

EVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIFONGIQUE DE *FICUS PLATYPHYLLA* DEL. (MORACEAE)

Gbogbo Koffi Apeti
Dourma Marra
Akpavi Semihinva
Batawila Komlan
Akpagana Koffi

Laboratoire de Botanique et Ecologie végétale, Faculté des Sciences,
Université de Lomé (Togo)

Abstract

To validate the traditional use of plants in the treatment of certain fungal infections due to AIDS, *Ficus platyphylla* (Moraceae), a plant used in traditional medicine in Togo in the treatment of the opportunist diseases of the AIDS has been investigated for its antifungal properties. Aqueous and hydro-ethanolic stem bark extracts were tested on nine fungal strains including six yeast (*Candida krusei*, *C. zeylanoides*, *C. albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum candidum* and *Rhodotorula rubra*) and three filamentous (*Aspergillus fumigatus*, *Microsporium gypseum* and *Trichophyton mentagrophytes*) by the method of broth dilution. The results show that the extracts are active against dermatophytes, *Cr. neoformans* and *Candida* species except *C. krusei* with MICs ranging from 0.25 to 2 mg.ml⁻¹. The hydro-ethanolic extract presented a fungicidal activity on all strains inhibited. The presence of tannins, saponins and sometimes alkaloids, would be the possible cause of the antifungal activities observed. These results justify the traditional use of this plant as an antifungal.

Keywords: *Ficus platyphylla*, antifungal activities, medicinal plants, Togo

Résumé

Afin de valider l'utilisation traditionnelle des plantes dans le traitement de certaines mycoses dues au SIDA, *Ficus platyphylla* (Moraceae), une plante utilisée en médecine traditionnelle au Togo dans le traitement des maladies opportunistes du SIDA a été investiguée pour ses propriétés antifongiques. Les extraits aqueux et hydro-éthanolique de l'écorce de tige ont été testés sur neuf souches fongiques dont six levures

(*Candida krusei*, *C. zeylanoides*, *C. albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum candidum* et *Rhodotorula rubra*) et trois filamenteux (*Aspergillus fumigatus*, *Microsporium gypseum* et *Trichophyton mentagrophytes*) par la méthode de dilution en milieu liquide. Les résultats montrent que les extraits sont actifs sur les dermatophytes, *Cryptococcus neoformans* et les levures du genre *Candida* sauf *C. krusei* avec des CMI variant de 0,25 à 2 mg.ml⁻¹. L'extrait hydro-éthanolique a présenté une action fongicide sur toutes les souches inhibées. La présence de tanins, de saponines, et parfois d'alcaloïdes seraient à l'origine des activités antifongiques observées. Ces résultats permettent de justifier l'utilisation traditionnelle de cette plante comme antifongique.

Mots-Clés: *Ficus platyphylla*, activités antifongiques, plantes médicinales, Togo

Introduction

Le système immunitaire de personnes vivant avec le VIH se détériore graduellement et leurs organismes deviennent très vulnérables à nombre de virus, champignons, bactéries et parasites qui sont normalement tenus inactifs par un système immunitaire normal. De ce fait, quatre 90% des décès liés au VIH sont causés par les maladies opportunistes définies comme affections survenant chez une personne dont le système immunitaire est affaibli par le virus du VIH (Harms et al., 2002). Pour diminuer la mortalité liée à cette affection, l'une des options est de traiter et prévenir ces maladies opportunistes. Cette prise en charge par les processus classiques revient chère et complexe, donc inaccessible à certaines classes sociales. C'est pour cela que le recours aux recettes de la médecine traditionnelle connaît un regain d'intérêt à l'heure actuelle (Kabore et al., 1998 ; Pei, 2001; Olsen, 2005).

Dans la plupart des pays en voie de développement comme le Togo, il est montré que 80% de la population ont recours aux plantes pour se soigner (Akerle, 1991 ; Adjanohoun, 1995 ; Ahyi, 1997). En dépit des connaissances acquises sur les potentialités thérapeutiques de la flore togolaise, très peu sont celles relatives aux activités antifongiques, alors que les maladies fongiques représentent la grande majorité des affections opportunistes liées au sida (Vodouhe, 2008).

