

Journal of Applied Biosciences 185: 19504- 19523
ISSN 1997-5902

Screening phytochimique, activités anti-radicalaire et cytotoxique des extraits de quatre plantes utilisées dans la prise en charge de la dysfonction érectile à Mbandaka, République démocratique du Congo

Emile Ndongo Ipona^{*1}, Bienvenu Mvingu Kamalandua¹, Thiery Mawete Dani¹, Blaise Mbala Mavinga¹, Koto-Te-Nyiwa Jean Paul Ngbolua², Doudou Batumbo Boloweti³, Thouthou Bonganga Lituli⁴, Carlos Kabengele¹ Nkongolo¹, Clément Inkoto Liyongo², Taba Kalulu¹

¹Département de Chimie et Industries, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, République démocratique du Congo

²Département de Biologie, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, République démocratique du Congo

³Faculté de Médecine, Université de Bandundu, République démocratique du Congo

⁴Département de Pétrochimie, Faculté des Gaz et Pétrole, Université de Kinshasa, République démocratique du Congo

*Auteur correspondant email: emil.ndongo@gmail.com

Submission 2nd March 2023. Published online at <https://www.m.elewa.org/Journals/> on 31st May 2023.
<https://doi.org/10.35759/JABs.185.11>

RÉSUMÉ

Objectif : La dysfonction érectile est très répandue dans le monde mais faiblement déclarée en Afrique car c'est un sujet tabou et constitue un problème de santé publique. La présente étude a pour objectifs d'identifier les groupes chimiques contenus dans quatre plantes (*Carapa procera* DC (Bois crabe), *Pentaclethra macrophylla* Benth (Arbres à semelles), *Garcinia kola* Heckel (Petit kola ou faux kolatier), *Nauclea diderrichii* De Wild et T. Durant (Acajou jaune d'Afrique)) utilisées en médecine traditionnelle pour soigner le dysfonctionnement érectile et d'évaluer *in vitro* leurs activités anti-radicalaire et cytotoxique.

Méthodes et Résultats : Le criblage phytochimique a été réalisé pour identifier les métabolites. Le test de piégeage du radical DDPH contre l'acide ascorbique a été utilisé pour apprécier l'activité antioxydant de ces plantes. L'activité hémolytique des extraits aqueux et méthanoliques sur les érythrocytes humains a été réalisée *in vitro* par spectrophotométrie. Pour calculer les IC₅₀ le logiciel statistique Quest GraphTM IC₅₀ calculator et le tableau de correspondance entre IC₅₀ et la toxicité de Mousseux ont été utilisés. Le criblage phytochimique a révélé la présence des polyphénols dans tous les extraits ainsi que des saponosides, alcaloïdes et tri-terpènes. Les contenus les plus élevés en polyphénols totaux et flavonoïdes ont été enregistrés dans les extraits méthanoliques qu'aqueux. Par contre, les teneurs en tanins totaux des extraits aqueux ont été supérieures à celles des extraits méthanoliques. Les extraits méthanoliques des écorces ont présenté une forte capacité du piégeage du radical DPPH que les extraits aqueux. Quant à l'activité hémolytique, les extraits aqueux ont d'effet hémolytique plus faible que les extraits méthanoliques. Par ailleurs, les extraits méthanoliques de *Pentaclethra macrophylla* et de *Garcinia kola* sont

légèrement hémolytiques à des concentrations supérieures à 1000 µg/mL. Les extraits aqueux de ces plantes sont non toxiques ($IC_{50} \geq 0,1$ mg/mL) alors que les extraits méthanoliques sont légèrement toxiques $0,1$ mg/mL $> IC_{50} \geq 0,050$ mg/mL sauf *Garcinia kola* qui est extrêmement toxiques ($IC_{50} < 0,01$ mg/mL).

Conclusion : Ces résultats montrent que les plantes peuvent être utilisées dans la prise en charge de dysfonctionnement érectile. Ainsi, les travaux ultérieurs sont nécessaires pour l'isolement des principes actifs impliqués dans les pouvoirs antioxydant et cytotoxique de ces plantes. Ceci pourra aider à la conservation afin de proposer un phytomédicament disponible et à coût accessible pour la communauté.

Mots clés : *Carapa procera*, *Pentaclethra macrophylla*, *Garcinia kola*, *Nauclea diderrichii*, Dysfonction Erectile

Phytochemical screening, anti-free radical and cytotoxic activities of extracts of four plants used in the treatment of erectile dysfunction in Mbandaka, Democratic Republic of the Congo

