

Sur une Lythracée malgache,
le *Woodfordia fruticosa* (L.) Kurz

XVIIIème COMMUNICATION SUR PLANTES MALGACHES

R. R. PARIS et H. JACQUEMIN *

Laboratoire de Matière médicale, Faculté de Pharmacie,
4 avenue de l'Observatoire, 75006, Paris, France

Reçu le 28 novembre 1975

29 AOUT 1977

* avec la collaboration de Mmes Risse-Ghirlanda, Le Van Kim, Jousset et Gedovius.

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° M 8670 B.B.V.

SUMMARY

The chemical composition of *Woodfordia fruticosa* (L.) Kurz, a *Lithraceae* very used in the Madagascar's popular medicine, has been studied. It contains flavonoids, tannins, and a little amount of alkaloids. At small doses it stimulates, while at large doses depress the central nervous system. Its action on the motility is scarce; it is more important in antagonizing some stimulant drugs as amphetamine and in enhancing the analgesic action of the barbiturates.

RIASSUNTO

È stata studiata la composizione chimica e la attività farmacologica della *Woodfordia fruticosa* (L.) Kurz, *Lithraceae* molto usata nella medicina popolare del Madagascar. L'analisi chimica ha dimostrato la presenza di flavonoidi, tannini e tracce di alcaloidi. I saggi farmacologici hanno messo in evidenza proprietà stimolanti a deboli dosi e sedative sul sistema nervoso centrale a dosi più elevate. L'azione sulla motilità è poco marcata; essa è più netta per quanto riguarda l'antagonismo verso sostanze eccitanti come l'amfetamina e il sinergismo coi barbiturici.

Au cours d'une étude, tant sur des *Lythracée* indigènes (*L. salicaria*)^{6,10} que sur des *Lythracées* exotiques (appartenant aux gens *Ammania*, *Nesaea*, *Pemphis* et *Rotala*²) et des expériences inédites avec A. LINARD (rapport ORSTOM-ANVAR), nous avons été amenés à examiner au point de vue chimique et pharmacologique une *Lythracée* très utilisée en médecine populaire à Madagascar.

Au point de vue botanique¹³, le *Woodfordia fruticosa* (L.) Kurz. (= *W. floribunda* Salisb.) est un arbrisseau toujours vert, très ramifié, de 1 à 2 m de haut. Les feuilles subsessiles, linéaires-lancéolées (4,5-5 cm x 0,8-1,5 cm) sont arrondies à la base, aiguës au sommet, blanchâtres, pubescentes et ponctuées de noir à la face inférieure; les fleurs, disposées en petites cymes, de 15-20 mm de long, sont colorées en rouge; les fruits, capsules incluses dans le réceptacle, contiennent de très nombreuses graines, petites, papilleuses à l'extérieur.

Cet arbrisseau dénommé 'Laumbohenza' ou encore 'piso-piso' en malgache, est très commun sur les collines sèches, entre 0 et 800 m d'altitude, mais seulement sur le versant ouest de la grande Ile, de Diego Suarez à Fort Dauphin. Il est très employé

en médecine populaire comme aphrodisiaque¹¹ mais aussi (décocté des parties aériennes) contre les uréthrites et les cystites¹².

Cette drogue a été peu étudiée au point de vue chimique. HECKEL³, en 1910, indique que les fleurs sont riches en tanin et que l'écorce a une forte teneur en gomme. Plus récemment, en 1959, PERNET¹¹ signale l'existence chez cette plante d'anthocyanes, de flavones et d'un corps phénolique soluble dans l'acétate d'éthyle, fournissant des cristaux jaunes.

Nous avons eu en notre possession, provenant de la mission Orstom à Tananarive, des échantillons de feuilles, des tiges et des racines récoltés en 1970 à Bekopala, et, d'autre part, un lot des mêmes organes, aimablement fournis par M. POUCHOL, pharmacien à Majunga.

Ces échantillons ont été soumis à des essais physico-chimiques préliminaires: suivant les techniques habituelles du laboratoire⁸ on a effectué sur des infusés (à 10 %) ou des teintures (au 1/5 dans l'alcool à 80°), soit des réactions (colorées ou de précipitation) en tube, soit des essais en chromatographie sur papier ou en couche mince avec des solvants et des révélateurs appropriés. On a ainsi constaté, avec les divers organes examinés (racines, tiges, feuilles), l'absence d'anthocyanes, d'alcaloïdes, d'hétérosides cyanogénétiques, de quinones et de saponosides, par contre les leucoanthocyanes et les tanins ont abondants, aussi bien dans les feuilles que dans les tiges et les racines; les flavonoïdes, absents des racines, existent en petite quantité dans les tiges et la teneur est relativement élevée dans les feuilles. Il s'agit donc d'une drogue riche en polyphénols, dont nous avons entrepris une étude plus approfondie.

