

# Etude préliminaire de l'activité antiplasmodiale *in vitro* de huit plantes médicinales du Burkina Faso

---

M. Traoré<sup>1,2</sup>, J. B. Ouédraogo<sup>1,2</sup>, Z. I. Kaboré<sup>3</sup>, I. P. Guissou<sup>3</sup>, T. R. Guiguemdé<sup>2</sup>

## Résumé

L'apparition de la résistance du *Plasmodium* aux antipaludiques en Afrique de l'Ouest depuis une vingtaine d'années a montré les limites des traitements modernes. S'il est vrai que les recherches se poursuivent pour trouver des molécules plus actives, il apparaît aussi nécessaire d'apporter une preuve scientifique de l'efficacité des nombreuses plantes utilisées par nos populations pour traiter la maladie.

Les extraits hydro-éthanoliques (7/3) de 8 plantes ont été testés *in vitro* contre *Plasmodium falciparum*. Les extraits alcaloïdiques de *Nauclea latifolia* Sm ont aussi été testés. Un screening chimique préliminaire des huit plantes a été réalisé pour avoir une idée de leur composition chimique globale. Les résultats montrent une activité intéressante des extraits alcaloïdiques de *Nauclea latifolia* sur les parasites avec une CI50 de l'ordre de 2,8 µg/ml pour les alcaloïdes de racines et de 5,00 µg/ml pour ceux des feuilles. Parmi les extraits hydro-éthanoliques, seul celui de *Gardenia sokotensis* Hutch qui a donné une CI50 de l'ordre de 55,15 µg/ml semble prometteur pour le fractionnement bioguidé. Le screening phytochimique des plantes a révélé la présence d'un cocktail de groupes chimiques à savoir les tanins, les terpènes et les alcaloïdes. A ce stade il serait difficile de faire une quelconque relation structure-activité mais certains de ces groupes sont généralement reconnus actifs sur le *Plasmodium*.

**Mots clés :** Burkina Faso, plantes médicinales, *Plasmodium falciparum*, *in vitro*, groupes chimiques.

## *In vitro* antiplasmodial activity of eight medicinal plants from Burkina Faso

### Abstract

Since two decades, malaria parasites resistance to antimalarial medicine in Western Africa revealed some weaknesses of the modern treatment of the disease. Although the identification of new and more effective drugs continues, it seems necessary to provide evidence to the efficacy of the numerous plants used by our population against malaria.

A preliminary phytochemical screening of the eight plants was done to have an idea on the global chemical components of the plants.

---

<sup>1</sup> Institut de Recherche en Sciences de la Santé - DRO (IRSS-DRO/CNRST), BP 545 Bobo -Dioulasso, Burkina Faso.

<sup>2</sup> Laboratoire de Parasitologie et d'Entomologie du Centre Muraz, 01 BP 359 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso.

<sup>3</sup> Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS/CNRST), 03 BP 7192 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

Ethanol-water (7/3) extracts of eight plants were screened for *in vitro* antiplasmodial activity against *Plasmodium falciparum*. Alkaloid extracts of *Nauclea latifolia* Sm were also tested. The activity of plant extracts was expressed by the 50 % Inhibitory Concentration (IC50). Alkaloid extracts of *Nauclea latifolia* showed an interesting activity against parasites with IC50 around 2.8µg/ml (roots) and 5.0µg/ml (leaves). Among ethanol-water extracts, only the one of *Gardenia sokotensis* Hutch seems promising for the bioguided fractionation.

The phytochemical screening from the 8 plants revealed some chemical groups as tannins, terpenoids and alkaloids. At this stage it is difficult to correlate the activity to the structure but some of these chemical groups are known to be active on malaria parasites.