ABSTRACT

Objective: Erectile dysfunction is widespread in the world but poorly reported in Africa because it is a taboo subject and constitutes a public health problem. The objectives of the present study are to identify the chemical groups contained in four plants (*Carapa procera* DC (Crab wood), *Pentaclethra macrophylla* Benth (Sole tree), *Garcinia kola* Heckel (Small kola or false kola), *Nauclea diderrichii* De Wild et T. Durant (African yellow mahogany)) used in traditional medicine to treat erectile dysfunction and to evaluate in vitro their anti-radical and cytotoxic activities. **Methods and Results:** Phytochemical screening was performed to identify the metabolites. DDPH radical scavenging assay against ascorbic acid was used to assess the antioxidant activity of these plants. The hemolytic activity of aqueous and methanolic extracts on human erythrocytes was performed in vitro by spectrophotometry. To calculate the IC_{50} the Quest GraphTM IC_{50} calculator statistical software and the correspondence table between IC_{50} and Mousseux toxicity were used. Results: Phytochemical screening revealed the presence of polyphenols in all extracts as well as saponosides, alkaloids and tri-terpenes. The highest contents of total polyphenols and flavonoids were recorded in methanolic extracts than in aqueous ones. On the other hand, the contents of total tannins in the aqueous extracts were higher than in the methanolic extracts. The methanolic extracts of the bark showed a higher capacity of DPPH radical scavenging than the aqueous extracts. As for the hemolytic activity, the aqueous extracts had lower hemolytic effect than the methanolic extracts. On the other hand, the methanolic extracts of *Pentaclethra macrophylla* and *Garcinia kola* are slightly hemolytic at concentrations higher than 1000 µg/mL. The aqueous extracts of these plants are nontoxic ($IC_{50} \geq 0.1$ mg/mL) whereas the methanolic extracts are slightly toxic 0.1 mg/mL $> IC_{50} \geq 0.050$ mg/mL except *Garcinia kola* which is extremely toxic ($IC_{50} < 0.01$ mg/mL).

Conclusion: These results show that plants can be used in the management of erectile dysfunction. Thus, further work is needed to isolate the active principles involved in the antioxidant and cytotoxic powers of these plants. This will help in the conservation to propose a phytomedicine available and affordable to the community.

Keywords: *Carapa procera*, *Pentaclethra macrophylla*, *Garcinia kola*, *Nauclea diderrichii*, Erectile Dysfunction

INTRODUCTION

Le problème de dysfonction érectile (DE) est très répandu dans le monde entraînant un impact négatif sur la qualité de vie du couple (Kamatenesi-Mugisha, 2005). En 1995, on estimait qu'elle touchait 152 millions de personnes dans le monde, et qu'elle toucherait plus de 322 millions de personnes en 2025 avec une forte augmentation dans les pays en développement, mais faiblement déclaré en Afrique car c'est un sujet tabou, touchant les hommes dont l'âge varie entre 40 à 70 ans (Oueslati *et al.*, 2017). Selon plusieurs études, la prévalence du dysfonctionnement érectile varie entre 9 à 90% en fonction d'étiologie des cas Baka *et al.*, 2017 ; Diao *et al.*, 2007 : Tembely *et al.*, 2016 ; Oueslati *et al.*, 2017. La DE Peut être définie comme étant l'incapacité pour un homme d'obtenir ou de maintenir une érection du pénis afin de permettre un rapport sexuel épanoui (Baka *et al.*, 2017). Une étude menée en RDC dans le service d'urologie des cliniques universitaires de Kinshasa, du 1er mai au 31 octobre 2018 a rapporté pour les répondants dont l'âge moyen était de 40 à 80 ans, plus de la moitié des répondants avaient plus de 60 ans (60%). La proportion de DE était de 78,8 % et 75 % des répondants avaient au moins une DE modérée. Cette anomalie était significativement élevée chez les répondants âgés de plus de 60 ans (94,8 %), les diabétiques (87,5 %), les patients hypertendus (92,3 %) et les victimes d'AVC (86 %) (Loposso *et al.*, 2018). Ces troubles peuvent impacter la qualité de vie du patient et de son couple, car les hommes psychologiquement affectés cherchent les partenaires occasionnels pour tester leur viabilité et virilité. Ce stress psychologique peut également affecter la conjointe lorsque le mari est concerné par une DE, cela peut conduire à l'infidélité avec un gros risque d'exposition aux maladies sexuellement transmissibles comme le VIH-SIDA (Kamatenesi, 2005). Ces facteurs étiologiques énumérés induisent la production d'une importante quantité de radicaux libres à

l'origine du stress oxydatif avec comme conséquence une baisse des performances sexuelles (Roumeguere *et al.*, 2017). Il a été démontré que le stress oxydatif joue un rôle important dans la progression de la dysfonction érectile et que le stress oxydatif peut être atténué ou réduit par des enzymes antioxydantes (Salah *et al.*, 2015). Ce dysfonctionnement mérite d'être pris en charge de façon délicate. Mais il se fait malheureusement que les molécules de traitement sont très coûteuses. Les traitements conventionnels les plus connus sont les inhibiteurs de la phosphodiesterase du type 5 comme Viagra® (Sildénafil), Cialis® (Tadalafil), Levitra® (Vardenafil), pour provoquer et maintenir une érection en augmentant l'effet de l'oxyde nitrique (Rendell *et al.*, 1999). En plus, ces traitements présentent des effets secondaires néfastes et ne doivent pas être utilisés en cas d'insuffisance cardiaque, d'hypotension, rétinopathie pigmentaire et en cas d'utilisation des dérivés Nitrés (Giuliano *et al.*, 2001). Ainsi, la recherche de nouvelles molécules plus actives, bon marché et avec moins d'effets secondaires trop marqué est aujourd'hui une urgence scientifique. Parmi ces alternatives thérapeutiques, il y a une place de choix qu'il faudrait accorder aux plantes naturelles. Ces plantes naturelles offrent une gamme d'avantage car palliant les problèmes liés au coût, l'accessibilité et la barrière culturelle (OMS, 2006). C'est le cas des principes actifs à base de la Yohimbine isolée des écorces de *Pausinystalia johimbe* (Rubiaceae) (Isaac, 2009) et la Papavérine isolée de la capsule de *Papaver somniferum* L. (Papaveraceae) (Virag, 1982). Ces traitements sont proches de la population, d'accès faciles, culturellement acceptables, financièrement abordables, et un grand nombre de personnes en font confiance. Ces plantes ont la capacité de synthétiser les métabolites secondaires et constituent un réservoir important de composés d'une grande diversité chimique,

