

---



---

Soumis le : 06 Mars 2012

Forme révisée acceptée le : 25 Septembre 2012

Email de l'auteur correspondant :

*bekro2001@yahoo.fr*

---



---

## Screening phytochimique bio guidé et évaluation in vitro des propriétés purgatives de *Anchomanes difformis* (Blume) Engl., une plante utilisée en Côte d'Ivoire dans le traitement folklorique de la constipation

Janat Akhanovna MAMYRBEKOVA-BEKRO<sup>\*</sup>, Boua Benson BOUA<sup>\*</sup>, Aboubacar DIABY<sup>\*</sup>, Yves-Alain BEKRO<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup> Laboratoire de Chimie Bio Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN), Université d'Abobo-Adjamé, 02 BP 0801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

---

### Résumé

A travers *Anchomanes difformis* (Blume) Engl. (Araceae), la présente étude se veut un plaidoyer aux fins de la valorisation des plantes à vertus purgatives de notre terroir. Les extraits bruts méthanoliques des rhizomes (ER) et du binôme feuilles-tiges (EF) de cette plante, ont fait l'objet d'investigations phytochimiques par une approche bio guidée. Le criblage phytochimique de EF et ER a montré que *A. difformis* renferme des flavonoïdes, composés réducteurs, alcaloïdes, stérols, terpènes, protéines, coumarines, tanins catéchiques, saponosides et des quinones. L'étude pharmacologique réalisée avec EF et ER sur le duodénum de lapin, a mis en évidence que seul ER manifeste des propriétés laxatives. L'analyse qualitative par CCM de l'extrait acétate éthylique (ER2) obtenu à partir de ER par extraction liquide-liquide, a révélé la présence de métabolites secondaires tels que des stérols, triterpènes, coumarines, flavonoïdes, alcaloïdes et des anthraquinones qui seraient à l'origine par action conjuguée de ses propriétés laxatives constatées.

*Mots clés:* *Anchomanes difformis*, phytochimie, propriétés purgatives, duodénum, Côte d'Ivoire

### Abstract

Through *Anchomanes difformis* (Blume) Engl. (Araceae), the present survey is a plea for the purposes of the valorization of the plants to purgative virtues of our native soil. The methanolic crude extracts of the rhizomes (ER) and of the binomial leaves-stems (EF) of this plant, were the subject of phytochemical investigations by a bio guided approach. The phytochemical screening of EF and ER showed that *A. difformis* contains flavonoids, reducing compounds, alkaloids, sterols, terpenes, proteins, coumarins, catechic tannins, saponosides and quinones. The pharmacological survey achieved with EF and ER on the duodenum of rabbit, put in evidence that only ER manifests laxative properties. The qualitative analysis by TLC of the ethylic acetate excerpt (ER2) gotten from ER by liquid-liquid extraction, revealed the presence of secondary metabolites as sterols, triterpenes, coumarins, flavonoids, alkaloids and anthraquinones that would be to the joint-stock origin conjugated of its noted laxative properties.

*Keywords :* *Anchomanes difformis*, phytochemistry, purgative properties, duodenum, Côte d'Ivoire

### 1. Introduction

La constipation est très répandue et existe sur tous les continents notamment en Afrique noire où la richesse de l'alimentation traditionnelle en fibres ne semble pas protéger totalement les populations. Elle se manifeste par une évacuation rare, difficile, douloureuse ou non des matières fécales trop dures retenues dans le côlon [1]. Comme pathologie, elle est peu chiffrée en Afrique. Toutefois, des études menées dans des centres

hospitaliers urbains révèlent que la constipation atteint entre 10% et 30% de la population des pays occidentaux et 3 à 5% de façon chronique [2]. Elle est particulièrement fréquente chez les femmes et les personnes âgées [1, 2]. Face à cette prévalence, la médecine moderne propose non seulement des traitements médicamenteux à base de laxatifs mais aussi des règles hygiéno-diététiques [1, 2]. Or il est bien connu que dans bon nombre de pays en développement, l'accès à la médecine conventionnelle moderne demeure encore problématique pour une large proportion des populations. Une alternative plus accessible s'offre à elle, c'est celle de l'emploi des plantes

