

# ACTIVITÉ CURARISANTE D'UN STRYCHNOS AFRICAIN : *LE STRYCHNOS USAMBARENSIS* Gilg DU RWANDA

par

L. ANGENOT (\*), A. DENOËL (\*) et M. GOFFART (\*\*)

Ces dernières années, l'intérêt des recherches phytochimiques et pharmacologiques sur les *Strychnos* africains s'est ravivé. Ce fait est d'autant plus heureux que la révision taxonomique du genre *Strychnos* en Afrique vient d'être terminée récemment (5). Parmi les 75 espèces que LEEUWENBERG a relevées, une seule est renseignée dans la littérature pour ses propriétés curarisantes.

C'est en 1951 que DENOËL et DALLEMAGNE avaient signalé l'action curariforme d'alcaloïdes extraits de certains échantillons d'écorces de racines de *Strychnos angolensis* provenant du Congo (Kinshasa) (4).

Cette observation avait été contestée par MARINI-BETTOLO qui n'avait pu retrouver cette activité dans d'autres échantillons de cette même espèce de *Strychnos* (6).

La cause de ces résultats contradictoires n'est pas encore déterminée. S'agit-il d'une plante dont le contenu alcaloïdique varie suivant la région ou l'époque de la récolte ou plus simplement d'une détermination botanique inexacte?

Ayant mis en évidence la présence d'alcaloïdes quaternaires à activité curarisante dans le *Strychnos usambarensis*, nous espérons que des expériences reprises sur d'autres *Strychnos* dont le *Strychnos angolensis* permettront de préciser les espèces curarisantes (1).

---

(\*) Laboratoire de Pharmacognosie de l'Université de Liège (Dir. : Prof. A. DENOËL), rue Fusch, 5, B-4000 Liège.

(\*\*) Laboratoire de Physiologie de l'Université de Liège (Prof. M. GOFFART), place Delcour, 17, B-4000 Liège.

## MATÉRIEL VÉGÉTAL

Des échantillons d'écorces de racines de *Strychnos usambarensis* Gilg (famille des Loganiacées) ont été récoltés le 24 juillet 1969, au Rwanda par M. G. BOUXIN, botaniste et l'un des auteurs (L.A.). L'identité du *Strychnos usambarensis* (nom kinyarwandais : UMUHOKO) a été confirmée par le Dr TROUPIN, comparativement aux spécimens d'herbier ci-après : TROUPIN 7484 (Bruxelles), 8691 (Bruxelles et Wageningen).

Le *Strychnos usambarensis* est distribué en Afrique Tropicale et dans le Nord de l'Afrique du Sud. En Afrique Occidentale et au Congo, il se présente sous forme d'une plante grimpante (arbuste ou liane); en Afrique Orientale et en Afrique du Sud, il peut aussi se rencontrer sous cette forme mais plus souvent, il s'agit de petits arbres de 5 à 10 m de haut (5). Les échantillons que nous avons ramenés proviennent de tels arbres peuplant une forêt xéro-mésophile située au Sud du lac Ihéma dans le Parc National de l'Akagera (Rwanda).

## OBTENTION DES FRACTIONS ALCALOÏDIQUES

Afin de fractionner les alcaloïdes en tertiaires et quaternaires, nous avons suivi le procédé utilisé par DELLE MONACHE et MARINI-BETTOLO dans leurs recherches sur les *Strychnos* Sud-Américains (3). La poudre d'écorces de racines est percolée par l'acide acétique jusqu'à l'épuisement en alcaloïdes.

La solution acétique, amenée à pH 8, est traitée par du chlorure de méthylène qui extrait les alcaloïdes tertiaires : Fraction alcaloïdique T (rendement : 1,35 %).

La solution alcaline est réacidifiée à pH 2 par HCl concentré et les alcaloïdes quaternaires sont précipités par une solution saturée d'acide picrique. Les picrates d'alcaloïdes sont transformés après passage sur résine échangeuse d'ions (Amberlite IRA 400, activée par HCl 2 N) en chlorhydrates d'alcaloïdes quaternaires : Fraction alcaloïdique Q (rendement : 1,1 %).

Cette dernière fraction, soumise à des chromatographies dans les solvants C et D de KARRER et SCHMID, laisse apparaître une dizaine d'alcaloïdes révélables par le réactif de Dragendorff et par les réactifs habituels des curarines (notamment le réactif au sulfate cérique) (7).