ayant un large éventail d'activités biologiques. D'après l'organisation mondiale de la santé (OMS), 80 % des populations Africaines dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de Santé Primaire (OMS, 2006). Il est connu que les plantes médicinales sont largement utilisées en médecine traditionnelle grâce à leurs propriétés anti-oxydantes dues aux composés phénoliques, propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques, vasodilatatrices (Pietta, 2000) et neutralisantes des radicaux libres Nijveldt et al., 2001. Malheureusement les saponosides contenus en synergie avec d'autres métabolites dans ces plantes sont hémolytiques quand bien même qu'ils aient un pouvoir anti oxydant puissant (Wang et al., 2007). Dans le cadre de ce présent travail, les investigations scientifiques ce sont focalisées sur quatre plantes : (*Carapa*

procera DC (Bois crabe), *Pentaclethra macrophylla* Benth (Arbres à semelles), *Garcinia kola* Heckel (Petit kola ou faux kolatier), *Nauclea diderrichii* De Wild et T. Durant (Acajou jaune d'Afrique)), les plus citées dans la prise en charge du dysfonctionnement érectile. En outre, à notre connaissance et au regard des différentes recherches effectuées, l'activité anti hémolytique et hémolytique de ces plantes n'ont pas encore été réalisées. Cette étude a pour but de renforcer la base scientifique justifiant l'utilisation de ces plantes dans le traitement traditionnel de la dysfonction érectile. Dans ce contexte, la recherche a été consacrée à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antiradicalaire, anti-hémolytique et de la cytotoxicité des extraits méthanoliques et aqueux de ces plantes. .

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal : Le matériel végétal de ce travail est constitué des écorces, de *Carapa procera* DC, *Pentaclethra macrophylla* Berth, *Garcinia kola* Heckel et *Nauclea diderrichii* De Wild & Durant. Les échantillons de ces plantes ont été récoltés au Jardin Botanique d'Eala (situé à environ 7 Km de la ville de Mbandaka, RDC) en Mars 2020. Les plantes ont été identifiées en comparant les spécimens disponibles à l'herbier du jardin botanique de Eala à Mbandaka et à ceux de l'herbarium de l'Institut National d'Étude et de recherche Agronomique (INERA) à la faculté des Sciences de l'université de Kinshasa. Le séchage des échantillons récoltés a été réalisé à l'air libre au Laboratoire d'Analyse et de Synthèse Organique de Kinshasa (LASORG-K), à l'abri du soleil pendant 15 jours, à la température ambiante. Après séchage, les échantillons ont été broyés en utilisant un broyeur électrique de marque Blinder Burtterfly B-592, jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.

Sang : Le sang ayant servi pour l'activité hémolytique et anti hémolytique a été prélevé

d'un sujet sain aux cliniques universitaires de Kinshasa (CUK) à l'aide d'un tube anti coagulant et a été conservé dans un réfrigérateur à + 4°C.

Préparation des extraits : Cent cinquante grammes (150 g) de la poudre ont été macérés dans 1.5 L du Dichlorométhane pendant 48 heures pour donner le marc 1 et le filtrat qui, après évaporation produit l'extrait de Dichlorométhane ; Le marc 1 a été macéré dans 1.2 L de Méthanol pendant 48 heures pour donner le marc 2 et le filtrat qui, après évaporation produit l'extrait méthanolique ; le marc 2 a été macéré dans 1.2 L de H₂O distillée pour donner le marc 3 qui a été jeté et le filtrat qui après évaporation (à l'étuve à 50 °C) produit l'extrait aqueux. L'extraction se fait selon l'ordre de polarité croissante. La filtration se fait à l'aide d'un papier filtre wattman N° 1 de 3 mm d'épaisseur. Les solvants organiques ont été évaporés sous pression réduite au moyen d'un Rotavapor rotatif de marque Buchi Re 120 et sécher à l'étuve de marque Memmert à 40 °C. Ces extraits totaux obtenus ont été gardés au

frigo pour les utilisations ultérieures. Le rendement des plantes en extrait sec a été déterminé en calculant le rapport ci – après :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{PEB}}{\text{PPS}} \times 100$$

Avec PEB : poids Extrait Brut et PPS : Poids Poudre Sèche.

Screening chimique : Pour mettre en évidence la présence ou l'absence des métabolites secondaires, les tests phytochimiques spécifiques basés sur des réactions de coloration, de précipitation ou de turbidité ont été réalisés, en utilisant les méthodes de Wagner *et al.*, 1984 et Bruneton, 2009. La caractérisation des constituants chimiques a été faite par les réactions spécifiques. Les recherches de ces groupes phytochimiques ont été effectuées sur les extraits aqueux et organiques (dichlorométhane et méthanol) en suivant les protocoles habituellement utilisés (Bruneton, 2009).