à des fins thérapeutiques, de tout temps connu des us et coutumes ancestraux [3]. Certaines plantes sont utilisées pour traiter traditionnellement la constipation en Côte d'Ivoire. Au nombre de celles-ci, *Anchomanes difformis* occupe une place de choix et fait l'objet de la présente étude. Notre objectif est de contribuer de façon rationnelle à travers *A. difformis*, à la valorisation des espèces végétales à vertus purgatives par un screening phytochimique et pharmacologique.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est composé de rhizomes et du binôme feuilles-tiges de *Anchomanes difformis*. Les plantes récoltées le 09 juin 2009 au sein de l'université d'Abobo-Adjamé (Abidjan-Côte d'Ivoire), ont été identifiées à l'herbier du Centre National de Floristique (CNF) de l'Université de Cocody-Abidjan. Elles ont été nettoyées puis découpées en petits morceaux ensuite séchées à la température ambiante pendant une semaine et enfin réduites en fines poudres à l'aide d'un broyeur (RETSCH type 811 100).

### 2.2. Matériel animal

Les lapins utilisés dans les expérimentations ont été traités selon les recommandations de la bioéthique. Ils sont âgés de 4 mois, appartiennent à l'espèce *Oryctolagus cuniculus* (Léporidés) et pèsent en moyenne  $1725 \pm 43,30$  g. Ils proviennent de différentes fermes d'élevage du district d'Abidjan (Côte d'Ivoire). Aussi ont-ils été acclimatés pendant 48 h au laboratoire.

## 3. Méthodes d'étude chimique

### 3.1. Préparation des extraits bruts

Tous les produits chimiques ont été achetés dans le commerce et sont de degré analytique. Avant leur emploi, ils ont été fraîchement préparés. 250 g de chaque poudre végétale ont été macérés dans 1000 mL de MeOH absolu pendant 48 h. Les macérâts ont été filtrés sur Büchner et les filtrats ont été ensuite concentrés sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (Buchi R110 type MKE 6540/2) jusqu'à l'obtention de bruts qui ont été mis à sécher à l'étuve (45 °C) pendant 24 h, lesquels ont été échantillonnés ER (extrait brut des rhizomes) et EF (extrait brut du binôme feuilles-tiges) pour les tests phytochimique et pharmacologique.

### 3.2. Fractionnement de ER

10 g de ER ont été dissous dans 100 mL d'eau distillée pour donner une solution qui a été successivement épuisée avec (3×30) mL de  $\text{CHCl}_3$ , AcOEt et n-BuOH pour obtenir respectivement les fractions ER1, ER2, ER3 et ER4.

### 3.3. Criblage phytochimique

Deux techniques classiques de caractérisation ont été utilisées: le criblage par réactions colorées et la CCM. Le criblage par réactions colorées a été fait sur les extraits EF, ER, ER1, ER2, ER3 et ER4 selon les techniques décrites dans les travaux [4-7]. Quant à la CCM, 2  $\mu\text{L}$  de ER2 ont été développés sur chromatoplaque (silica gel 60 F<sub>254</sub>, support rigide en aluminium, Merck) par différents gradients de solvants de migration. Après séchage, les chromatogrammes sont révélés soit dans le visible soit sous UV/366 nm avec ou sans révélateurs appropriés.

## 4. Méthode d'étude pharmacologique

### 4.1. Technique d'enregistrement de l'activité mécanique du duodénum de lapin.

Le lapin a été mis à jeun pendant 24 h puis sacrifié. On procède immédiatement à une laparotomie médiane afin de prélever le duodénum, lequel est fragmenté en morceaux de 3 cm et monté sur un dispositif qui est plongé dans une solution glucosée de Mac EWEN convenablement oxygénée et dont la température est maintenue à 38°C. A l'aide d'un fil passé à travers la paroi, on réalise un nœud à une extrémité du fragment permettant de l'accrocher à l'intérieur de la cuve à organe isolé. L'autre extrémité est reliée par un autre fil au stylet dont l'extrémité est en contact avec un cylindre enfumé soumis à une rotation de vitesse constante (1cm/10s). Les tests ont été effectués 30 min environ après le montage pour permettre aux contractions du duodénum de se stabiliser entièrement. A l'aide d'une seringue graduée, les solutions des extraits bruts et fractions (0,5 mL) sont directement introduites dans la cuve à organe contenant un liquide physiologique (250 mL). Un système de levier portant le stylet enregistreur par un contrepoids, permet l'inscription des mouvements contractiles du duodénum isolé sur du papier enfumé contre le cylindre en rotation.