Ficus platyphylla Delile une des plantes de la famille des Moraceae utilisée en médecine traditionnelle togolaise, seule ou en association avec d'autres plantes, contre diverses affections fongiques telles que les dermatoses et d'autres mycoses. L'écorce de la tige de *Ficus platyphylla* est utilisée pour le traitement de plusieurs autres maladies, y compris l'insomnie, la psychose, le fibrome, la dépression, et aussi comme un analgésique (Audu,

1989 ; Wakeel et al., 2004). Des études antérieures ont révélées que *Ficus platyphylla* possède des propriétés antibactériennes, anti-nociceptives, anti-inflammatoires, est des activités gastro-intestinales chez les rongeurs (Amos et al., 2001 ; Amos et al., 2002 ; Kubmarawa et al., 2009).

Cette étude qui s'inscrit dans un cadre de la valorisation des espèces utiles de la flore togolaise a pour but de justifier l'utilisation de cette plante contre les affections fongiques en médecine traditionnelle à travers l'évaluation de ses propriétés antifongiques.

Matériel et Méthodes

Matériel fongique

Les tests antifongiques sont réalisés sur neuf souches fongiques pathogènes dont six levures et trois champignons filamenteux, obtenus à la faculté de Pharmacie de l'Université de Reims, et à l'Institut Pasteur. Il s'agit d'*Aspergillus fumigatus* FPR 022, *Trichophyton mentagrophytes* IP 940336, *Microsporum gypseum* IP 137, *Candida krusei* FPR, *Candida zeylanoides* FPR, *Geotrichum candidum* FPR, *Rhodotorula rubra* FPR, *Cryptococcus neoformans* FPR, *Candida albicans* IP 4872.

Matériel végétal

La collecte de l'écorce de tige de *F. platyphylla* s'est faite dans la localité de Bassar (région de la Kara). L'identification a été faite sur place et confirmée au Laboratoire de Botanique et Ecologie végétale de la Faculté des Sciences de l'Université de Lomé. Les spécimens sont déposés à l'Herbarium du Département de Botanique de l'Université de Lomé.

Description botanique et écologique de l'espèce

Arbre ou épiphyte, de 10-15(-20) m de haut, à fût droit, atteignant 2 m de diamètre, trapu à la base, à cime étalée et assez dense. Arbre rapidement reconnaissable par ses grandes feuilles vertes plus ou moins brillantes aux nervures plus ou moins rose jaunâtre. L'écorce est lisse ou écailleuse, gris jaunâtre ou rouille, à tranche rose à rouge, exsudant abondamment du latex blanc. Le rameau est très épais (1-2 cm de diamètre), pubérent, marron ou rouille, pubescent sur les cicatrices stipulaires, devenant glabre. Stipule caduque, de 0,8-3,5 cm de long, velue avec des poils blanchâtres. Les feuilles sont alternes, disposées en spirale, elliptiques, largement ovales ou obovales, de 10-25 x 8-20 cm, à sommet arrondi ou en coin arrondi, à base arrondie ou cordée (l'un des deux lobes pouvant recouvrir l'autre), plus ou moins pubescentes devenant glabres dessus. Le pétiole est pubérent, épais, de 4-12 cm de long, canaliculé dessus. La nervation est pennée, saillante, palmée à la base à 3-5 nervures basales, à 8-15 paires de nervures secondaires alternes ou subopposées se raccordant.

L'infrutescence est constituée de figes solitaires ou par 2(-5) à l'aisselle ou sous les nouvelles feuilles au bout des branches, globuleuses ou obovoïdes, pédonculées (pédoncule de 1-2,5 mm de long et pubérulent), de 1-1,5(-2) cm de diamètre, plus ou moins pubérulentes, souvent verruqueuses, rougeâtres à maturité. La fructification se déroule plutôt en début et en fin de saison sèche. La plante se développe en savanes soudanienne à guinéenne, sur tous types de sol. Elle se retrouve du Sénégal au Cameroun, jusqu'en Somalie. Elle est assez commune et disséminée (Arbonnier, 2002).