Les *tanins* des feuilles ont été dosés par différentes méthodes (à la poudre de peau, au formol chlorhydrique, par colorimétrie avec l'acide phosphomolybdique). On a obtenu les chiffres suivants: poudre de peau chromée: 6,50 p. 100; formol chlorhydrique (R. de Stiasny): 5,40 p. 100; colorimétrie (Pharmacopée européenne et Pharmacopée française IX): 8,40 p. 100.

Pour les tiges et les racines, ne contenant que des tanins catéchiques, a été utilisée uniquement la méthode de Stiasny qui a fourni 0,85 p. 100 pour les tiges et 4,5 p. 100 pour les racines.

A été ensuite envisagée, l'identification des *acides-phénols* (ceux-ci ont été caractérisés après purification convenable⁵ en chromatographie sur couche mince de cellulose avec divers solvants: acide acétique à 2 %, HCl 0,1 N ou encore benzène-acétique, en utilisant comme révélateurs le chlorure ferrique ou la p-nitraniline⁵). Ils sont peu abondants à l'état libre; après hydrolyse alcaline, ont été mis en évidence les acides p-hydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique et gallique de la série benzoïque, et p-coumarique, caféique et férulique de la série cinnamique — sauf en ce qui concerne l'acide gallique, il y a une certaine homologie entre les deux séries d'acides, ce qui est conforme à l'hypothèse faisant dériver les acides benzoïques des acides cinnamiques.

Flavonoïdes: des essais préliminaires sur l'infusé (coloration rose avec le magnésium chlorhydrique) ont montré qu'il s'agissait de dérivés de flavonols.

Un dosage spectrophotométrique a été effectué après addition de chlorure d'aluminium. On a mesuré la densité optique à 430 nm. La teneur en flavonoïdes exprimée en rutoside est voisine de 2 g p. 100.

Identification des *génines*: celles-ci ont été obtenues après hydrolyse de l'extrait alcoolique par de l'acide sulfurique N pendant 2 heures au bain-marie bouillant — on épuise à trois reprises par l'éther —. Le résidu d'évaporation est analysé par chromatographie sur papier [solvants: acide acétique à 60 % et butanol acétique de Partridge] et par chromatographie sur couche mince de polyamide [solvant: eau-méthanol-méthyléthylcétone-acétylacétone 13-3-3-1 v/v; révélateurs: chlorure d'aluminium, chlorure ferrique et sous-acétate de plomb]. On obtient ainsi deux génines principales

qui, d'après les Rf et l'utilisation de témoins, ont été identifiées au kaempférol (trihydroxy-5,7,4' flavonol et au quercétol (tétrahydroxy-5,7,3',4' flavonol).

Cette identification a été confirmée après séparation en chromatographie préparative sur cellulose, avec l'acide acétique à 50 % et élution par l'alcool à 90°, par l'examen des spectres en lumière ultra violette dans l'alcool et en présence d'acétate de sodium, d'acide borique et de chlorure d'aluminium.

Enfin, quelques essais ont été faits en chromatographie sur papier ou en couche mince sur silice ou cellulose (solvants: acide acétique à 15 %, butanol acétique 4-1-5) avec l'extrait alcoolique repris par l'eau, afin de séparer les hétérosides flavoniques initiaux: d'après les Rf dans l'acide acétique à 15 % (0,15 à 0,60) et le butanol acétique (0,50 à 0,60), il s'agissait d'hétéromonosides et de biosides de kaempférol et de quercétol. Parmi ceux-ci, deux des substances se comportent comme le rutoside (quercétol 3-rhamnoglucoside) et le nicotifloroside (kaempférol-3 rhamnoglucoside).

Etant donné que des alcaloïdes ont été mis en évidence chez certaines Lythracées⁴ et bien que les essais préliminaires aient donné des résultats négatifs, nous avons repris ces expériences sur de plus grandes quantités de matières premières: 250 g de feuilles pulvérisées, imprégnées d'ammoniaque au demi, ont été épuisées à l'éther dans un appareil de Soxhlet. Les liqueurs éthérées concentrées ont été agitées à 3 reprises avec de l'acide sulfurique à 2,5 %. Celui-ci formait un léger louche avec les réactifs de Bouchardat, Mayer et Dragendorff. Après réalcalinisation par l'ammoniaque et épuisement à l'éther, est obtenu un résidu de l'ordre de 15 mg, soit une teneur de 0,060 p. 100. La plante ne contient donc que des traces d'alcaloïdes.

