

Effets vasodilatateurs d'extraits aqueux de *Tabernanthe iboga* sur le muscle lisse aortique et comparaison avec l'association perindopril-amlodipine

Bourobou Bourobou H.P.^{1*} ; Mathouet H.¹ ; Akendengue B.² ; Ella Mendene F.H.¹ ; Mba Ndong J.G.¹ ; Bayissi B.¹.

¹ Institut de Pharmacopée et de médecine Traditionnelles (IPHAMETRA)

² Université des Sciences de la santé. Libreville, Gabon

Date de réception : 27 janvier 2014 ; Date de révision : 10 juillet 2014 ; Date d'acceptation : 10 août 2014

Résumé :

Tabernanthe iboga Bail. (Apocynaceae) est une plante utilisée traditionnellement au Gabon pour lutter contre la l'asthénie physique, la dépression nerveuse et pour ces vertus aphrodisiaques. Le présent travail a consisté à comparer les effets vasodilatateurs aqueux de *Tabernanthe iboga* sur le muscle lisse aortique avec l'association perindopril-amlodipine médicament utilisé pour lutter contre l'hypertension artérielle. Les résultats ont montré qu'aux concentrations de 0,5, 1 et 1,5 mg/mL, l'extrait aqueux de *T. iboga* entraîne une vasorelaxation concentration-dépendante sur l'aorte isolée de Rat précontracté avec une solution hypertonique de KCl (40 mM). Le pourcentage de relaxation induit par l'extrait est de l'ordre de 100 à 112% avec une concentration d'inhibition de 0,84 mg/mL. Ces résultats vont dans le même sens que ceux observés par d'autres auteurs qui ont mis en évidence les effets vasorelaxants de la *Tabernanthine*, alcaloïde de *T. iboga*. La comparaison de l'effet de l'extrait brut de *T. iboga* avec celui de l'association perindopril-amlodipine, aux mêmes concentrations cumulées, a montré que même si l'extrait aqueux relâchait plus rapidement le muscle lisse aortique que l'association perindopril-amlodipine, il n'en demeure pas moins qu'il n'y a pas à proprement parler de différence significative entre l'action de l'extrait aqueux de *T. iboga* et celle de l'AP ($P < 0,05$). La présente étude qui a permis de démontrer l'effet vasorelaxant de l'extrait aqueux de *T. iboga* comparé à celui de l'association perindopril-amlodipine pourrait nous amener à utiliser la plante entière pour la fabrication d'un phytomédicament pour lutter contre l'hypertension artérielle.

Mots clés : Hypertension artérielle, *Tabernanthe iboga*, Périndopril, amlodipine, Muscle lisse aortique, Gabon.

Comparing of the vasodilatation effect of an aqueous extract of *Tabernanthe iboga* on the aorta smooth muscle with the perindopril-amlodipine association.

Abstracts :

Tabernanthe iboga Bail. (Apocynaceae) is a plant traditionally used in Gabon for fatigue, nervous breakdown, and for its aphrodisiac virtues. The present study consisted in comparing the Vasodilatation effect of an aqueous extract of *Tabernanthe iboga* on the aorta smooth muscle with the perindopril-amlodipine association, medicine used to fight against high blood pressure. The results showed that the concentrations of 0.5 and 1.5mg/ml, of the aqueous extract induced a concentration dependent vasorelaxation of the isolated aorta of rat, precontracted with a KCl hypertonic solution (40mM). The percentage of relaxation induced by the extract was of 100 to 112 % with an inhibition concentration of 0,84 mg/ml. These results are in accordance with those observed by other authors who also showed the vasorelaxant effects of *Tabernanthine*, one of the many alkaloids of *iboga*. The comparison of the effect of raw extract of *T. iboga* with that of the perindopril-amlodipine association, with the same accumulated concentrations, showed that even if the aqueous extract released more rapidly the aorta smooth muscle than the perindopril-amlodipine association, there is, strictly speaking, no significant difference between the effect the aqueous extract of *T. iboga* and that of the AP association ($P < 0,05$). The present study shows that the vasorelaxant effect of the aqueous extract of *T. iboga* compared to that of the AP association could bring us to use the whole plant as a raw material for the production of Plant Medicines to fight against hypertension

Keywords : High blood pressure, *Tabernanthe iboga*, Perindopril, amlodipine, aorta smooth muscle, Gabon.