Méthodes

Obtention de l'extrait

Les écorces de tige sont séchées à l'ombre à 25°C puis broyées et réduites en poudre. 200 g de poudre d'écorce de tronc sont macérées dans un mélange constitué de 50% d'eau distillée et de 50% d'éthanol à 95° ou dans de l'eau distillée uniquement pendant 48 à 72h dans des bocaux bouchés et sous agitation. Le produit obtenu est filtré puis évaporé à 40°C sous vide au Rotavapor®. Le composé obtenu en fonction du solvant utilisé est l'extrait hydro-éthanolique ou l'extrait aqueux qui contient entre autre, les principes actifs. Les extraits récupérés sont conservés à 4°C au réfrigérateur dans des tubes en plastique pour être utilisés lors des tests antifongiques et phytochimiques.

Tests antifongiques

La méthode de dilution en milieu solide a été utilisée pour effectuer un premier screening sur l'extrait à une concentration unique de 4 mg.ml⁻¹. À l'issue de cette étude préliminaire, pour tout pourcentage d'inhibition ≥ 50% sur une souche fongique, on détermine la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de dilution en milieu liquide (Batawila, 2002 ; Batawila et al., 2002).

Méthode de dilution en milieu liquide

À partir d'une solution mère de concentration 40 mg.ml⁻¹, on procède à une série de dilution en progression géométrique de raison 2 de manière à obtenir une gamme de concentration finale dans les cupules comprises entre 4 et 0,25 mg.ml⁻¹. Les suspensions de spores des champignons filamenteux sont obtenues à partir de cultures en gélose inclinée âgées de sept jours. Les suspensions de levures sont obtenues à partir d'une culture de 48 à 72 heures. Ces solutions mères sont diluées et calibrées à l'aide de la cellule de Malassez à une concentration de 4.10⁴ UFC.ml⁻¹ pour les champignons filamenteux et à 4.10⁵ UFC.ml⁻¹ pour les levures.

850 µl de bouillon Sabouraud, 100 µl d'une dilution de l'extrait et 50 µl de la suspension de spores fongiques sont introduits dans les cupules

d'une plaque Nunc® de 24 cupules excepté celles témoins. Les concentrations finales des inocula des souches de levures et de filamenteux dans les cupules sont respectivement 2.10^4 UFC.ml⁻¹ et de 2.10^3 UFC.ml⁻¹. Des contrôles négatif, positif et neutre sont réalisés. L'Amphotéricine B (10µg.ml⁻¹) et la Griséofulvine (20µg.ml⁻¹) ont été utilisés comme antifongiques de référence. Après ensemencement, les microplaques sont incubées en atmosphère saturée d'humidité puis incubées à 25°C sous agitation pendant sept jours pour les filamenteux et trois jours pour les levures. La CMI est déterminée à la fin de l'expérience en calculant la moyenne de trois essais.

Recherche de l'activité fongicide ou fongistatique

Le type d'activité de l'extrait sur chaque souche sensible a été recherché (fongicide ou fongistatique). Pour ce faire, 50 µl sont prélevés des puits où aucune croissance n'a été observée (inhibition totale) et introduit dans 950 µl de Sabouraud liquide puis incubé à l'étuve dans les mêmes conditions que précédemment. Il en est de même pour les puits témoins. La reprise de la croissance traduit un effet fongistatique et l'absence de croissance un effet fongicide.

Tests phytochimiques

La recherche des grands groupes chimiques dans les extraits végétaux est faite par une analyse phytochimique qualitative sommaire à partir des tests de coloration suivant Harbone (1973). Cette analyse a permis de rechercher les composés tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponines et les tanins.

Résultats et Discussion

L'extrait aqueux et l'extrait hydro-éthanolique d'écorce de tige de *F. platyphylla* ont fait l'objet d'un premier screening par la méthode de dilution en milieu solide puis les CMI sont déterminées en milieu liquide (Tableau 1). Le type d'activité (fongicide ou fongistatique) sur les souches totalement inhibées a été recherché (Tableau 2). Les résultats de l'étude phytochimique sont présentés dans le tableau 3.