Recherche des polyphénols : On dispose d'1 mL d'extrait dans un tube à essai, y ajouter 1 mL de réactif de Burton. La solution se colore en bleu intense, accompagnée parfois d'un précipité, en présence des polyphénols (Bruneton, 2009). Dans le cas où le test est positif, nous recherchons alors systématiquement les différents composés polyphénoliques présents tels que les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins et les quinones.

Recherche des flavonoïdes : Ajouter quelques gouttes de réactif de Shinoda à 3 mL de l'extrait puis quelques copeaux de magnésium. On observe une effervescence. Ajouter ensuite quelques gouttes d'alcool isoamylique. Agiter et laisser reposer. La formation d'un film mince dans la couche surnageant de l'alcool isoamylique, de coloration orangée dénote la présence des flavonoïdes (Aneli *et al.*, 2016 ; Oyewole *et al.*, 2008).

Recherche des anthocyanes : Ajouter 2 mL de HCl 20% à 3 mL d'extrait, chauffer au bain marie et laisser refroidir. À froid, la solution vire au rose foncé en cas de test positif, tandis qu'à chaud, une coloration rouge violacée de

chlorure d'anthocyane pouvant cristalliser se développe (Aneli *et al.*, 2016 ; Hongshanich *et al.*, 1979).

Recherche des tanins : Ajouter 1 mL de FeCl₃ 2% à 5 mL d'extrait prélevés dans un tube à essai. La présence de tanins de façon général est indiquée par l'apparition d'une coloration verte avec ou sans précipité. En cas d'un test positif, on peut différencier les tanins galliques des tanins catéchiques de manière suivante : Ajouter 2 mL de réactif de Stiasny à 5 mL d'extrait aqueux et chauffer au bain marie à 90 °C pendant 30 minutes, un précipité brun indique la présence des tanins catéchiques. En cas de la présence de tanins catéchiques, le filtrat doit être saturer avec les cristaux de En cas de la présence de tanins catéchiques, le filtrat doit être saturer avec les cristaux de CH₃COONa. Ajouter 1 mL de FeCl₃ 2%; une coloration noirâtre indique la présence des tanins hydrolysables ou tanins galliques (Oyewole *et al.*, 2008).

Recherche des quinones : Ajouter quelques gouttes du réactif de Bornträger à 3 mL d'extrait organique et agiter énergiquement. L'apparition d'une coloration allant de l'orange à rouge vif est un test positif (Aneli *et al.*, 2016 ; Oyewole *et al.*, 2008).

Recherche des alcaloïdes : Ajouter quelques gouttes de réactif de Dragendorff à 3 mL d'extrait aqueux, légèrement acidifié avec 1 mL d'HCl 0,1 N ; en présence des alcaloïdes, il se forme un précipité rouge orangé (Aneli *et al.*, 2016).

Recherche des saponines : Mettre 3 mL de l'extrait aqueux dans un tube à essai puis agiter vigoureusement. La formation d'une mousse d'au moins 1 cm de hauteur persistante pendant 15 minutes indique un test positif. En outre, l'acide sulfurique concentré, en présence des saponines donne une coloration rouge (Bruneton, 2009).

Recherche des stéroïdes et triterpénoïdes : Evaporer à sec 5 mL d'extrait organique dans un tube à essai. Ajouter le réactif de Liebermann-Burchardat. Une coloration

violette indique la présence d'un mélange des triterpénoïdes et stéroïdes. Séparément, les triterpènes donnent un complexe mauve, tandis que les stéroïdes de leur côté développent une coloration verte (Aneli et al., 2016).

Dosage des polyphénols totaux : La teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été déterminée par dosage spectrophotométrique, selon la méthode de Folin-ciocalteu (Bouchouka, 2016 ; Wong et al., 2016). Cette méthode est basée sur les réactions d'oxydoréduction. Le réactif de Folin-Ciocalteu, utilisé comme oxydant est un acide de couleur jaune. Ce réactif est constitué par un mélange d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) et d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$). Lors de l'oxydation des polyphénols, le Folin est réduit en un mélange bleu d'oxyde de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) en présence de carbonate de sodium. L'intensité de la coloration est proportionnelle aux taux des polyphénols présents dans les extraits. Cette oxydation entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène–tungstène de couleur bleu qui absorbe à 760 nm. Au cours du dosage des polyphénols, après l'addition du réactif de Folin-Ciocalteu, une couleur bleue est apparue, ce qui confirme la présence des polyphénols dans les extraits (Biplab, 2013). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 grammes de la matière végétale sèche (μg GAE/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique : $Y = 0,0041x + 0,0696$ avec $R^2 = 0,998$.

Mode opératoire : Mélanger 0,2 mL de chaque extrait avec 1,5 mL de Folin-Ciocalteu (10 %). Incuber pendant 5 minutes, rajouter 1,5 mL d'une solution de carbonate de sodium (6 %), incuber à température ambiante à l'obscurité pendant 5 minutes à 50°C et lire l'absorbance à 760 nm au spectrophotomètre visible (Zuzi à balayage manuel). Exprimer la teneur en polyphénols totaux en microgramme d'équivalents d'acide gallique par gramme

d'extrait sec (μg GAE/g). Utiliser les solutions d'étalon (Acide gallique : 50-500 $\mu g/mL$) pour tracer la courbe d'étalonnage. L'équation standard de la courbe est $Y = 0,0041x + 0,0696$; ($R^2 = 0,998$).