Les constantes chromatographiques de ces différents alcaloïdes ainsi que leur isolement et leur analyse feront l'objet de prochaines publications.

## EXPÉRIMENTATION PHARMACOLOGIQUE

La fraction alcaloïdique quaternaire Q injectée en solution aqueuse à la dose de 50  $\mu\text{g}$  dans le sac lymphatique ventral de grenouilles d'un poids moyen de 30 g, détermine l'apparition d'une paralysie très accentuée; le corps devient flasque, mou et ne réagit plus aux excitations.

Afin de vérifier que ce mélange d'alcaloïdes quaternaires possède bien la propriété de bloquer la transmission à la jonction neuro-musculaire, des expériences ont été réalisées sur la grenouille et sur le rat, tant *in vivo* qu'*in vitro*.

A ce stade de notre investigation, seul l'aspect qualitatif a été envisagé, sans rechercher la dose-seuil, ni comparer l'activité de ces alcaloïdes avec celle de curarisants classiques.

1° La technique de Claude BERNARD a été adoptée pour l'expérimentation chez *Rana temporaria*. Après section du nevraxe à la base du crâne, le nerf sciatique est isolé au milieu de la cuisse d'une des pattes postérieures et entouré d'un tampon d'ouate imbibé de liquide de Ringer.

Un garrot passé sous le nerf interrompt toute circulation dans la périphérie du membre, tout en maintenant l'intégrité fonctionnelle du sciatique. Les 50 à 100  $\mu\text{g}$  (Fraction Q) injectés dans le sac lymphatique dorsal de la grenouille seront donc distribués par la circulation dans tout l'organisme, sauf dans l'extrémité de la patte garrotée.

En quelques minutes, la grenouille perd la capacité de maintenir son attitude normale, le tronc prenant appui sur les membres antérieurs en extension. Elle s'effondre et ses membres sont flasques sauf la patte garrotée qui conserve sa position normale, en flexion. L'excitation mécanique des pattes qui ont subi l'action des alcaloïdes n'est pas suivie de réflexe de rétraction de ces pattes bien que les muscles de celles-ci continuent à répondre à une excitation directe. Par contre, l'excitation tactile de la patte garrotée ou de la patte contralatérale provoque des réactions motrices dans la patte qui n'a pas été soumise à l'action des alcaloïdes du Strychnos.

Ceci démontre que la sensibilité cutanée, la conduction nerveuse dans les fibres sensibles, dans la moëlle, dans les fibres motrices et les muscles eux-mêmes ne sont pas influencées de manière appréciable par les alcaloïdes injectés. L'activité de ceux-ci est localisée spécifiquement à la jonction neuro-musculaire.

2° Le muscle grand droit de l'abdomen de grenouille — *rectus abdominis* de *Rana temporaria* —, isolé dans un bain de liquide de Ringer oxygéné, subit un raccourcissement isotonique soutenu si on réalise dans ce bain une concentration d'acétylcholine de  $5.10^{-7}$  g/ml. L'acétylcholine excite les nombreuses plaques motrices situées à la surface de ces fibres musculaires striées lentes. Les réponses successives sont d'amplitude

constante. Les alcaloïdes du *Strychnos usambarensis* à la concentration de  $8.10^{-6}$  —  $1.10^{-5}$  suppriment toute réponse à l'acétylcholine. La fibre musculaire reste cependant fonctionnelle puisqu'elle est encore susceptible de se contracter si on la dépolarise par le KCl. Le bloc de la réponse à l'acétylcholine est réversible quand on soumet la préparation à des lavages répétés. Toutefois dans nos conditions d'expérience, le retour à la normale n'est obtenu qu'en 1 1/2 à 2 heures.

3° Des préparations isolées nerf phrénique — diaphragme de rat ont été réalisées suivant la technique de BÜLBRING (2). Une concentration de  $1-3.10^{-5}$  de la fraction Q abolit rapidement la réponse à la stimulation indirecte alors que le muscle conserve ses propriétés contractiles s'il est stimulé directement. Cet effet est rapidement et complètement réversible par lavage de la préparation. L'utilisation répétée de ces alcaloïdes sur une même préparation permet de constater que le bloc complet peut être obtenu par des doses plus faibles que celle qui avait été nécessaire lors de la première application. Au cours du développement progressif du bloc neuro-musculaire, l'ésérine  $5.10^{-6}$  augmente la réponse mécanique à l'excitation nerveuse et diminue donc le bloc de transmission au niveau de la plaque motrice.