Les CMI obtenues varient suivant les extraits et la souche fongique. Elles sont comprises entre 0,25 et 2 mg.ml⁻¹. De façon générale, les extraits sont actifs sur les souches de *Candida* et les dermatophytes testés.

Le type d'activité a été évaluée pour les extraits ayant présentés une inhibition totale des germes dans la gamme de concentrations testées. Les résultats sont consignés dans le tableau 2. On remarque que l'extrait hydro-éthanolique a montré une activité fongicide pour les cinq souches qu'il inhibe avec des concentrations de 0,25 mg.ml⁻¹ (la plus faible concentration

testée) pour *C. zeylanoides*, *Cr. Neoformans* et *M. gypseum*. L'extrait aqueux a une activité fongicide sur six souches avec des concentrations relativement plus élevées que l'extrait hydro-éthanolique.

Les résultats obtenus sont semblables à ceux de Batawila (2002) qui ayant étudié les plantes médicinales dans les conditions similaires, ont montré que les extraits des feuilles et de racine de *Terminalia glaucescens* Planch.ex Benth, les extraits de feuilles, des racines et des écorces de tige de *Terminalia macroptera* Guill. et Perr, et les extraits de feuilles de *Terminalia laxiflora* Engl, ont des activités antifongiques sur *C. albicans*, *C. zeylanoides*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes*, avec des CMI comprises entre 0,25 et 4mg.ml⁻¹.

Tableau 1: Concentrations minimales inhibitrices des extraits sur les germes testés

Extraits	CMI (mg.ml ⁻¹)								
	Ck	Cz	Gc	Rr	Cn	Ca	Af	Tm	Mg
Amphotéricine B/ Griseofulvine	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02
<i>F. platyphylla</i> (ET) : Ea	>4	0.25	>4	2	0.25	0.5	>4	2	1
<i>F. platyphylla</i> (ET) : Ehy.Eth	>4	0.25	>4	>4	0.25	0.5	>4	1	0.25

Tableau 2 : Activité fongicide (CMF) ou fongistatique (CMS) des extraits sur les souches inhibées

Extraits	(mg.ml ⁻¹)																	
	Ck		Cz		Gc		Rr		Cn		Ca		Af		Tm		Mg	
	CM	CMF	CMS	CMF	CMS	CMF	CMS	CMF	CMS	CMF	CMS	CMF	CMS	CMF	CMS	CMF	CMS	CMF
<i>F. platyphylla</i> (ET): Ea	-	-	0,25	0,50	-	-	2	4	-	0,25	-	0,5	-	-	-	2	1	2
<i>F. platyphylla</i> (ET): Ehy.Eth	-	-	-	0,25	-	-	-	-	-	0,25	-	0,5	-	-	-	1	-	0,25

(ET) : Ecorce de tige. **Germes** : Ck- *Candida krusei* FR; Cz- *Candida zeylanoides* FR; Gc- *Geotrichum candidum* FR; Rr- *Rhodotorula rubra* FR; Cn- *Cryptococcus neoformans* FR;

Ca- *Candida albicans* ; Af- *Aspergillus fumigatus* FR 022; Tm- *Trichophyton mentagrophytes* IP 940336 ; Mg- *Microsporum gypseum* IP 137. IP : Institut Pasteur ; FR : Faculté de Pharmacie de Reims ; Ea : Extrait aqueux ; Ehy.Eth : Extrait Hydro-éthanolique ; - : valeurs hors gamme des concentrations testées.

De même, Baba-Moussa et al. (1999) ont montré que les extraits de *Terminalia avicennioides* et de *Pteleopsis suberosa* présentent activités antifongiques sur *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*, *T. rubrum*, *C. albicans* et sur *Epidermophyton floccosum*, avec des CMI compris entre 0,25 et 4 mg.ml⁻¹. Ces résultats justifient l'utilisation traditionnelle de cette plante dans les affections fongiques par les populations.