Dosage des flavonoïdes : La méthode au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). a été réalisé pour doser des flavonoïdes. Le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) forme des complexes acides stables soit avec le carbonyle en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. D'autre part $AlCl_3$ peut aussi former des complexes acides labiles avec les groupements orthodihydroxyyles éventuellement présents sur les noyaux A et B des flavonoïdes (Bouchouka, 2016).

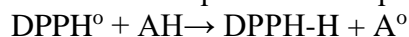
Mode opératoire : Mélanger 100 μL de chaque extrait à 4 mL d'eau distillée et par la suite, à 0,3 mL de ($NaNO_2$) à 5%. Après 5 minutes ajouter 0,02 mL d'une solution de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 10%. Additionner au mélange 2 mL de solution de Na_2CO_3 1M et dilué le tout dans 10 mL d'eau bi-distillée après 5 minutes de repos. Agiter le mélange à l'aide d'un vortex (Heidolph n°54119). Mesurer l'absorbance à 510 nm contre le blanc au spectrophotomètre visible (Zuzi à balayage manuel). Exprimer la teneur en flavonoïdes totaux en mg équivalents de Quercetine (QE) par gramme de la poudre sèche. Utiliser les solutions d'étalon (Quercetine : 5-50mg/mL) pour tracer la courbe d'étalonnage. L'équation standard de la courbe est $Y = 0,0204x + 0,0193$; ($R^2 = 0,9998$).

Dosage des tanins : Il met à profit la réduction du réactif phosphotungstique par les tanins ; la coloration bleue obtenue est évaluée par colorimétrie (par rapport à un témoin).

Mode opératoire : A mL de l'extrait on ajoute 7,5 mL d'eau distillée et 0.5 mL de réactif de Folin- ciocalteu et 1 mL de Na_2CO_3 3.5%. L'absorbance a été mesurée contre le blanc à une longueur d'onde de 725 nm. **La teneur en tanins totaux (exprimée en équivalent d'acide gallique GAE a été**

calculée en utilisant la relation $Y = 0,0041x + 0,0696$; ($R^2 = 0,998$)

Évaluation de l'activité antioxydante : Le DPPH° (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. Du fait que La méthode de DPPH° soit indépendante, simple et rapide présente plusieurs avantages. Le Test de piégeage du radical DPPH est basé sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyle). Lorsqu'un donneur de proton réagit avec Le radical DPPH, ce dernier est réduit en hydrazine correspondant. Le DPPH° réduit s'accompagne par le passage de la solution d'une couleur violette à une couleur jaune. L'absorbance des échantillons est mesurée par spectrophotomètre (Zuzi à balayage manuel) à 517 nm. Une faible absorbance indique une meilleure activité antiradicalaire Molyneux, 2004 selon l'équation chimique :



Où AH est un anti oxydant capable de céder un H au radical DPPH

Mode opératoire : À différentes concentrations (1000 µg/mL à 15 µg/mL), 50 µL de chaque extrait sont ajoutés à 1950 µL d'une solution méthanolique de DPPH à $6,34 \times 10^{-5}$ M. Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ordinaire, l'absorbance est lue à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Zuzi à balayage manuel). L'acide ascorbique utilisé comme contrôle positif est analysé en respectant la même procédure Tailor et Goyal, 2014 ; Mohammad et al., 2011. Les valeurs d'absorbances obtenues ont permis de calculer le taux d'inhibition du radical en fonction des différentes concentrations d'extraits. Partant de ces courbes, la valeur de CI_{50} de chaque extrait a été déterminée. Le pourcentage d'inhibition (PI) est calculé selon la formule :

$$\text{PI} (\%) = \frac{A_T - A_E}{A_T} \times 100$$

PI : Pourcentage d'inhibition ; A_T : Absorbance du témoin ; A_E : Absorbance de l'extrait

Mesure du pouvoir hémolytique : L'hémolyse est mieux évaluée par une méthode *in vitro*. Laver 3 fois par centrifugation à 1000 rpm (Centrifugeuse de marque Centrifuge, modèle 80-2A) pendant 10 min dans le tampon phosphate isotonique (PBS) à pH 7.4 et à la température ambiante (entre 25-30 °C) le sang humain fraîchement obtenue avec un anticoagulant. Enlever la couche tamponnée et à partir du culot globulaire, préparer une suspension érythrocytaire (GRs) (10%). Mélanger 5 mL de suspension GRs à 1 mL d'extraits à différentes concentrations (15,625 µg/mL à 1000 µg/mL). Agiter et incuber dans un bain marie à 37 °C pendant 2 heures en agitant après chaque 10 min à la main pour faciliter l'hémolyse. Prélever 200 µL de chaque concentration y ajouter 3,8 mL de PBS. Centrifuger à 1000 rpm pendant 10 min. Mesurer l'absorbance à 540 nm de l'hémoglobine libéré du surnageant (AE) par spectrophotomètre (marque Zuzi à balayage manuel) (Poonam et al., 2001 ; Aberrane et Mehalla 2019).