**Key words:** *Plasmodium falciparum*, medicinal plants, chemical groups - *in vitro* - Burkina Faso

## Introduction

Le paludisme reste pour les pays en voie de développement un problème majeur de santé publique. Parmi les causes de la persistance du fléau on peut citer la chimiorésistance croissante du plasmodium aux antipaludiques, du vecteur aux insecticides (PETERS, 1990, PANISKO, 1990) et le coût élevé des traitements. La recherche de nouveaux médicaments et surtout de moindre coût doit constituer une préoccupation majeure pour les pouvoirs publics dans les pays d'endémie palustre. Les populations, réagissent déjà avec le recours à la médecine traditionnelle et aux plantes médicinales.

En effet la médecine traditionnelle et les plantes médicinales qui représentent un patrimoine inestimable dans le traitement des maladies et notamment du paludisme dans les pays sous développés ne demande qu'à être investiguées. A ce propos on peut se référer au cas de l'artémisinine molécule antipaludique isolé de *Artemisia annua* une herbe utilisée pendant longtemps en médecine chinoise traditionnelle dans le traitement du paludisme (HIEN *et al.*, 1993). L'artémisinine et ses dérivés représentent aujourd'hui une classe importante dans le traitement du paludisme chimiorésistant.

Le but de la présente étude est d'évaluer l'activité antiplasmodiale de huit plantes médicinales utilisées dans le traitement de la fièvre et du paludisme au Burkina Faso. A l'issue de cette phase préliminaire, les extraits les plus actifs seront choisis pour le fractionnement bioguidé.

## Matériel et méthodes

### Sélection des plantes

Les plantes étudiées ont été proposées par une tradithérapeute de l'est du Burkina avec qui l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS) collabore depuis plus d'une quinzaine d'années. Ces plantes sont indiquées dans le traitement de la fièvre et du paludisme. Une revue de la littérature a accompagné le choix définitif des plantes (Tableau I).

**Tableau I.** Plantes sélectionnées.

Famille	Nom	Parties utilisées	Zones du pays	Indications et références
Caesalpinaceae	<i>Cassia sieberiana</i> DC	Ecorces de tronc	Est	Fièvre, paludisme (Aké Assi et Guinko, 1991; Adjanooun <i>et al.</i> 1989)
Mimosaceae	<i>Parkia biglobosa</i> (Jacq) Benth	Ecorces de tronc	Est	Fièvre (Bouquet et Debray, 1974; Aké Assi et Guinko, 1991)
Cochlospermaceae	- <i>Cochlospermum tinctorium</i> A. Rich.	Rhizomes	Centre Ouest	- Fièvre (Aké Assi et Guinko, 1991); paludisme (Traoré, 1983)
	- <i>Cochlospermum planchonii</i> Hook. F.	Rhizomes	Sud	- Fièvre, paludisme (Aké Assi et Guinko, 1991; Dakyo, 1992)
Combretaceae	<i>Anogeissus leiocarpus</i> (DC) Guil. et Perr.	Ecorces de tronc	Est	Fièvre (Aké Assi et Guinko, 1991); paludisme (Dakyo, 1992)
Verbenaceae	<i>Vitex doniana</i> Sweet	Feuilles	Est	Fièvre, (Adjanooun, 1978)
Rubiaceae	- <i>Gardenia sokotensis</i> Hutch.	Feuilles	Est	- Fièvre (Aké Assi et Guinko, 1991); paludisme (Dakyo, 1992)
	- <i>Nauclea latifolia</i> Sm	Feuilles, et racines	Est	- Fièvre (Aké Assi et Guinko, 1991 ; Fernandez de la Pradillia (1981,1982) - paludisme (Adjanooun, 1986 ; Guinko, 1989)

### Collecte des plantes

Les plantes sélectionnées ont été collectées avec l'aide de la tradithérapeute après la saison des pluies. Le matériel végétal convenablement lavé a été séché à la température ambiante (30 °C), réduit en poudre et gardé dans des flacons stériles à l'abri de la lumière. Les échantillons de chaque espèce ont été identifiés et déposés au département de Botanique du CNRST (Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique).

### Caractérisation phytochimique

Un screening phytochimique a été réalisé pour identifier les principaux groupes chimiques majeurs des plantes testées selon la méthode de Paris et Moysé (1965, 1976).