4° Nous avons enregistré la contraction isométrique maximale des muscles gastrocnémien et tibial antérieur de rats anesthésiés au nembutal. Ces muscles étaient stimulés par le nerf sciatique toutes les 10 secondes. L'injection intra-veineuse de  $170 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  d'animal de la fraction Q produit très rapidement l'abolition de la réponse à la stimulation indirecte. Les mouvements thoraciques cessent et la respiration artificielle doit être installée. Ces effets sont spontanément et totalement réversibles. L'administration subséquente de plus petites doses du produit ( $50 \mu\text{g}/100 \text{ g I.V.}$ ) produit les mêmes effets.

Au cours de l'établissement d'un bloc incomplet de la transmission neuro-musculaire, l'interpolation d'un tétanos d'une durée de 10 secondes à la fréquence de 120/sec. diminue le bloc de façon spectaculaire.

Le tétanos lui-même ne développe pas plus de tension qu'une secousse musculaire simple et il est très mal soutenu. L'injection I.V. de  $300 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  d'ésérine provoque aussi une suppression progressive, rapide et totale du bloc.

Ces diverses caractéristiques donnent à penser que les alcaloïdes quaternaires du *Strychnos usambarensis* possèdent une action de type d-tubocurarine et que le mécanisme du bloc de la transmission neuro-musculaire ne ressemble pas à celui de curarisants par dépolarisation comme le decamethonium.

## CONCLUSIONS

Les résultats que nous avons obtenus font ressortir l'existence indubitable d'alcaloïdes quaternaires curarisants dans un *Strychnos* africain, élément qui revêt une certaine importance quand on sait que certains auteurs pensaient que les alcaloïdes quaternaires curarisants — type C-curarine — étaient l'apanage des seuls *Strychnos* Sud-Américains et doutaient de la présence de ces alcaloïdes dans les *Strychnos* africains.

### Remerciements.

Nous exprimons toute notre gratitude au Prof. L. CAHEN, Directeur du Musée Royal de l'Afrique Centrale à Tervuren et au Prof. P. DEUSE, Directeur de l'Institut National de Recherche Scientifique à Butare (République Rwandaise), qui ont autorisé l'un d'entre nous à rejoindre la mission scientifique botanique dirigée par le Dr TROUPIN.

Reçu en janvier 1970.

### Résumé

Les écorces de racines de *Strychnos usambarensis* Gilg du Rwanda (Afrique Centrale) renferment une dizaine d'alcaloïdes quaternaires dont l'activité curarisante a été mise en évidence après expérimentation sur la grenouille et sur le rat, tant *in vivo* qu'*in vitro*, ce qui constitue une preuve irréfutable de la présence d'alcaloïdes quaternaires curarisants — type C-Curarine (curare en calebasse) dans une espèce de *Strychnos* non sud-américaine.

### Samenvatting

De bast van de wortels van *Strychnos usambarensis* Gilg van Rwanda (Centraal Afrika) bevat een tiental kwaternaire alkaloiden waarvan de curariserende activiteit kon worden aangetoond, na proefnemingen op kikkers en ratten, zowel *in vivo* als *in vitro*. Hierdoor werd een onweerlegbaar bewijs geleverd van de aanwezigheid dezer curariserende kwaternaire alkaloiden — van het type C-Curarine (kalebascurare) in een niet-Zuid Amerikaanse *Strychnos*soort.

### Bibliographie

- (1) N.G. BISSET and A.J.M. LEEUWENBERG, 1968, *Lloydia*, n° 2, pp. 208-222.
- (2) E. BÜLBRING, 1946, *Brit. J. Pharmacol.*, 1, pp. 38-61.
- (3) F. DELLE MONACHE, E. CORIO e G.B. MARINI-BETTOLO, 1967, *Ann. Ist. Super. Sanità*, 3, pp. 190-192.
- (4) A. DENOËL, F. JAMINET, E. PHILIPPOT et M.J. DALLEMAGNE, 1951, *Arch. Intern. Physiol.*, 59, pp. 341-347.
- (5) A.J.M. LEEUWENBERG, 1969, The Loganiaceae of Africa VIII. *Strychnos* III, Mededelingen Landbouwhogeschool, Wageningen (The Netherlands).
- (6) G.B. MARINI-BETTOLO, 1958, Curare and Curare-like agents. Elsevier Publishing Co., Amsterdam.
- (7) H. SCHMID, J. KEHRLE und P. KARRER, 1952, *Helvetica Chimica Acta*, pp. 1864-1879.