Sous les mêmes conditions opératoires, le contrôle positif (100% d'hémolyse AC^+), utiliser 0,5 mL de sang et 1 ml Triton 0,2% dans 0,5 mL de PBS, et également un contrôle négatif (un tube sans traitement induisant une hémolyse naturelle constituée de 0,5 mL de sang et 1 mL de PBS ont été utilisés AC^-). Ainsi les pourcentages d'hémolyse de chacune de concentration sont calculés suivant l'équation sous dessous.

$$\text{Pourcentage d'hémolyse} (\%) = \frac{AE - \text{Ac}^-}{\text{Ac}^+} \times 100$$

AE : Densité optique de l'échantillon

Ac^- : Densité du contrôle négatif

Ac^+ : Densité du contrôle positif

Évaluation de degré de toxicité : La cytotoxicité de ces plantes a été évalué en recourant au tableau de correspondance établi par Mousseux en 1995 (Adjatin et al., 2013 ; Djengué et al., 2017) grâce au logiciel Quest GraphTM IC₅₀ Calculator.

Analyse statistique : Les données de l'étude ont été saisies dans plusieurs bases de données créées grâce au logiciel Microsoft Excel version 2016. Les analyses statistiques des résultats sont données pour des expériences réalisées au moins trois fois et d'une manière indépendante. Les résultats sont présentés comme une moyenne \pm écart-type. Après contrôle de complétude et cohérence des

données, ces bases ont été exportées sur le logiciel IBM SPSS Statistics version 23. Les statistiques descriptives usuelles ont été utilisées pour les calculs de moyenne et écart type. Pour comparer les différentes moyennes des extraits sur leurs activités anti hémolytiques, les analyses des variances (ANOVA) ont été utilisées et le degré de signification est pris à la probabilité $p < 0.05$. La détermination des IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) a été réalisée en utilisant le logiciel Quest GraphTM IC₅₀ calculator Inc. (<https://www.aatbio.com/tools/ic50-calculator>).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus des différentes analyses réalisées sont présentés dans les tableaux 4.1 à 4.6 et figures 4.1a à 4.8b.

Rendement d'extraction: Les résultats du rendement après extraction avec les différents solvants utilisés sont consignés dans le tableau 1.

Tableau 1. Rendement d'extraction des extraits totaux des écorces des plantes

Poudre	Extrait	Masse poudre (g)	Masse extrait (g)	Rendement (%)
<i>Nauclea diderrichii</i>	EDCM	150	24,0	16,00
	EME	150	31,4	21,0
	EAQ	150	35,2	23,5
<i>Pentaclethra macrophylla</i>	EDCM	150	16,4	11,0
	EME	150	26,0	17,3
	EAQ	150	58,5	39,0
<i>Carapa procera</i>	EDCM	150	20,2	13,5
	EME	150	28,0	18,5
	EAQ	150	74,0	49,2
<i>Garcinia kola</i>	EDCM	150	46,0	30,5
	EME	150	51,4	34,3
	EAQ	150	27,2	18,1

Il ressort du tableau 1 que les rendements sont variables selon les solvants d'extraction. En effet, il est observé un rendement de 23,5% dans l'EAQ suivi de 21,0% de l'EME enfin 16,00% dans le EDCM pour les écorces de *N. diderrichii* ; dans l'EAQ (39,0%) suivi de l'EME (17,3%), enfin dans le EDCM (11,0%) pour les écorces de *P. macrophylla* ; dans

l'EAQ (49,2%) suivi de l'EME (18,5%), enfin dans le EDCM (13,5%) pour les écorces de *C. procera*. Quant aux extraits de *G. kola*, il a été constaté une tendance contraire, le rendement avec l'EME (34,3%) est plus élevé, suivi de celui avec 30,5% de l'EDCM et enfin avec l'EAQ de 18,1%. Il a été remarqué que les solvants non polaires ont des rendements

inférieurs aux solvants polaires sauf pour le *G. kola*. Dans les travaux de Ngbolua et al. (2014), il a été déduit également que la partie écorce est riche en composés polaires et cela, varie selon la nature de la plante. Ce qui dénote que les métabolites abondants dans les écorces étudiées sont de nature polaire. Ceci rejoint le constat fait par Ouedraogo (2014) et Nabila et Nassima (2012). Des variations de rendement pourraient être attribuées, non seulement, à la

nature de la plante et à la technique d'extraction, mais également, à l'âge, à la durée du stockage ou à la période de la récolte de la matière végétale (Hagermann et al., 2000 ; Tahouo, 2016).

Screening chimiques : Les résultats de screening chimiques dans le tableau 2 indiquent la présence de quelques métabolites secondaires.

Tableau 2. Screening chimique des extraits totaux des plantes

Métabolites	EDCM				EME				EAQ			
	Ndd	Pcl	Cp	Gk	Ndd	Pcl	Cp	Gk	Ndd	Pcl	Cp	Gk
(1).Polyphénols	+	+	+	+	++	++	+	++	++	++	++	++
Anthocyanes	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-
Tanins	+	+	+	+	+	++	++	+	+	++	++	++
Flavonoïdes	+	+	+	+	++	++	++	+	+	++	++	++
Quinones	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-		
Coumarines	-	-	-	-	-	-	-	-	-		+	-
(2).Terpénoïdes	++	+	++	+	+	+	+	-	+	+	-	+
(3). Stéroïdes	+	+	+	+	+	+	+	+	-		+	
(4). Alcaloïdes	-	-	-	-	++	++	-	+	++	++	-	++
(5). Saponines	-	-	-	-	+	+	+	+	++	+	++	++

Légende : Ndd : Extrait de *N. diderichii* ; Pcl : Extrait de *P. macrophylla* ; Cp : Extrait de *C. procera* et Gk : Extrait de *G. kola* ; (+) : Présents ; (++) : Abondants ; (-) : Absents.