## 5. Résultats et discussion

### 5.1. Criblage phytochimique

Le screening phytochimique montre que ER contient des coumarines, alcaloïdes, protéines, tanins, saponosides terpéniques avec un indice de mousse de 125 et des composés réducteurs. Quant à EF, il renferme des flavonoïdes, composés réducteurs, alcaloïdes et des stérols et terpènes (Tableau 1). Outre les tanins et les alcaloïdes mis en évidence par Yemoa *et al.*, [8] dans le décocté aqueux des rhizomes de la même plante, nous y avons décelé la présence de coumarines, protéines, saponosides terpéniques et de composés réducteurs. La non concordance des résultats serait due au choix du solvant et au mode d'extraction.

Tableau 1

Screening phytochimique de ER et EF

Phytocomposés	ER	EF
Flavonoïdes	+	+
Saponosides	Stéroïdiques	-
		Terpéniques
Alcaloïdes de Dragendor'ff	+	+
Composés réducteurs	+	+
Coumarines	+	-
Protéines	+	+
Tanins	Catéchiques	+
	Galliques	-
Quinones	+	-
Stérols et terpènes	+	+

+: Présence - : Absence

### 5.2. CCM de ER2

Les stérols, terpènes, coumarines, flavonoïdes, alcaloïdes et anthraquinones réputés être doués de propriétés laxatives ont été recherchés dans ER. Le Tableau 2 montre les groupes de métabolites secondaires qui sont contenus dans ER2. Un alcaloïde (Rf=0,84) de Dragendor'ff a été identifié. Les stérols et triterpènes ont été révélés par le réactif de Liebermann -Bürchard sous UV/366 nm. En effet, un spot jaune (Rf=0,06) correspond aux stérols alors que trois taches rouges (Rf=0,38 ; Rf=0,55 ; Rf=0,88) sont des triterpènes de type oléane et ursane. Les spots de couleur bleue sous UV/366 nm (Rf=0,18 et 0,60) sont des coumarines [4, 9]. Les flavonoïdes ont été révélés par les réactifs de Godin et de Neu. Lorsqu'ils sont en contact avec le réactif de Neu, ils apparaissent dans le chromatogramme en jaune, orange et marron dans le visible et sous diverses colorations sous UV/366 nm [10, 11]. Sur cette base, les spots orange

(Rf=0,04), bleus (Rf=0,15; Rf=0,66), jaunes (Rf=0,31) sont des flavonoïdes. Par ailleurs, certains flavonoïdes ont été détectés par le réactif de Godin qui les révèle sous forme de spots jaune (Rf=0,31), orange (Rf=0,50; Rf=0,53), et rose (Rf=0,66) sous UV/366 nm (Tableau 2). Quant aux coumarines, elles ont été détectées par NH<sub>3</sub> et KOH méthanolique à 5- 10% (m/v). En effet, KOH les révèle sous forme de spots bleu, vert, jaune et orange sous UV/366 nm [12]. Elles donnent des fluorescences sous UV à 366 nm après traitement par NH<sub>3</sub> en bleu, vert, jaune, pourpre et rose [13]. Ainsi, les spots de Rf =0,13; 0,18 et 0,60 sont des coumarines (Tableau 2). En outre, le spot rouge de Rf =0,80 révélé sous UV/366nm et qui persiste après traitement par NH<sub>4</sub>OH concentré, est une anthraquinone.

### 5.3. Effet dose réponse de EF et ER sur le duodénum de lapin.

La figure 1A représente un enregistrement type des effets de EF sur l'activité mécanique du duodénum de lapin en fonction de la concentration. Pour des concentrations comprises entre 1 et 40 µg/mL, EF entraîne une relaxation qui se traduit par une diminution de l'amplitude de contraction de 35 à 99,09 %. La figure 1B construite à partir de 3 expériences, traduit en moyenne le pourcentage de relaxation en fonction du logarithme de la concentration qui nous a permis de déterminer la valeur de la concentration efficace à 50 % (CE<sub>50</sub>) qui est de l'ordre de 10± 0,5 µg/mL .