D'autres auteurs ont démontré également que l'utilisation de *F. platyphylla* par les populations locales ne perturbe pas de façon significative les principaux paramètres vitaux chez le rat. Par conséquent, la plante ne présenterait pas de toxicité aiguë ou subaiguë aux doses utilisées

(Chindo et al., 2012). Il est également intéressant de souligner que cette plante est très souvent utilisée en association dans le cas des traitements des pathologies étudiées avec une activité remarquable à large spectre. Ces constats sont similaires à ceux de Guede-Guina F. et al (1995) qui ont travaillé sur trois plantes utilisées en association contre les maladies opportunistes du SIDA. En effet, ils ont pu démontrer que l'extrait de mixture d'*Alchornea cordifolia*, de *Cassia alata* et de *Staurospermum verticillatum*, est actif sur *T. mentagrophytes*, sur *C. neoformans* et sur *C. albicans*. *F. platyphylla* présenterait un double intérêt puisqu'il a été démontré qu'elle possède aussi un activité antibactérienne (Kubmarawa, 2009 ; Adeshina, 2010). Elle aurait donc un large spectre antimicrobien qui serait important dans les traitements traditionnels où souvent, il n'y a pas de recherche ou de mise en évidence systématique des germes qui sont causes des affections.

Les grands groupes chimiques mis en évidence dans les extraits sont consignés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Etudes phytochimiques des extraits

	Constituants chimiques			
	Tanins	Flavonoïdes	Saponines	Alcaloïdes
<i>F. platyphylla</i> (ET) : Ea	+++	-	+++	++
<i>F. platyphylla</i> (ET) : Ehy.Eth	+	-	+	-

(ET) : Ecorce de tige ; (F) : Feuilles; (T) : Tubercules ; (R) : Racines. - : Absence ;
+ : Présence ; ++ : Présence modérée ; +++ : Présence importante

L'analyse de ce tableau montre que l'extrait aqueux contient des Tannins, des Saponines et des alcaloïdes. L'extrait hydro-éthanolique ne contient que des tanins et des saponines, mais en proportion plus faible que l'extrait aqueux. Les saponines ont été isolées des écorces de tige de *F. platyphylla* par d'autres auteurs (Ajulo et al., 2012). Les flavonoïdes sont absents des deux extraits. Ces résultats sont en accord avec ceux de Kubmarawa et al. (2009) qui ne trouvent pas de flavonoïdes lors de leurs tests dans les extraits aqueux et les extraits éthanoliques des feuilles, des écorces de tige et des racines de *F. platyphylla*. L'absence de flavonoïdes est en contradiction avec les observations de Adeshina et al. (2010) qui en trouvent en grande quantité dans les extraits de la même plante. Sur la base des études antérieures ces différents composés chimiques pourraient être à l'origine des activités antifongiques observées (Amos 2001, Amos 2002).

Conclusion

La présente étude a permis d'évaluer les activités antifongiques des extraits d'écorce de tige de *F. platyphylla*, une des plantes médicinales de la flore togolaise. Les résultats montrent que les extraits aqueux et hydro-

éthanoliques de cette plante ont une activité fongicide à de faibles concentrations sur des levures et des dermatophytes impliqués dans diverses affections humaines et animales. La présence de Tanins, de Saponines et d'Alcaloïdes révélés par les tests phytochimiques seraient responsables des activités antifongiques. Ces résultats justifient l'utilisation de cette plante dans le traitement traditionnel des mycoses et des maladies opportunistes liées au SIDA.

References:

- Adeshina G. O., Okeke C. E., Osuagwu N. O. and Ehinmidu J. O. Preliminary in-vitro antibacterial activities of ethanolic extracts of *Ficus sycomorus* Linn. and *Ficus platyphylla* Del. (Moraceae). African Journal of Microbiology Research, 4(8), 598-601, 2010.
- Adjanooun, E.J. La biodiversité tropicale face au développement des industries pharmaceutiques. Phar. Med. Trad Afr., 5, 3-18, 1995.
- Ahyi A. M. R. Médecine traditionnelle, pharmacopée africaine et développement durable: Motivations culturelles, scientifiques, socio-économiques, écologiques. Actes du séminaire international sur le développement des phytomédicaments éthiques. 134- 144, 1997.
- Ajulo M. O., Abdurahman E. M. and Ajulo H. O. Toxicological activity of crude saponin extract of *Ficus platyphylla*. Asian J.Pharm. Clin. Res., 5 (suppl 1), 30-33, 2012.
- Akerele, O. Medicinal plants : Policies and priorities. In Conservation of Medicinal Plants, Akerele O, Heywood V, Synge H (eds). Cambridge University Press: Cambridge, 3-11, 1991.
- Amos S, Binda L, Chindo B, Akah P, Abdurahman M, Danmallam HU, Wambebe C, Gamaniel K. Evaluation of ethanolic extract of *Ficus platyphylla* on gastrointestinal activity. Indian J. Exp. Biol. 39(1), 63-67, 2001.
- Amos S, Chindo B, Edmond I, Akah P, Wambebe C, Gamaniel K. Anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of *Ficus platyphylla* extracts in mice and rat. J. Evol. Biol., 18(15), 1234-1238, 2002.
- Arbonnier M. Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'ouest. CIRAD/MNHN/UICN, pont-sur-Yonne (France) 574 p, 2002.
- Audu J. A. Medicinal herbs and their uses in Bauchi State. The Nigeria Field, 54(Part 3-4), 157-168, 1989.
- Baba-Moussa F., Akpagana K., Bouchet P. Antifungal activities of seven West African Combretaceae used in traditional medicine. Journal of Ethnopharmacology, 66, 335-338, 1999.
- Batawila K. Diversité, écologie et propriétés antifongiques des Combretaceae du Togo. Thèse de Doctorat : Université de Reims Champagne Ardennes (France) et Université de Lomé (Togo), 120 p, 2002.

- Batawila K., Kokou K., Akpagana K., Koumaglo K. et Bouchet P. Activité antifongique d'une espèce en voie de disparition de la flore togolaise : *Conyza aegyptiaca* (L.) Ait. Var. *lineariloba* (DC) O. Hoffm. (Asteraceae). Acta. Bot. Gallica., 149(1), 41-48, 2002.
- Chindo B. A., Anuka J. A. and Gamaniel K. S. Toxicity screenings of *Ficus platyphylla* stem bark in rats. Pharmacologia 3(10): 499-505, 2012.
- Guede-Guina F., Vangah-Mandam M., Bonga G.M., De Souza C. Activité antimicrobienne d'un extrait végétal contre des germes opportunistes au cours du SIDA. Revue Méd. Pharm. Afr., 9(1), 13-19, 1995.
- Harbone, J.B. Phytochemical methods. Chapman and Hall eds., New York, 354 p, 1973.
- Harms G. and Feldmeier H. HIV infection and tropical parasitic diseases - deleterious interactions in both directions?. Trop. Med. Int. health, 7, 479-88, 2002.
- Kabore I.Z., Guisou I.P., Sourabies et Gngangao G. Elément de monographie sur *Nauclea latifolia* (Rubiaceae) chimie, activités biologiques , toxicité. Pharm. Med. Trad. Afr., 10, 42-54, 1998.
- Kubmarawa D., Khan M.E., Punah A.M. and Hassan M. Phytochemical and Antimicrobial Screening of *Ficus platyphylla* against Human/Animal Pathogens. The Pacific Journal of Science and Technology, 10(1), 382-386, 2009.
- Olsen C.S. Trade and conservation of Himalaya medicinal plants: *Nardostachys grandiflora* DC. and *Neopicrorhiza scrophulariiflora* (Pennell) Hong. Biological conservation, 125, 505-514, 2005.
- Pei S. Ethnobotanical approaches of traditional medicine studies: some experiences from Asia. Pharmaceutical Botany, 39, 74-79, 2001.
- Vodouhe T. D. Les maladies opportunistes du Sida et les plantes médicinales. Thèse de Pharmacie : Université de Lomé (Togo), 45 p, 2008.
- Wakeel O.K., Aziba P.I., Ashorobi R.B., Umukoro S., Aderibigbe A.O. and Awe E.O. Neuropharmacological activities of *Ficus platyphylla* stem bark in mice. African Journal of Biomedical Research, (7), 75– 78, 2004.