Le screening chimique des extraits des écorces de quatre plantes *N. diderichii*, *P. macrophylla*, *C. procera*, *G. kola* (tableau 4.2) révèle la présence des polyphénols (flavonoïdes, tanins) dans tous les extraits, les quinones (dans le EME de Gc uniquement), les anthocyanes (dans les extraits de EME et EAQ de trois plantes sauf dans le Gc et les coumarines dans les de EAQ de *C. procera* et *G. kola*. Les terpénoïdes sont abondants dans tous les EDCM de toutes les plantes et présents dans les EME et EAQ de *N. diderichii* et *P. macrophylla* respectivement. Les stéroïdes sont présents dans les extraits de toutes les plantes sauf dans l'EAQ de *N. diderichii*. Il a été observé que les alcaloïdes et les saponines sont présentes et abondantes dans les extraits EME et EAQ de toutes les plantes sauf dans l'EAQ de *C. procera*. La présence des composés phénoliques dans *C. procera* a été

également signalée par Ngbolua et al. (2014) sur les écorces de tiges de *C. procera*, ayant des effets anti-drépanocytaires. La présence de saponines et alcaloïdes dans les écorces de *C. procera* peuvent avoir des activités antimicrobienne, antioxydante, antitumorale et servant de précurseurs de substances stéroïdiennes ayant une large gamme d'activités physiologiques, ceci a été confirmée par les travaux de Aguoru et al., (2017) ; Yildirim et Kutlu (2015). La présence des alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, terpénoïdes, stéroïdes et saponines qui sont les composés bioactifs, corrobore les résultats trouvés dans les travaux de Dongmo et al., (2007), Badiaga, (2012) ; Agostini, (2020) sur les écorces de *N. diderrichii* ; de Fungo et al., (2015) ; Oyinloye et al., (2018) ; Lango et al., (2020) sur les écorces de *P. macrophylla* ; de Farombi et al., (2002) ; Okunji et al., (2007) des écorces de *G.*

kola. Les travaux de Ralebona1 N.C.R., Sewani-Rusike1 (2012) montrent que l'extrait éthanolique de *G. kola* augmente à la fois la libido. Ces constituants chimiques identifiés

pourraient en partie justifier l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle.

Dosage des phytomarqueurs : Les teneurs en polyphénols totaux (en mg GAE/g) des différents extraits sont repris dans la figure 1.

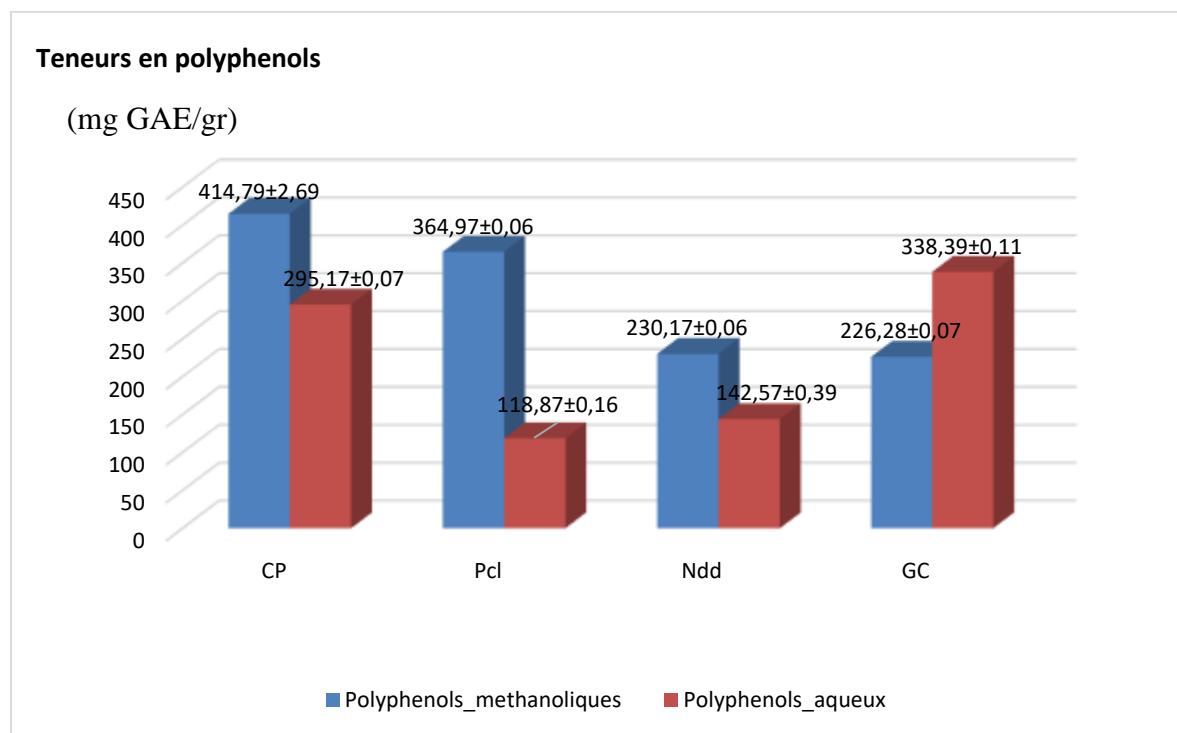


Figure 1 : Teneur en polyphénols totaux des extraits des plantes (Légende : Ndd : *N. diderichii* ; Pcl : *P. macrophylla* ; Cp : *C. procera* et Gc : *G. kola*)