Introduction

Tabernanthe iboga (ou *Iboga*) est un arbuste, appartenant à la famille des Apocynaceae pouvant atteindre plus de quatre (4) mètres de hauteur par endroits. *T. iboga* est originaire d'Afrique Centrale où son aire de répartition s'étend du Sud-Cameroun, Guinée-Equatoriale, République Démocratique du Congo au Congo Brazzaville. *T. iboga* est largement utilisée par les populations gabonaises pour ses vertus médico-magiques, notamment par les initiés pratiquant le Bwiti (Walker et Sillans, 1961). En effet, parmi

les initiés, de nombreuses personnes consomment régulièrement l'*iboga* pendant les rites. Par ailleurs *Tabernanthe iboga* est également utilisée en médecine traditionnelle comme fébrifuge, aphrodisiaque, anti-asthénique, etc (Bourobou Bourobou, 2008). Aujourd'hui, l'hypertension artérielle est devenue un facteur de risque cardiovasculaire majeur représentant un problème de santé publique pour les populations africaines. Au Gabon, la prévalence est d'environ 25 à 30% (Kearney *et al*, 2004).

(*) Correspondance : Bourobou Bourobou H.J. ; e-mail : henribourobou@yahoo.fr ; tél. : (+241) 07380314

Des travaux scientifiques décrivent l'action de *T. Iboga* sur le système cardio-vasculaire (Glick *et al.*, 2001 ; Mash *et al.*, 2001) et les effets vasorelaxants de la tabernanthine, alcaloïde isolé de la plante (Miller *et al.*, 1983 ; Hajo-Tello *et al.*, 1985). Le présent travail a pour objet d'étudier l'action pharmacologique de l'extrait brut

Matériels et méthodes

Matériel végétal : Les racines de *T. iboga* provenant des étales d'un tradipraticien de santé ont été identifiées par les botanistes de l'Herbier National du Gabon à partir des échantillons n°927 (19 Février 2006) et n°1636 (4 Juillet 2006).

Animaux : Des rats adultes albinos de type Wistar (*Rattus Norvegicus*) provenant de l'animalerie de l'institut de Pharmacopée et de Médecine Traditionnelles (IPHAMETRA) et pesant entre 250 et 300g ont été utilisés. Ils sont élevés dans des conditions normales de température (24 à 28° C) avec accès à l'eau et nourriture appropriée.

Préparation de l'extrait aqueux de T. Iboga : Les écorces de racines ont été séchées à température ambiante puis broyées. Une quantité de 100 g de poudre a été soumise à macération dans l'eau pendant 48 heures. Après filtration, le soluté a été congelé pendant 48h puis lyophilisées durant 72 heures (CHRIST BETA 1-8 K, BIOBLOCK SCIENTIFIC, USA). Une quantité de 5,42g d'extrait brut aqueux des écorces de racines a été obtenue et stockée dans une cloche à dessiccation.

Substances et solutions utilisées : L'extrait brut de *T. Iboga* (Ib) a été dilué dans l'eau distillée pour obtenir des concentrations de 5 mg/mL, 10 mg/mL et 15 mg/mL. Les tests ont été effectués en utilisant 1 mL de chacune de ces concentrations pour obtenir des concentrations finales respectives de Ib₁ (0,5 mg/mL), Ib₂ (1 mg/mL) et Ib₃ (1,5 mg/mL) dans les cuves à organes isolés. Le chlorure de potassium (KCl, 40 mM) (VWR Prolabo, Leuven, Belgique), l'acétylcholine (Ach, 2.10⁻⁵ mM) (Alpha Aesar, Karlsruhe, Allemagne), l'adrénaline (Adre, 10⁻⁶ mM) (Alpha Aesar, Karlsruhe, Allemagne) ont été préparés par dissolution dans l'eau distillée. L'association (AS) péridopril-amlodipine (COVERAM® 10 mg/10 mg) a été diluée pour obtenir des concentrations dans les cuves à organes isolés de AS₁ (0,5mg/mL), AS₂ (1mg/mL) et AS₃ (1,5mg/mL).

