

Sudanese *Withania somnifera*: A potential control agent for plant microorganisms

Adil Bala, E.A.¹, Kollmann, A.², Ducrot, P-H.², Nazik Eisa, Z.³, Kerhoas, L.², Einhorn, J.², Delorme, R.² & Nabil Bashir, H.H.⁴

¹Department of plant protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Gezira, Medani, P. O. Box 20, Sudan

²Unité de Phytopharmacie et Médiateur Chimiques, INRA, 78026 Versailles cedex, France

³Department Animal Production, Faculty of Agricultural Sciences, University of Gezira, Medani, Sudan

⁴Department of pesticide science and toxicology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Gezira, Medani, Sudan

Corresponding author: adilahmed58@yahoo.com

Abstract

For centuries plants have been used throughout the world as pesticides, drugs and remedies for various diseases. However, pesticides and drugs in general, tend to be very expensive particularly so for the developing countries. Comparative cost is often the deciding factor in choice of control methods. As a result it can be deduced that direct use of crude extracts or dried plant parts, where possible, would be of great value. This study aimed to evaluate the presence and the activity of the natural products in the Sudanese-chemotype *Withania somnifera* prior to their direct use as crude extract and/or powdered dried plant-parts in the field. The methanolic extract of the aerial parts of *Withania somnifera* (L) Dunal (Solanaceae) showed interesting antifungal activity against *Fusarium nivale* (syn *Microdochium nivale*) and yielded many withanolides after column and preparative HPLC separation which were guided by this antifungal activity (% inhibition zone). An equal volume of water was added to the concentrated methanol and partitioned with ethyl acetate. The active fraction was chromatographed first on a short silica gel (kieselgel) column. Using the chromatogram and a TLC single-spot analysis the collection was combined in 21 fractions. Then, the active Fraction(s) was re-chromatographed on gel exclusion over sephadex LH-20 in a long column. The active subfractions were then subjected to preparative reversed phase HPLC (Waters 600, multisolvent system) and all tubes were collected in 10 subfractions. The active subfractions were then subjected to preparative reversed phase HPLC (Waters 600, multisolvent system) and each peak was collected manually and, the purified active peaks were then subjected to identification. The structures of Withaferin A and 2, 3-deoxy 3-methoxy Withaferin A were determined by NH₃-DCI-MS (and MS-MS) and NMR spectroscopy. Against Swiss mice *Mus musculus* (mouth injection using adaptable syringe) these products showed no acute toxicity up to 20 g plant/kg body weight (the highest dose used). It could be concluded that there are many encouraging aspects regarding the potential for a direct use of such crude extract and powdered dried plant-parts against such plant microorganisms under Sudanese environmental conditions: this plant is widely distributed in Sudan, very rich in withanolides, and the quantity is sufficient e.g. the quantity of withaferin A was estimated in the present work to be more than 40 mg/kg plant material. Additionally,

this concentration may indicate that the amount of plant material required would not be high. Furthermore, the preparation of the crude-extract or the powdered form would not be expensive. Moreover, in this study no acute toxicity was recorded up to 20 g plant/kg body weight (the highest dose used). In the foreseeable future, further research is needed to determine activities against broader spectrum of plant local causal organism strains of fungi and bacteria both in the laboratory and the field, the ideal formulation and concentrations for field application.

Key words: *Fusarium nivale*, Sudanese *Withania somnifera*, Swiss mice *Mus musculus*, withanolides

Résumé

Pendant des siècles, les plantes ont été utilisées à travers le monde comme pesticides, médicaments et remèdes pour différentes maladies. Cependant, les pesticides et les médicaments en général, ont tendance à être très coûteux, particulièrement pour les pays en développement. La comparaison des coûts est souvent le facteur décisif dans le choix des méthodes de contrôle. Par conséquent, on peut déduire que l'utilisation directe des extraits bruts ou des parties de plantes séchées, lorsque cela est possible, serait d'une grande valeur. Cette étude visait à évaluer la présence et l'activité des produits naturels dans les types chimiques Soudanais de *Withaniasomnifera* avant leur utilisation directe comme extrait brut et / ou poudre séchée et parties des plantes dans le domaine. L'extrait méthanolique des parties aériennes de *Withaniasomnifera* (L) Dunal (Solanacées) a montré une activité antifongique intéressante contre le *Fusariumnivale* (*synMicrodochiumnivale*) et a produit de nombreux withanolides après la colonne et la préparation à la séparation HPLC qui ont été guidés par cette activité antifongique (zone d'inhibition de l'%). Un volume égal d'eau a été ajouté au méthanol concentré et partagé avec de l'acétate d'éthyle. La fraction active a été Chromatographiée sur une première colonne de gel de silice courte (gel de silice). En utilisant du chromatogramme et une analyse TLC tâche unique, la collecte a été combinée dans 21 fractions. Ensuite, la fraction (s) active a été de nouveau soumise à une Chromatographie sur du gel d'exclusion sur Sephadex LH-20 dans une longue colonne. Les sous-fractions actives ont été ensuite soumises à une HPLC en phase inverse préparatoire (Waters 600, système Multi-solvant) et tous les tubes ont été prélevés dans 10 sous-fractions. Les sous-fractions actives ont été ensuite soumises à une HPLC en phase inverse préparatoire (Waters 600, système Multi-solvant) et chaque pic a été collecté et manuellement, les pics actifs purifiés ont été ensuite soumises à une identification. Les structures des withaferin A et 2, 3-désoxy-3 méthoxy withaferin A ont été déterminées par NH₃-DCI-MS (et MS-MS) et par spectroscopie de RMN. Contre la souris suisse *Musmusculus* (injection de bouche en utilisant la seringue adaptable), ces produits n'ont montré aucune toxicité aiguë jusqu'à 20 g plante / kg de poids corporel (la dose la plus élevée utilisée). On pourrait en conclure qu'il y a de nombreux aspects encourageants concernant la possibilité d'une utilisation directe de cet extrait brut et de parties des plantes ou poudre séchée des parties de plante contre ces micro-organismes végétaux dans des conditions environnementales soudanaises: cette plante est largement distribué au Soudan, très riche en withanolides, et la quantité est suffisante, par exemple la quantité de withaferin A a été estimé dans le présent travail à plus de 40 mg

/ kg de matériel végétal. En outre, cette concentration peut indiquer que la quantité de matériel végétal nécessaire ne serait pas élevée. En plus, la préparation de l'extrait brut ou sous forme de poudre ne serait pas coûteux. De plus, dans cette étude, aucune toxicité aiguë n'a été enregistré jusqu'à 20 g plante / kg de poids corporel (la dose la plus élevée utilisée). Dans un avenir prévisible, d'autres recherches sont nécessaires pour déterminer les activités contre le plus large éventail des souches des plantes locales de causalité de l'organisme de champignons et de bactéries à la fois en laboratoire et sur le terrain, la formulation idéale et les concentrations d'application sur le terrain.

Mots clés: *Fusarium nivale*, Sudanese, *Withania somnifera*, souris suisse *Mus musculus*, withanolides