Préparation des extraits totaux hydro-éthanoliques (7/3) : 100 g de poudre végétal de chacune des huit plantes ont été extraits par reflux avec 600 ml du mélange éthanol-eau dans les proportions 7/3 et convenablement filtrés. Le choix de ce solvant est lié au fait que les composés anti-paludiques sont généralement apolaires à moyennement polaires et le mélange Ethanol-eau a non seulement l'avantage de retenir beaucoup plus de constituants que l'extrait aqueux mais aussi apparaît assez proche des extraits aqueux utilisés en tradithérapie.

Préparation des extraits alcaloïdiques (chlorydrates d'alcaloïdes) de *Nauclea latifolia* : la poudre d'écorces de racines ou de feuilles (200 g) est alcalinisée avec une solution d'ammoniaque diluée au 1/2 (500 ml) ; séchée puis extraite en continue au Soxhlet avec du chlorure de méthylène ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). L'extrait obtenu est concentré à l'aide de l'évaporateur rotatif de type Büchi et on obtient le résidu alcaloïdique qui est dissous dans de l'acide chlorhydrique à 10 %, puis rendu basique (pH 8-9) et filtré. L'extraction se poursuit avec plusieurs fractions de chlorure de méthylène qui, réunies sont lavées à l'eau, séchées avec du sulfate anhydre de sodium, filtrées et concentrées. Le résidu alcaloïdique est ensuite dissous dans l'acétone à volume minimum. Par barbotage de vapeurs d'acide chlorhydrique obtenu par addition de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  sur NaCl dans la solution acétonique, les chlorydrates de couleur blanc laiteux se forment et précipitent. L'opération est arrêtée par l'obtention d'un pH franchement acide. Le précipité est récupéré par filtration sur papier Watmann n° 1 et rincé à l'acétone jusqu'à pH neutre du filtrat. Les chlorydrates sont séchées à l'étuve à 50 °C.

### Parasites – culture *in vitro*

- Parasites : les isolats ont été prélevés chez des patients consultants au Laboratoire de Parasitologie et d'Entomologie du Centre Muraz. Les cellules sanguines parasitées (parasitémie comprise entre 0.075 - 2 %) ont été lavées avec du RPMI sans sérum et l'hématocrite ajusté à 50 %.
- Test *in vitro* : a été réalisé dans les microplaques de 96 puits selon la méthode optique décrite par Rieckmann pour estimer les différentes phases de la croissance des parasites. Les parasites ont été incubés dans le milieu de culture contenant 50  $\mu\text{l}$  d'extraits de plante dilués au 1/3, 1/9, 1/27, 1/81, 1/243 et 1/729 avec du milieu de culture RPMI 1640 supplémenté de 10 % de sérum humain AB (RPS). La parasitémie et les différentes formes parasitaires ont été déterminées à partir des frottis minces confectionnés après 24 heures de culture.

L'activité des extraits exprimée en CI50 est déterminée par régression linéaire à partir de courbes dose-réponses (inhibition parasitaire). Les extraits ont été testés comparativement à la chloroquine comme médicament de référence.

## Résultats

### Caractérisation phytochimique

Le tableau II résume les groupes chimiques identifiés dans les différentes plantes avec une appréciation qualitative de leur abondance relative. Les alcaloïdes sont apparus seulement chez *Nauclea latifolia* aussi bien dans les racines que dans les feuilles. *Nauclea latifolia* est une rubiacée et les alcaloïdes sont généralement rencontrés chez la plupart des espèces végétales de cette famille botanique. Les Tanins ont été mis en évidence chez toutes les espèces et en abondance. Aucun alcaloïde n'a été identifié chez *Gardenia* qui est aussi une rubiacée.