Dissection de l'aorte : Le rat est préalablement anesthésié avec de l'uréthane 20 % (Molekula, Shaftesbury, Dorset, UK) à 1 g/kg de masse corporelle (Konan *et al.*, 2006) puis sacrifié par

aqueux de *T. iboga* sur l'activité contractile du muscle lisse de l'aorte descendante du Rat et de les comparer à ceux de l'association de deux molécules pharmaceutiques utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle au Gabon à savoir le péridopril et l'amlodipine.

exsanguination suite à la section de la carotide. L'aorte descendante est prélevée après une thoracotomie puis mise dans une boîte de pétri contenant une solution physiologique de McEwen, et sectionnée en segments de 3 à 5 mm de long. Les tests sont effectués sur des organes frais.

Mesure de l'activité contractile du muscle lisse aortique :

Appareillage : Le dispositif est composé de deux cuves à organes isolés de 10mL reliées d'une part à un oxygénateur, et d'autre part à un bain-marie thermostaté (LAUDA, Ecoline Staredition - UL Laboratory Equipment, Allemagne) qui servent respectivement à oxygéner (95% O₂, 5% CO₂) et à maintenir à 37°C la température du liquide physiologique dans lequel baignent les segments d'aorte. Les jauges de contrainte (transducteurs) de type F30 HSE 372 reliées aux segments par des fines tiges métalliques, recueillent de façon isométrique leurs activités mécaniques, lesquelles sont amplifiées par un amplificateur (Hugo SACHS ELECTRONIK HARVARD APPARATUS D 79232 March Allemagne). L'enregistrement est réalisé par un polygraphe de type RIKADENKI qui permet de visualiser sur un papier les phénomènes contractiles.

Mode opératoire : Les segments aortiques immergés dans les cuves à organes isolés et contenant la solution physiologique de McEwen (Composition en M : 130 NaCl, 5,63 KCl, 0,93 NaH₂PO₄, 0,24 MgCl₂, 5,52 CaCl₂, 11,9 NaHCO₃, 11 glucose, pH=7,4) sont suspendus aux tiges métalliques reliées aux jauges de contrainte. Les segments sont soumis à une tension de 1g pendant une heure, puis précontractés avec de l'adrénaline (0.25.10⁻² mg/mL) pour vérifier la réactivité des anneaux. Trente minutes après le lavage des cuves, les vaisseaux sont contractés à nouveau avec de l'adrénaline (0.25.10⁻² mg/mL) (Kane *et al.*, 2009). Après obtention du plateau de contraction, de l'acétylcholine (2.10⁻⁵ mM) est ajoutée pour vérifier la présence d'endothélium fonctionnel caractérisée par une relaxation de 80%. Enfin, 30 minutes après lavage du KCl (40 mM) est ajouté dans la cuve pour contracter le

muscle lisse. Les substances et/ou solutions testées à différentes concentrations sont ajoutées lors de la phase de plateau de contraction pour voir leur effet relaxant éventuel sur le muscle lisse aortique.

Analyses statistiques : Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm E.S.M

(Erreur Standard sur la moyenne) pour n observations. Les valeurs ont été analysées en se servant du test t-Student et du one-way ANOVA. La différence entre les moyennes est considérée statistiquement significative au seuil de 5% ($P < 0.05$). Les courbes ont été tracées avec GraphPad Prism 5.

Résultats

Activité contractile de *T. Iboga* sur l'aorte isolée de Rat : L'extrait aqueux de *T. iboga* induit une relaxation du muscle lisse précontracté avec du

KCl à 40 mM de plus de 100% ($111,918\% \pm 8,13$) aux doses cumulées de 0,5, 1 et 1,5 mg/mL (tableau 1).