La figure 2A représente un enregistrement type des effets de ER sur l'activité mécanique du duodénum de lapin en fonction de la concentration. ER induit deux effets: aux faibles doses (1 à 10 µg/mL), il engendre une contraction qui se traduit par une augmentation de la force de contraction de l'intestin déplaçant le tonus de base vers le haut. Par contre, aux fortes doses (20-80 µg/mL), ER entraîne une relaxation qui se traduit par une diminution de la force de contraction de l'intestin. Les représentations graphiques (fig. 2 A1et A2) réalisées à partir de 3 expériences, traduisent respectivement en moyenne les pourcentages de relaxation et de contraction en fonction du logarithme de la concentration de ER.

Il convient de rappeler que le but de ces tests pharmacologiques est de sélectionner l'extrait doué de propriétés purgatives se traduisant par la contraction du duodénum, s'il est vrai que cette contraction facilite le transit intestinal. Au vu des effets de ER et EF sur le duodénum de lapin, notre choix s'est porté sur ER car il a induit à faible dose l'effet pharmacologique escompté (contraction du duodénum). Par ailleurs à forte dose, ER induit aussi une relaxation. Dans le but de montrer laquelle des familles de phytocomposés est à l'origine de la contraction du duodénum, ER a été fractionné par extraction liquide-liquide avec des solvants de polarité différente pour donner ER1, ER2, ER3 et ER4.



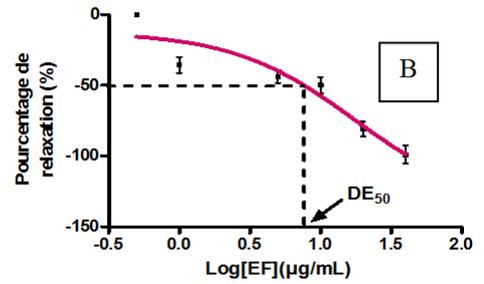
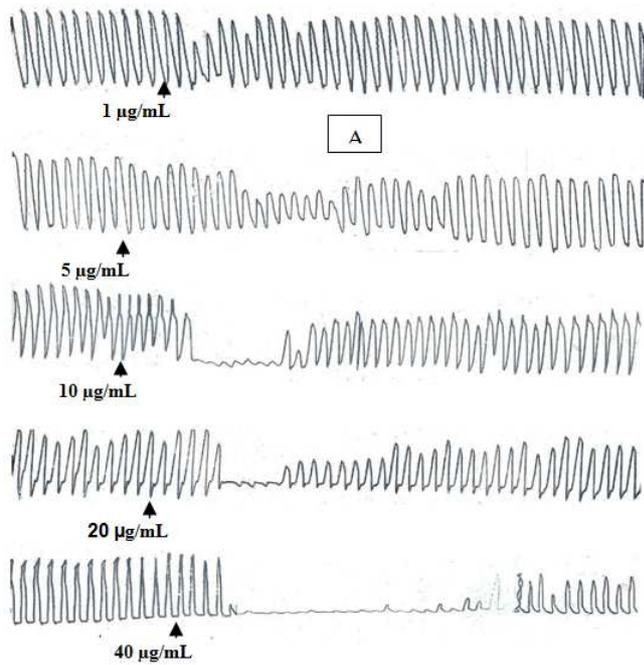


Figure 1 : Effet dose-réponse de EF sur les contractions rythmiques de l'intestin de lapin.  
 A-Effet de EF sur les contractions rythmiques de l'intestin de lapin  
 B-Relaxation en fonction du logarithme de la concentration de EF