Au point de vue pharmacologique, a tout d'abord été envisagée la toxicité. La toxicité aiguë a été déterminée, soit à partir d'infusés des différents organes de *Woodfordia*, soit à partir de teintures (évaporées à sec et reprises par l'eau). On a procédé chez la souris par voie intrapéritonéale, la dose léthale 50 p. 100 pour les infusés est comprise entre 10 et 20 g/kg pour les racines et les tiges et se situe entre 5 et 10 g pour les feuilles. Elle est environ deux fois moindre (voisine de 10 g pour les racines, de 5 g pour les tiges et les feuilles) à partir de teintures: les préparations alcooliques sont donc relativement plus toxiques. Les feuilles et les tiges s'avèrent plus actives que les racines, ce qui est conforme à l'emploi en médecine populaire.

Au point de vue du comportement, il faut noter, peu de temps après l'injection, un certain effet stimulant (surtout marqué chez les souris mâles ce qui serait en rapport avec l'utilisation comme aphrodisiaque). Mais, par la suite, survient un état de prostration: les veines de la queue des souris deviennent apparentes, la peau est flasque, cyanosée, et le poil hérissé; les membres se paralysent peu à peu, les animaux sont froids au toucher, la mort survient lentement avec dépression respiratoire; on n'observe jamais de convulsions. On a essayé également de déterminer la toxicité de différents extraits préparés par la méthode des solvants successifs. L'extrait éthéro-pétrolique, même émulsionné, est difficile à injecter; il en est de même de l'extrait chloroformique. Les extraits par l'acétate d'éthyle ou l'acétone se sont montrés actifs, provoquant rapidement des effets de prostration, de cyanose et de paralysie. Mais ils sont aussi des toxiques, c'est pourquoi nous avons continué nos essais soit avec des extraits aqueux, soit avec des extraits alcooliques repris par l'eau chaude.

La drogue ayant montrée une action sédative, nous avons essayé ses effets sur différents tests couramment utilisés pour les dépresseurs du système nerveux central et les tranquillisants.

1) *action sur la motilité* - Les variations de celle-ci sous l'influence du *Woodfordia* ont d'abord été explorées à l'aide de la méthode dite des cages suspendues, l'appareil employé étant l'activographe de Krauthammer, déjà utilisé par l'un d'entre nous à propos de plantes tranquillisantes^{7,9}. La sensibilité est réglée de façon que les moindres mouvements de l'animal entraînent une oscillation verticale de la cage: le

nombre et l'amplitude des oscillations sont enregistrés par un totalisateur à l'aide d'un dispositif photoélectrique. Chaque souris, convenablement choisie, est placée pendant 20 minutes dans l'activographe et on note le nombre d'oscillations toutes les 5 minutes (les 5 premières minutes où les mouvements sont généralement plus nombreux, sont considérées comme mesure de la curiosité et ce sont les quinze minutes suivantes qui sont comptées arbitrairement comme mesure de la motilité). Les extraits sont injectés par voie intrapéritonéale 15 minutes avant la mise en cage, les témoins recevant la même quantité de soluté physiologique. Avec des doses d'extrait alcoolique correspondant à 5 g de drogue par kg, nous avons constaté en général une diminution des mouvements, mais si l'on fait une analyse de variance, les résultats ne sont pas significatifs. Nous avons alors utilisé une autre méthode, celle de la cage tournante: 30 minutes après l'administration de la plante, les souris sont placées individuellement dans une roue à axe horizontal (modèle Apelab) pendant un temps de 5 minutes. Le nombre de tours effectués pendant les 5 minutes est enregistré automatiquement. Les souris utilisées dans ces essais ont été des souris mâles d'un poids moyen de 20 g. Les extraits ont été administrés par voie orale, en suspension dans la carboxyméthyl-cellulose à 1 p. 100, sous un volume de 0,5 ml pour 20 g, les témoins reçoivent dans les mêmes conditions l'excipient. Les doses administrées correspondent environ à 2 et 5 g d'organe (racine, tige, feuille) par kg. Ici, par voie orale et avec des doses plus faibles, on constate une légère augmentation de la motilité spontanée, mais l'analyse de variance montre une différence non significative.

2) *Planches à trous*: Ce test, proposé par BOISSIER¹, explore la curiosité et l'activité des souris. Il doit s'effectuer dans des conditions bien déterminées (température, lumière, bruit); chaque animal n'est sorti de sa cage que pour l'administration de la drogue une demi heure avant l'essai — au moment du test, la souris est déposée au centre de la planche — on compte le nombre de fois où l'animal plonge la tête dans un trou pendant une durée de 5 minutes.

Avec les tiges et les feuilles de *Woodfordia*, il semble y avoir à la dose de 1 g/kg (correspondant à 5 g de plante) une diminution, non significative, du nombre de trous explorés.