Tableau 1 : Activité contractile des extraits de *T. iboga* (0,5mg/mL, 1mg/mL, 1,5 mg/mL) sur le muscle lisse de l'aorte de Rat après contraction avec du KCl (40 mM).^a $P < 0,05$ vs. ^b; ^a $P < 0,05$ vs. ^c; ^b $P < 0,05$ vs. ^c. Test t-Student apparié.

Extrait de <i>T. Iboga</i>	% Relaxation
Ib ₁ (0,5mg/mL)	6,466 \pm 1,542 ^a
Ib ₂ (1mg/mL)	76,492 \pm 17,502 ^b
Ib ₃ (1,5mg/mL)	111,918 \pm 8,12 ^c

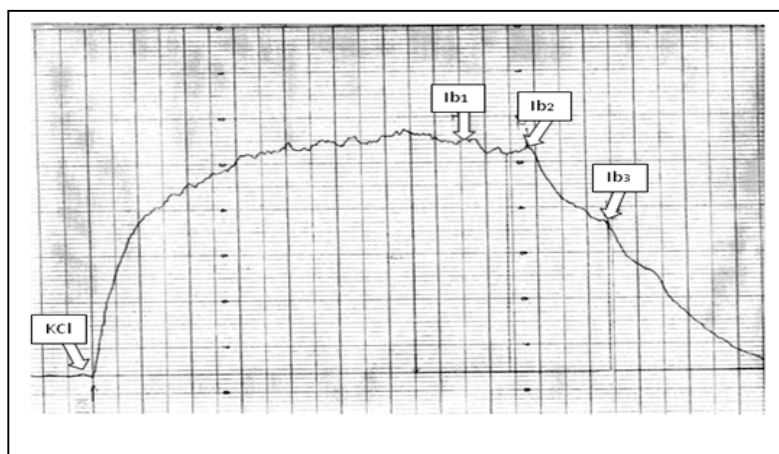


Figure 1 : Enregistrement de l'effet relaxant de l'extrait aqueux de *T. Iboga* sur le muscle lisse aortique de Rat de type Wistar précontracté avec du KCl (40 mM) Ib1 : 0,5 mg/mL; Ib2: Concentration de 1mg/mL; Ib3: Concentration de 1.5mg/mL.

Action de l'association périndopril-amlodipine sur l'activité contractile de l'aorte isolé de rat : L'association périndopril-amlodipine induit une relaxation (80.037 ± 18.554) du muscle lisse

précontracté avec du KCl à 40mM aux concentrations cumulées figurant dans le tableau 2.

Tableau 2 : Action de l'association périndopril-amlodipine (0,5mg/mL, 1mg/mL, 1,5mg/mL) sur le muscle lisse de l'aorte de Rat après contraction avec du KCl (80mM).^a $P < 0,05$ vs. ^b; ^a $P < 0,05$ vs. ^c; ^b $P < 0,05$ vs. ^c. Test t-Student apparié.

Traitement	% relaxation
AS ₁ (0,5mg/mL)	1,94 \pm 0,079 ^a
AS ₂ (1mg/mL)	13,790 \pm 3,128 ^b
AS ₃ (1,5mg/mL)	80,037 \pm 18,554 ^c

