un médicament alternatif dans le contexte actuel des maladies diarrhéiques chez l'enfant et les sujets infectés par le VIH.

## Références bibliographiques

- ADJANOHOUN E. J., AKÉ ASSI L., FLORET J. J., GUINKO S., KOUMARÉ A. M. R., AHYI R., 1979.** Médecine traditionnelle et pharmacopée : contribution aux études ethnobotanique et floristique au Mali. ACCT, Paris, 219 p.
- BEP OLIVER-BEVER, 1986.** Medicinal plants in tropical West Africa. Cambridge University Press, Cambridge, 375 p.
- BLAZSO G., GABOR M., ROHDEWALD P., 1997.** Anti-inflammatory activities of procyanidin-containing extracts from *Pinus pinaster* Ait. after oral and cutaneous application. *Pharmazie*, 52 (5) : 380-382.
- CAO G., SOFIC E., PRIOR R. L., 1993.** Antioxidant and prooxidants behavior of flavonoïds : structure-activity relationships. *Free Radic. Biol. Med.*, 22 : 749-760.
- CHENG J. T., HSU F. L., CHEN H. F., 1993.** Antihypertensive principles from the leaves of *Melastoma candidum*. *Planta Med.*, 59 (5) : 405-7.
- DE BRUYNE T., 1995.** Two-dimensional NMR investigation and biological evaluation of dimeric proanthocyanidins and related polyphenols. Thèse es sciences pharmaceutiques., Université d'Anvers, 205 p.
- GALVEZ J., CRESPO M. E., ZARZUELO A., WHITTE P., SPIESSENS C., 1993.** Pharmacological activity of a procyanidin. Isolation from *Sclerocarya birrea* Bark : Antidiarrhoeal activity and effects on isolated guinea-pig ileum. *Phytotherapy Research*, 7 : 25-28.
- HOWELL A. B., 1999.** Plant proanthocyanidins extract effective at inhibiting adherence of bacteria with p-type fimbriae to surfaces. *PCT WO 99/12541* : 1-65.
- KHERARO J., ADAM J. G., 1974.** La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques. Vigot Frères, Paris , PP : 575-576.
- NACOUUMA-OUEDRAOGO O. G., 1996.** Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles aux Burkina Faso. Cas du plateau central (tome I et II). Thèse de Doctorat d'État. Université de Ouagadougou.
- PACKER L., RIMBACH G., VIRGILI F., 1999.** Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritima*) bark, pycnogenol. *Free Radic. Biol. Med.*, 27 (5-6) : 704-724.

**ROHDEWALD P., 1998.** Flavonoïds in health and disease Ed. Marcel Dekker. Melbourg : 405-419.

**UEDA T., UEDA T., ARMSTRONG D., 1996.** Preventive effect of natural and synthetic antioxidants on lipid peroxidation in the mammalian eye. *Ophthalm. Res.* 1996 : 184-192.

**VANHAELLEN M., VANHAELLEN-FASTRE R. -** TLC-densitometric determination of 2,3-cis-procyanidine monomer and oligomers from hawthorn (*Crataegus laevigata* and *C. monogyna*). *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis.* 1990 ; Vol. 7; 12 : 1875-1889.

**VENNAT B., GROSS D., POURRAT H., POURRAT A., BASTIDE P., BASTIDE J., 1989.** Anti-ulcer activity of procyanidins preparation of water-soluble procyanidin-cimetidine complexes. *Pharm. Acta Helv.*, 64 (11) : 316-320.

**WINTER A., 1984.** Anti-inflammatoires In Précis de pharmacologie Ed. Flammarion, Paris., PP : 25-41.