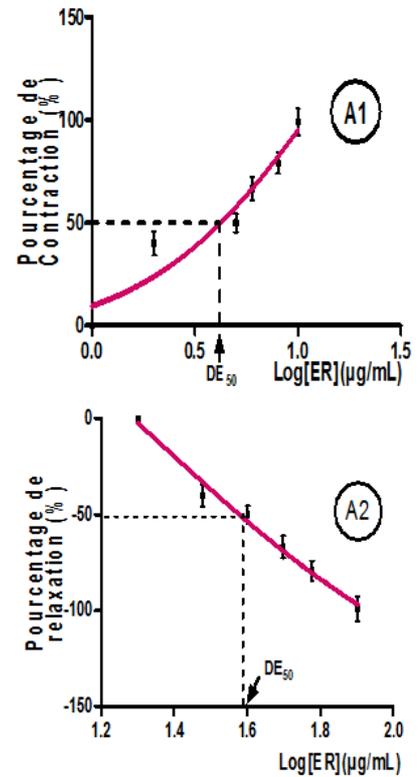
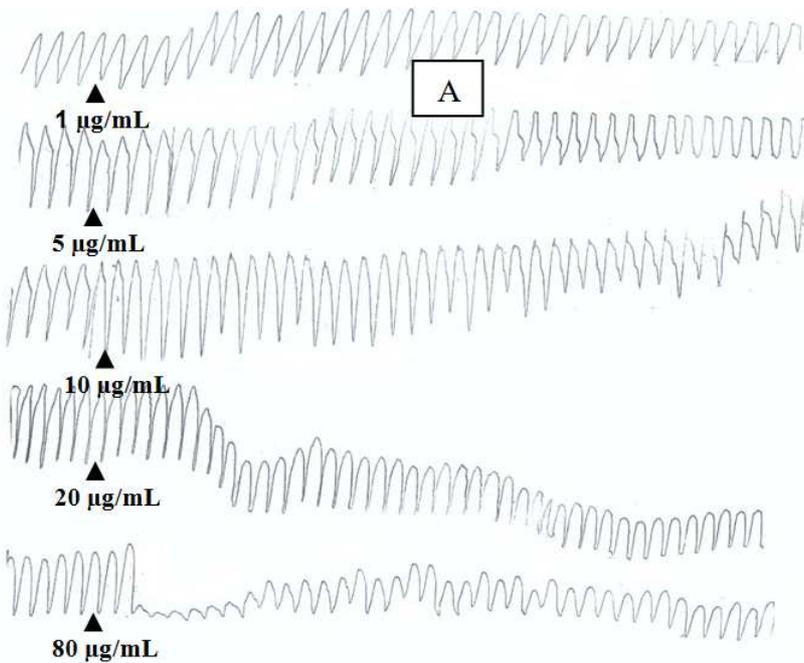


Figure 2: Effet dose-réponse de ER sur les contractions rythmiques de l'intestin de lapin.  
 A- Effet de ER sur les contractions rythmiques de l'intestin de lapin.  
 A1- Contraction induite par ER en fonction du logarithme de sa concentration  
 A2- relaxation induite par ER en fonction du logarithme de sa concentration

5.4. Effet dose-réponse de ER1, ER2, ER3, ER4 sur le duodénum de lapin.

La figure 3A traduit l'effet de ER1 sur les contractions rythmiques du duodénum de lapin à des concentrations croissantes comprises entre 0,07 et 0,33 µg/mL. Dans cet intervalle de concentrations, ER1 induit une relaxation qui

se traduit par une diminution de l'amplitude de 35,7 à 87%. Après 3 expériences, les valeurs moyennes obtenues ont servi à construire la courbe exprimant la relaxation en fonction du logarithme de la concentration de ER (fig. 3B). C'est une sigmoïde qui nous a permis de déterminer la CE<sub>50</sub> (020± 001 µg/mL). Ce même effet est produit par ER3.

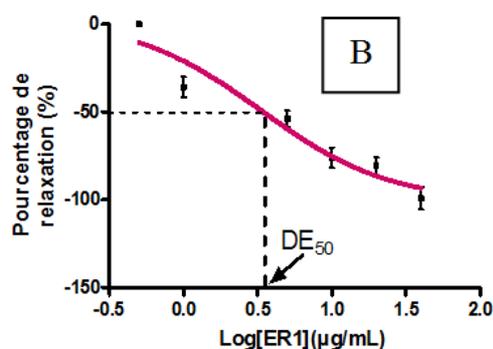
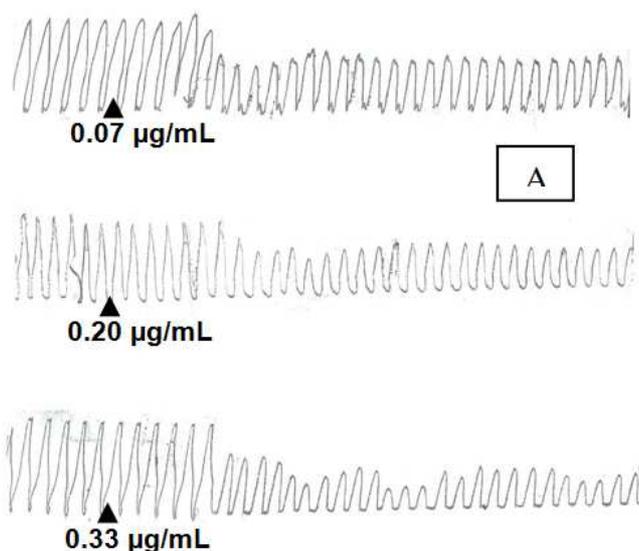


Figure 3: Effet dose-réponse de l'extrait brut ER1 sur les contractions rythmiques de l'intestin de lapin.