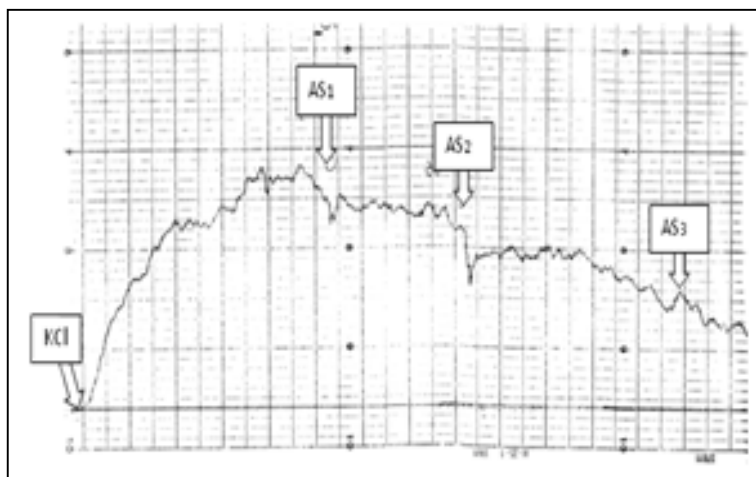


Figure 2 : Tracé de l'effet relaxant de AS sur le muscle lisse aortique de rat de type Wistar précontracté avec du KCl (40mM). AS1 : 0,5mg/mL ; AS2 : 1mg/mL ; AS3 : 1,5mg/mL.

Etude comparative des effets relaxants de *T. iboga* et de l'association périndopril-amlodipine : Les résultats obtenus montrent que pour les mêmes concentrations, l'extrait aqueux

de *T. iboga* entraîne un relâchement plus marqué du muscle lisse aortique comparé à l'association périndopril-amlodipine (figure 3).

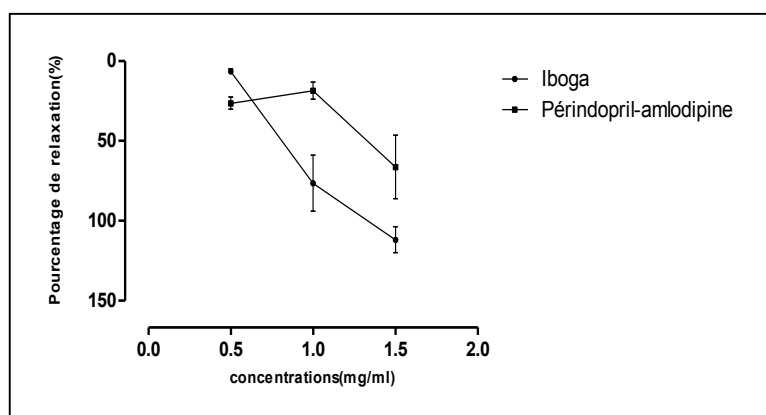


Figure 3 : Effets Comparaison de l'effet relaxant sur le muscle lisse aortique de *T. iboga* avec celui de l'association périndopril-amlodipine. Valeurs exprimées en moyenne plus ou moins erreur standard sur la moyenne (E.S.M.).

Discussion et conclusion

Dans cette étude nous avons démontré d'une part, les effets vasorelaxants in vitro de l'extrait aqueux de *T. Iboga*, avant de comparer ces propriétés à celles de l'association périndopril-amlodipine, d'autre part.

Les résultats ont montré qu'aux concentrations de 0,5, 1 et 1,5 mg/mL, l'extrait aqueux de *T. Iboga* entraîne une vasorelaxation concentration-dépendante sur l'aorte isolé de Rat précontracté avec une solution hypertonique de KCl (40 mM). Le pourcentage de relaxation induit par l'extrait est de l'ordre de 100 à 112% avec une concentration d'inhibition de 0,84 mg/mL. Ces

résultats vont dans le même sens que ceux observés par Miller (Miller *et al.*, 1983) et Hajo-Tello (Hajo-Tello *et al.*, 1985) qui ont mis en évidence les effets vasorelaxants de la tabernanthine, alcaloïde de *T. Iboga*. En effet, la tabernanthine conduit à la vasorelaxation par inhibition des canaux calciques et intervient dans les mouvements du calcium intracellulaire (ions Ca^{2+}). Ainsi, la vasorelaxation observée à partir de l'extrait aqueux de *T. Iboga* peut être liée à la présence de cet alcaloïde. La comparaison de l'effet de l'extrait brut de *T. Iboga* avec celui de l'AS, aux mêmes