3) En dehors de la motilité et de la curiosité, a été examinée l'action sur quelques réflexes, notamment sur le test de la traction, qui explore l'équilibre réflexe des souris; la capacité d'une souris à opérer son rétablissement en moins de 5 secondes est évaluée en la suspendant par les pattes antérieures à un fil horizontal. On utilise des animaux ayant effectué correctement ce test à l'état normal et on procède avec des lots de 10 souris; l'opération est effectuée 30 minutes après l'administration du *Woodfordia* (voie orale 0,50 et 1 g d'extrait par kg). Les réactions ont été sensiblement identiques à celles des témoins aux mêmes doses. Le *Woodfordia* n'a pas modifié non plus d'une façon nette le *test dit de la cheminée* (les animaux sont introduits la tête la première au fond d'une éprouvette de 125 ml (3 cm de diamètre), l'animal doit mettre moins de 30 secondes pour remonter à reculons).

4) Enfin, a été étudiée l'action du *Woodfordia* vis à vis des effets de certains réactifs pharmacologiques, en particulier l'antagonisme avec les excitants psychomimétiques (amphétamines) et la synergie avec des hypnotiques (barbituriques): 30 minutes après l'administration de *Woodfordia*, les souris reçoivent par voie intrapéritonéale du sulfate d'amphétamine (15 mg/kg). On observe la mortalité après 24 heures: les tiges et les feuilles de *Woodfordia* à la dose de 1 g d'extrait par kg amènent une nette diminution de la mortalité qui passe de 70 à 30 %. Notons également que cette drogue a un certain effet vis à vis de l'action convulsivante du pentatétrazol, produisant une diminution de la mortalité et une augmentation du temps de la 1.ère crise.

Enfin l'action est assez nette vis à vis de la potentialisation de la narcose barbiturique; le barbiturique (pentobarbital sodique) a été injecté par voie intrapéritonéale (30 mg/kg), 30 minutes après l'administration de *Woodfordia*. On a noté, pour chaque essai, le pourcentage de souris endormies (d'après la perte du reflexe de retournement) et le temps d'endormissement et de sommeil. Le calcul de « t » de Student pour un risque de 5 p. 100 donne un résultat significatif quant au temps de sommeil entre le lot témoin et le lot traité (tiges feuilles 0,50 g/kg); d'autre part les temps d'endormissement sont diminués significativement. Il existe également une augmentation du pourcentage de souris endormies en fonction du temps. Ces phénomènes sont moins marqués dans le cas des racines.

En résumé, a faible dose, le *Woodfordia* semble doué de propriétés stimulantes; à doses plus élevées, il se comporte surtout comme un sédatif du système nerveux central. L'action est peu marquée sur la motilité, elle est plus nette en ce qui concerne l'antagonisme avec les excitants comme l'amphétamine et la synergie avec les barbituriques.

Ces effets se retrouvent dans les extraits aqueux et alcooliques et aussi dans les extraits éthéro-acétique et acétonique, mais ceux-ci sont malheureusement assez toxiques. Les feuilles et les tiges feuillées paraissent constituer la partie la plus intéressante. Ce sont d'ailleurs elles qui sont utilisées en médecine populaire.

BIBLIOGRAPHIE

- 1) BOISSIER J.: *Thérapie*, 17, 1225, 1962.
- 2) FOURNIER G.: Contribution à l'étude de quelques plantes malgaches (Faculté de Pharmacie de Paris) - D.E.P.S., 1974.
- 3) HECKEL E.: *Annal. Inst. Col. Marseille*, VIII - 2ème série, 1910.
- 4) HEGNAUER R.: *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Tome IV, p. 441, Birkhäuser Verlag 1966.
- 5) PARIS R., MURGU L.: *Plantes méd. et Phyto*, 4, 138, 1970.
- 6) PARIS M.: Contribution à l'étude biochimique de la Salicaire. *Thèse Doct. Etat (Pharm.)*, Paris, 1967.
- 7) PARIS R.: *Annal pharm. franç.*, 21, 389, 1963.
- 8) PARIS R., NOTHIS A.: *Plantes méd. et Phyto*, 4, 63, 1970.
- 9) PARIS R., MOURY J.: *Thérapie*, 18, 1187, 1963.
- 10) PARIS R.R., PARIS M.: *C.R. Ac. Sc.*, 258, 361, 1964.
- 11) PERNET R.: *Bull. Inst. Sc. Madagascar*, Tananarive 1959, p. 273.
- 12) PERNET R., MAYER G.: *Inst. recherche Scientifique*, Tananarive p. 180 et 190, 1957.
- 13) PERRIER DE LA BATHIE H.: *Lythracées (147°-famille) dans Flore de Madagascar*, Muséum d'Histoire naturelle, Paris, 1954.