**Tableau II.** Groupes chimiques identifiés dans les extraits totaux des plantes sélectionnées.

Plantes	Cs	Pb	Ct	Cp	Al	Vd	Gs	NI	
								R	F
Groupes chimiques									
Stérols et triterpènes			++	++	++	++	++	+++	++
Caroténoïdes			++	++					
Alcaloïdes								+++	++
Aglycones flavoniques	+						+		
Emodols	+						++		
Anthracénosides	+								
Flavonosides	+						++		
Coumarines							+	+	+
Glucosides stéroïdiques et triterpéniques		++	++	++	++	++	++	++	++
Anthocyanosides		+							
Leucoanthocyanes			++	++					++
Tanins	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	++
Saponines			+	+	+	+	+	+	

Ct : *Cochlospermum tinctorium*, Cs : *Cassia sieberiana*, Vd : *Vitex doniana*, Gs : *Gardenia sokotensis*, Al : *Anogeissus leiocarpus*, Cp : *Cochlospermum planchonii*, NI : *Nauclea latifolia*, Pb : *Parkia biglobosa*, R : Racines, F : Feuille ; + : présence, ++ : abondant, +++ : très abondant

### Activité antiplasmodiale

L'activité antiplasmodiale des extraits est appréciée à travers les CI50 représentées dans le Tableau II. Plus la CI50 est élevée plus l'activité est faible. L'extrait de *Gardenia sokotensis* présente une CI50 de l'ordre de 55,15 µg/ml. Les 5 autres extraits donnent une CI50 variant entre 157,93 µg/ml et 835,03 µg/ml. Les extraits de *Cassia sieberiana* et de *Parkia biglobosa* ont présenté les CI50 les plus élevées (3150,89 µg/ml et 1607,70 µg/ml). La chloroquine (médicament de contrôle) nous donne une CI50 de l'ordre de 0,067 µg/ml.

**Tableau III.** Les concentrations inhibitrices 50 % (CI50) des extraits testés.

Plantes	Rendement	CI50 (µg/ml)
<i>Cassia sieberiana</i>	58,35	3150,89
<i>Parkia biglobosa</i>	45,45	1607,70
<i>Cochlospermum tinctorium</i>	63,71	57,93
<i>Cochlospermum planchonii</i>	41,42	36,81
<i>Anogeissus leiocarpus</i>	51,61	67,04
<i>Vitex doniana</i>	17	158,17
<i>Gardenia sokotensis</i>	31,76	55,15
	HE de Racines	46,1
<i>Nauclea latifolia</i>	Alc. racines	2,8
	HE Feuilles	49,06
	Alc. feuilles	5

HE : hydro-éthanolique, Alc : alcaloïdes

## Discussion

Pour ce qui est du screening phytochimique, parmi les groupes chimiques identifiés certains sont généralement reconnus antiparasitaires et même actifs sur le Plasmodium. C'est le cas des alcaloïdes (quinine, tétrandrine, phaeanthine, berbérine) (NKUNYA, 1992), des naphthoquinônes (polyphenol) et des terpénoïdes (quassinoides) (BRAY, 1990). Une activité antiplasmodiale intéressante des extraits totaux contenant ces groupes chimiques encouragerait à leur séparation par chromatographie pour identifier le groupe puis la molécule responsable de l'activité et c'est seulement aussi à ce stade qu'une possible relation structure-activité peut être établie.

En ce qui concerne l'activité antiplasmodiale, les extraits alcaloïdiques de *Nauclea latifolia* apparaissent très actifs sur les parasites du paludisme. Ces alcaloïdes de type indolique isolées de la plante par HOTTELIER *et al.* en 1979 et 1980 seraient à l'origine de l'activité. Les alcaloïdes de *Nauclea* se sont montrés par ailleurs très actifs sur des germes microbiens (2, 12).