concentrations cumulées, a montré que même si l'extrait aqueux relâchait plus rapidement le muscle lisse aortique que l'AS, il n'en demeure pas moins qu'il n'y a pas à proprement parler de différence significative entre l'action de l'extrait aqueux de *T. Iboga* et celle de l'AS ($P > 0,05$). La présente étude qui a permis de démontrer l'effet vasorelaxant de l'extrait aqueux de *T. Iboga* pourrait nous amener à utiliser la plante pour la fabrication d'un phytomédicament pour lutter contre l'hypertension artérielle. Face à ce constat, il devient intéressant de poursuivre nos investigations sur l'extrait aqueux de *T. Iboga* pour avoir plus de détails sur ses mécanismes d'action, même si l'hypothèse de l'inhibition des canaux calciques reste plus plausible en se référant aux travaux effectués sur la tabernanthine. Toutefois, sachant que *Tabernanthe iboga* compte plusieurs composés chimiques (Alper et al., 2001), dont la

tabernanthine, son action vasorelaxante pourrait probablement être due à la présence d'autres alcaloïdes. Cependant, l'action vasorelaxante de *T. iboga* selon un mécanisme d'inhibition de l'enzyme de conversion de certaines de ses alcaloïdes n'est pas à exclure. Ce mécanisme qui intervient au niveau des cellules du muscle lisse aortique par inhibition de la synthèse de l'angiotensine II puissant vasoconstricteur (Ondetti et al., 1977), et qui est exercé par le périmopril sera étudié ultérieurement sur l'extrait aqueux de *T. Iboga*. Toutefois, ces études menées in vitro sur le muscle lisse aortique n'ont pu mettre en évidence que l'effet pharmacologique de l'extrait aqueux de *Tabernanthe iboga* lequel ne présage pas forcément de l'effet thérapeutique. C'est pour cela que des études ultérieures doivent être réalisées in vivo.

Références

- Alper, K.R., 2001. Ibogaine : a review. The alkaloids. *Chemistry and Biology* 56 : 1-38.
- Bourobou Bourobou H.P., 2008. *Tabernanthe Iboga* Bail. In Prota, Plantes médicinales. Ressources végétales de l'Afrique tropicale 11 (1) : 670-675.
- Ghiadoni L, 2011. Perindopril for the treatment of hypertension. *Expert Opin Pharmacother*. 12(10):1633-42.
- Glick SD, Maisonneuve IM, Szumlinski KK, 2001. Mechanisms of action of ibogaine : relevance to putative therapeutic effects and development of a safer iboga alkaloidcongener, The Alkaloids. *Chemistry and Biology* 56: 39-53.
- Hajo-Tello N, Dupont C, Wepierre J, Cohen Y, Miller R, Godfraind T, 1985. Effects of tabernanthine on calcium and catecholamine stimulated contractions of isolated vascular and cardiac muscle. *Arch Int Pharmacodyn Ther*. 276(1):35-43.
- Kane MO., SARR M., Gueye PM., Ndiaye CAB., Diaw M., Ba A., Sar FB., Sall/Diallo A., 2009. Effets relaxants vasculaires d'un extrait hydroalcoolique d'écorce de *Parkia biglobosa* (mimosaceae). 2: 90901.
- Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Whelton PK, He J. 2004. Worldwide prevalence of hypertension : a systematic review. *J Hypertens*. 22(1):21-4 .
- Mash DC, Kovera CA, Pablo J, Tyndale R, Ervin FR, Kamlet JD, Hearn WL, 2001. Ibogaine in the treatment of heroin withdrawal, The Alkaloids. *Chemistry and Biology* 56: 155-171.
- Mason RP., Marche P., Hintze TH., 2003. Novel vascular biology of third-generation L-type calcium channel antagonists: ancillary actions of amlodipine. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 23(12):2155-63.
- Miller RC, Godfraind T, 1983. The action of tabernanthine on noradrenaline-stimulated contractions and ^{45}Ca movements in rat isolated vascular smooth muscle. *Eur J Pharmacol*. 96(3-4): 251-9.
- Ondetti MA., Rubin B., Cushman DW., 1977. Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme: new class of orally active antihypertensive agents. *Science*. 196:441-4.