A- Effet de ER1 sur les contractions rythmiques de l'intestin de lapin.

B- Relaxation induite par ER1 en fonction du logarithme de sa concentration.

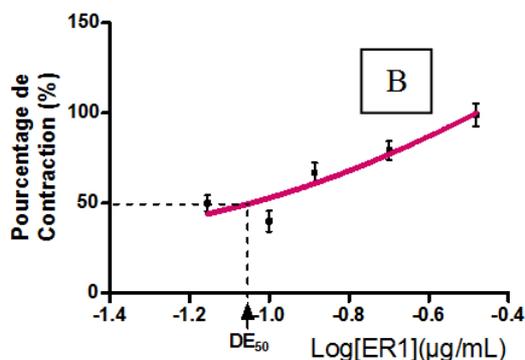
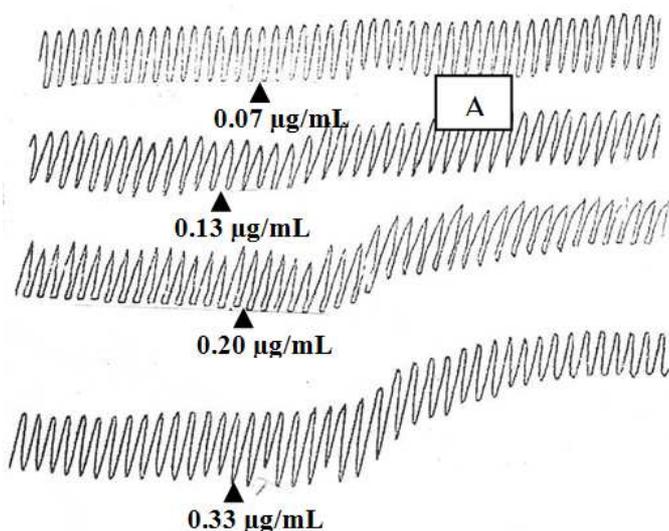


Figure 4 : Effet dose-réponse de ER2 sur les contractions rythmiques de l'intestin de lapin.

A-Effet de ER2 sur les contractions rythmiques de l'intestin de lapin.

B-Variation de la force de contraction en fonction de la concentration de ER2

Pour des concentrations allant de 0,07 µg/mL à 0,33 µg/mL, ER4 n'a aucun effet sur l'amplitude de contraction et le tonus de base du duodénum.

La figure 4A traduit l'effet de ER2 sur l'activité mécanique du duodénum de lapin. Pour des concentrations

comprises entre 0,07 µg/mL et 0,33 µg/mL, ER2 augmente le tonus de base qui se déplace vers le haut, ce qui traduit la contraction. La moyenne obtenue après 3 expériences, nous a permis de tracer la courbe exprimant la contraction du duodénum en fonction de la concentration de ER2 (fig. 4B)

à partir de laquelle nous avons déterminé la dose permettant d'obtenir la  $DE_{50}$  ( $0,16 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$ ). Le transit intestinal étant provoqué par la contraction de l'intestin, ER2 semble être la fraction la plus active.

En somme, ER2 contient un stérol, des triterpènes de type oléanane et ursane, des coumarines, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des anthraquinones. Nous soupçonnons ces phytosubstances être responsables par action conjuguée, de la contraction du duodénum observée. Le pouvoir laxatif de ER2 est comparable à celui de *Mareya micrantha* sur le muscle gastrique de *Bufo martnus* [14] et le duodénum de lapin; et de celui de *Swartzia madagascariensis* sur le duodénum de lapin [15]. Selon ces auteurs, l'effet pharmacologique est semblable à la contraction provoquée par l'acétylcholine sur le duodénum. En effet, au niveau de ce dernier, il existe des récepteurs muscariniques sur lesquels l'acétylcholine se fixe pour provoquer une série de réactions qui augmente la quantité de calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) cytosolique, responsable de l'augmentation du tonus et des contractions de l'intestin [16]. ER2 pourrait donc agir par le même mécanisme pour faciliter le transit intestinal.