Les extraits hydro-éthanoliques présentent des CI<sub>50</sub> très élevées ce qui traduit une activité antiplasmodiale faible. Parmi ces extraits, seul celui de *Gardenia sokotensis* présente une activité antiplasmodiale intéressante au vu de sa CI<sub>50</sub> qui est assez proche de celle de *Azadirachta indica* A Juss (IC<sub>50</sub> = 50 - 400 µg/ml) (BADAM, 1987), plante bien connue et très utilisée en médecine traditionnelle. Cependant l'activité observée est inférieure à celle de *Artemisia annua* (3.9 µg/m) (WEENEN, 1990). Le screening phytochimique montre par ailleurs que *Gardenia sokotensis* renferme le plus de groupes chimiques (stérols et triterpènes, émodols, flavonosides, tanins, saponines). Même s'il est encore difficile à cette étape de l'étude d'attribuer l'activité observée à un groupe chimique donné de la plante, nous pouvons dire que ce cocktail de groupes chimiques serait favorable à l'activité antiplasmodiale. *Gardenia* est une rubiaceae et nous nous attendions à y trouver des alcaloïdes mais cela n'a pas été le cas.

Si la plupart des extraits montrent une activité faible sur le parasite *in vitro* des études complémentaires d'efficacité *in vivo* chez l'animal sont nécessaires avant de statuer définitivement sur leur efficacité. En effet certaines substances inactives *in vitro* peuvent l'être *in vivo* et vice versa et ceci est vrai aussi bien pour les extraits de plantes que pour les médicaments modernes. La raison essentielle étant liée au métabolisme. Nous pouvons citer en exemple le cas des extraits de neem (*Azadirachta indica*) très actifs *in vitro* mais inactifs *in vivo* chez la souris (ROCHANA-KIJ *et al.*, 1985 ; TELLA *et al.*, 1976, 1977).

## Conclusion

Ce screening préliminaire nous a permis d'avoir des informations sur l'activité antiplasmodiale des extraits totaux hydroalcooliques de huit plantes ainsi que de leur constitution chimique. Les CI<sub>50</sub> élevées obtenues pourraient être dues aux souches utilisées et à la nature des extraits qui renferment à l'état brute encore beaucoup d'impuretés. Des études complémentaires d'efficacité *in vivo* chez l'animal sont nécessaires pour les extraits qui se sont montrés inactifs *in vitro* ; ainsi que la poursuite des études précliniques à savoir le fractionnement bioguidé pour ceux qui ont montré une activité préliminaire antiplasmodiale *in vitro*. Pour les études futures *Nauclea latifolia* et *Gardenia sokotensis* qui ont montré les meilleures activités sur le Plasmodium sont pressenties pour le fractionnement bioguidé.

## Remerciements

Nous remercions les deux laboratoires, celui du Centre Muraz et celui de l'IRSS pour leur collaboration dans le cadre de cette étude, Mme Dahani tradithérapeute qui a donné les recettes médicinales et le département de botanique de l'INERA/CNRST pour l'identification des plantes.