## 6. Conclusion

Dans l'optique de valoriser les plantes médicinales à propriétés purgatives, notre choix s'est porté sur *Anchomanes difformis*. Le criblage phytochimique a montré que EF contient des flavonoïdes, composés réducteurs, alcaloïdes, stérols et terpènes et des protéines. Quant à ER, il est riche en coumarines, tanins catéchiques, saponosides, quinones, composés réducteurs, alcaloïdes, stérols et terpènes et des protéines. L'étude pharmacologique réalisée avec les deux extraits bruts sur le duodénum de lapin a démontré que seul ER est doué de propriétés purgatives parce qu'il induit une contraction à faible dose. Les études phytochimiques réalisées sur ER2 ont montré la présence de phytosubstances bio actives tels que les stérols, triterpènes de type oléanane et ursane,

coumarines, flavonoïdes, des alcaloïdes et des anthraquinones qui seraient selon nous, à l'origine de l'effet purgatif (contraction du duodénum) observé. Ce qui justifierait ainsi l'utilisation récurrente des rhizomes de *Anchomanes difformis* dans le traitement folklorique de la constipation en Côte d'Ivoire.

## Références

- [1] B. M. Camara, Médecine d'Afrique Noire, 46 (1999) 244-247
- [2] <http://fr.wikipedia.org/wiki/Constipation:21/06/2009>
- [3] M. Bayes. Contribution à l'activité anti-inflammatoire de la pulpe de *Balanites aegyptica* L. (Zygophyllaceae). Thèse de diplôme d'état en pharmacie, Université de Bamako, 1997, 67 p
- [4] E. Y. Ladiguina, L. N. Safronitch., V. E. Otrichenkova, I. A. Balandina, N. I. Grinkevitch. Analyse chimique des plantes médicinales, ed., Moskva, Vischaya Chkola, 1983, 172 p
- [5] A. Longaga Otshudi, A. Vercruyse, A. Foriers. J. Ethnopharmacol., 71 (2000) 411-423
- [6] N. Dohou, K. Yamni, S. Tahrouch, L. M. Idrissi Hassani, A. Badoc, N. Gmira, Bull. Pharm. Bordeaux, 142 (2003) 61-78
- [7] Y. A. Békro, J. A. Mamyrbekova-Békro, B. B. Boua, F. H. Tra Bi, E. E. Ehoun, Sciences et Nature, vol. 4, 2 (2007) 217-225
- [8] A. L. Yemoa, J. D. Gbenou, R. C. Johnson, J. G. Djego, C. Zinsou, M. Moudachirou, J. Quetin- Leclercq, A. Bigot, F. Portaels, Ethnopharmacologia, 42 (2008) 48-59
- [9] B. P. Georgivskii, N. F. Komissarenko, C. E. Dmitrou. Les composés bioactifs des plantes médicinales, ed., Nauka, 1990, 336 p.
- [10] [E. Merck. Révélateurs pour la chromatographie en couches minces sur papier. Merck. Darmstadt, 1975
- [11] H. Wagner, S. Bladt, E. Zgainski. Plant drug analysis, a thin-layer, chromatography atlas, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 2nd ed., New York, 1996, 320 p
- [12] [www3.interscience.com](http://www3.interscience.com): TH. Posternak, W. Alcalay, R. Luzzati, A. Tardent. Article sur les quinones dérivées du diphenyle formée par oxydation d'éthers de benzoquinones substituées, 2004
- [13] M. Dekker. Coumarins: analysis by TLC. Eyclopedia of chromatography, 2002
- [14] G. F. Guédé, C. S. Tsai, M. O. Smith, R. F. Ochillo, Afrique Biomédicale, 2 (1997) 17-22
- [15] F. Traore, T. Y. Soro, K. J. C. Abo, E. E. Ehilé. Revue Med. Pharm. Afr., 17 (2003) 73-87
- [16] P. Allain. Pharmacologie: les médicaments. CDM 3ème ed., 2000, 500 p.