## Références bibliographiques

- ADJANOHOUN E. J., AKÉ ASSI L., ABEYE J., GUINKO S., GIGUET R., BANGAVOU Y., 1978. Contribution à l'identification et au recensement des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle et la pharmacopée en Empire Centrafricain, ACCT, Paris, p. 139.
- ADJANOHOUN E. J., AHYI M. R. A., AKÉ ASSI L., AKPAGANA K., CHIBON P., EL-HADJ A., GARBA M., GASSITA, J. N., *et al.*, 1986. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. Collection Médecine Traditionnelle et Pharmacopée, ACCT, Paris, p. 671.
- ADJANOHOUN E. J., ADJAKIDJÉ U., AHYI M. R. A., AKÉ ASSI L., AKOÉGNINOU A. *et al.*, 1989. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Bénin. Collection Médecine Traditionnelle et Pharmacopée, ACCT, Paris, p. 895.
- AKÉ ASSI L., GUINKO S., 1991. Plantes utilisées dans la médecine traditionnelle en Afrique de l'Ouest. Edition Roche, Suisse, p. 151.
- BOUQUET A., DEBRAY M., 1974. Plantes médicinales et toxiques de Côte d'Ivoire. Collection travaux et documents de l'ORSTOM, n° 32. Paris, p. 231.
- BRAY D. H., WARIHURST D. C., CONNOLLY J. D., O'NEILL M. J., PHILIPSON J. D., 1990. Plants as sources of antimalarial drugs. Part 7. Activity of some species of Meliaceae and their constituent limonoids. *Phytotherapy Research* 4, 29-35.
- DAKYO Z. P., 1992. Le paludisme en Afrique. *Vie et Santé*, n° 10.
- DEENI Y. Y., HUSSAIN H. S. N., 1980. Screening for antimicrobial activity and for alkaloids of *Nauclea latifolia* S. m. *Journal of ethnopharmacology*, 35, 91-96.
- FERNANDEZ DE LA PRADILLA C., 1981. Les plantes qui nous ont guéris. 1 vol. polygr. p. 205, Ouagadougou. Librairie Jeunesse d'Afrique.
- FERNANDEZ DE LA PRADILLA C., 1982. Plantes médicinales contre les hépatites. 51 espèces tropicales. 1 vol. polygr. p. 61, Ouagadougou.
- GUINKO S., ZOUNGRANA I., GUENDA W., TAMINI Z., MILLOGO-RASOLODIMBI J., 1989. Apithérapie : Quelques usages médicaux du miel dans l'ouest du Burkina Faso. *Bull. Méd. Trad. Pharm.*, vol. 3, n° 2, pp. 111-115.
- HIEN T. T., WHITE N. J., 1993. Qinghaosu. *Lancet* 314, 603-608.
- HOTELLIER F., DELAVEAU P., POUSSET J. L., 1979. Alcaloïdes des feuilles de *Nauclea latifolia* S.m. *Planta Medica* 35, 242-246.
- HOTELLIER F., DELAVEAU P., POUSSET J. L., 1980. Naucleïdinal and épinaucleïdinal, alcaloïdes de *Nauclea latifolia* S.m. *Phytochemistry*, 19, 1884-1885.
- NKUNYA M. H. H., 1992. Progress in the search for antimalarials. Monograph series n° 4. NAPRECA. University, Addis Ababa, p. 33.
- PANISKO D. M., KEYSTONE, J. S., 1990. Treatment of malaria. *Drugs* 39, 160-89.
- PARIS R. R., MOYSE H., 1965. Matière médicale. Edition Masson et Cie, Tome 1, p. 416.
- PARIS R. R., MOYSE H., 1976. Matière médicale. Tome 1, 2<sup>e</sup> Edition Masson, Paris, P. 420.
- PETTERS W., 1990. Drug resistance in malaria. *Recent Pro. Med.* 81, 749-53.
- RIECKMANN K. H., SAX L. S., CAMPELL G. H., MIREMA J. E., 1978. Drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*: an *in vitro* microtechnique. *Lancet*, 22-23.

- ROCHANAKIJ S., THEBTARANONTH Y., YENJAI C., YUTHAVONG Y., 1985.** Nimbolide, a constituent of *Azadirachta indica* inhibits *Plasmodium falciparum* growth in culture. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 16, 66-72.
- SOURABIE S., GUISSOU I. P., KABORE Z. I., 1994.** Mise en évidence d'une activité antibactérienne de *Nauclea latifolia* Sm.(Rubiaceae) vis-à-vis d'entérobactéries responsables de gastro-entérites infantiles au Burkina Faso. *Publications médicales Africaines*. (120) pp. 17-23.
- TELLA A., 1976.** Studies on *Azadirachta indica* in malaria. *Br. J. Pharmacol.*, 58, 318P
- TELLA A., 1977.** The effects of *Azadirachta indica* in acute *Plasmodium berghei* malaria. *Nig. Med. J.*, 7, 258-263.
- TRAORE D., 1983.** Médecine et magie africaines. Présence Africaine. ACCT. P569.
- WEENEN II., 1990.** Antimalarial activity of Tanzanian medicinal plants. *Planta medica* 56, 368-370.
- W.H.O., 1990.** World malaria Situation 1988 part I. *Weekly Epidemiol, Rec.* 65, 189-196.