Il ressort de la figure 1 que la teneur en polyphénols varie de 414,79±0,69 mg GAE/g (Cp), 364,97±0,06 mg GAE/g (*P. macrophylla*), 230,17±0,06 mg GAE/g (*N. diderrichii*) à 226,28±0,07 mg GAE/g (*G. kola*) pour les extraits méthanoliques et de 338,39±0,11 mg GAE/g (*G. kola*), 295,17±0,07 mg GAE/g (*C. procera*), 142,57±2,39 mg GAE/g (*N. diderrichii*) à 118,87±0,16 mg GAE/g (*P. macrophylla*)

pour les extraits aqueux. Il a été remarqué que d'une manière générale, les extraits au méthanol révèlent une teneur plus élevée en polyphénols que les extraits aqueux sauf pour *G. kola*. Ceci démontre que les composés polyphénoliques sont plus extractibles au méthanol. L'extrait aqueux de *G. kola* a présenté une tendance contraire. Les teneurs en flavonoïdes totaux (en mg EQ/g) des différents extraits sont repris dans la figure 2.

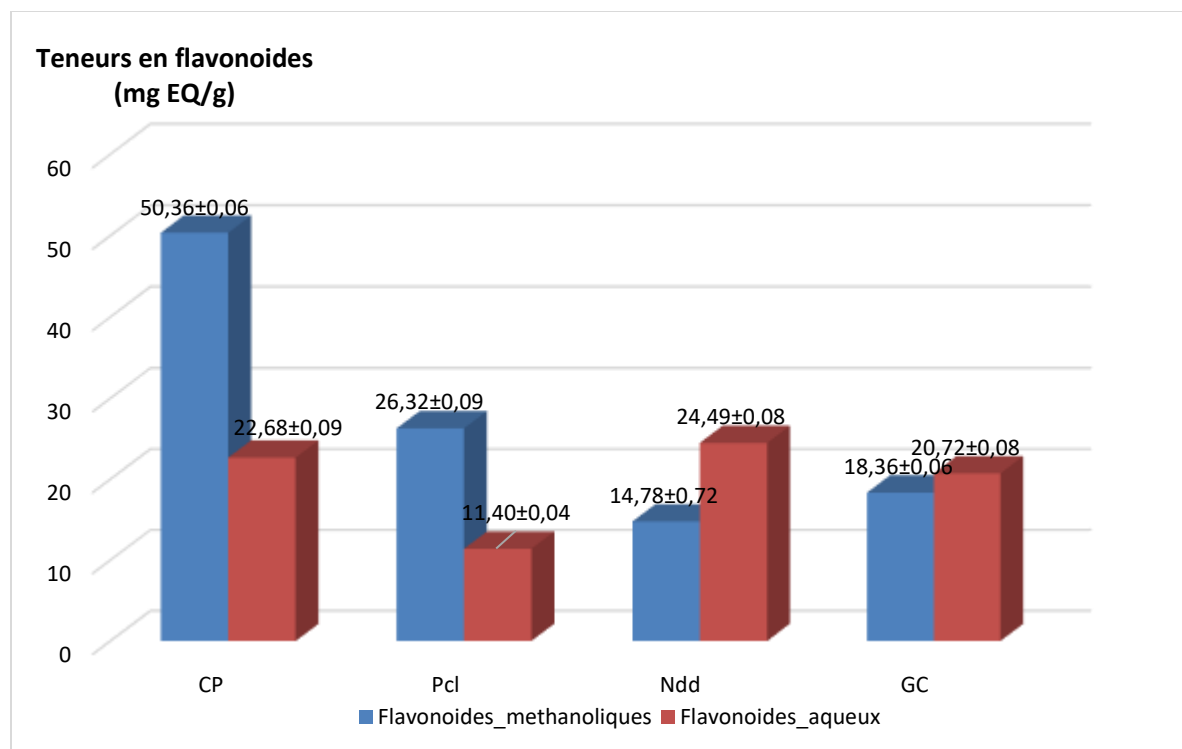


Figure 2 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits des plantes (Légende : Ndd : *N. diderrichii* ; Pcl : *P. macrophylla* ; Cp : *C. procera* et Gc : *G. kola*)

Au regard de ces résultats, il a été constaté une variabilité de teneur en flavonoïdes de 50,36±0,06 mg EQ/g (*C. procera*), 26,32±0,09 mg EQ/g (*P. macrophylla*), 18,36±0,06 mg EQ/g (*G. kola*) à 14,78±0,72 mg EQ/g (*N. diderrichii*) pour les extraits méthanoliques et

de 24,49±0,08 mg EQ/g (*N. diderrichii*), 20,72±0,08 mg EQ/g (*G. kola*), 22,68±0,09 mg EQ/g (*C. procera*) à 11,40±0,04 mg EQ/g (*P. macrophylla*) pour les extraits aqueux. Les teneurs en tanins (en mg GAEQ/g) des différents extraits sont repris dans la figure 3.

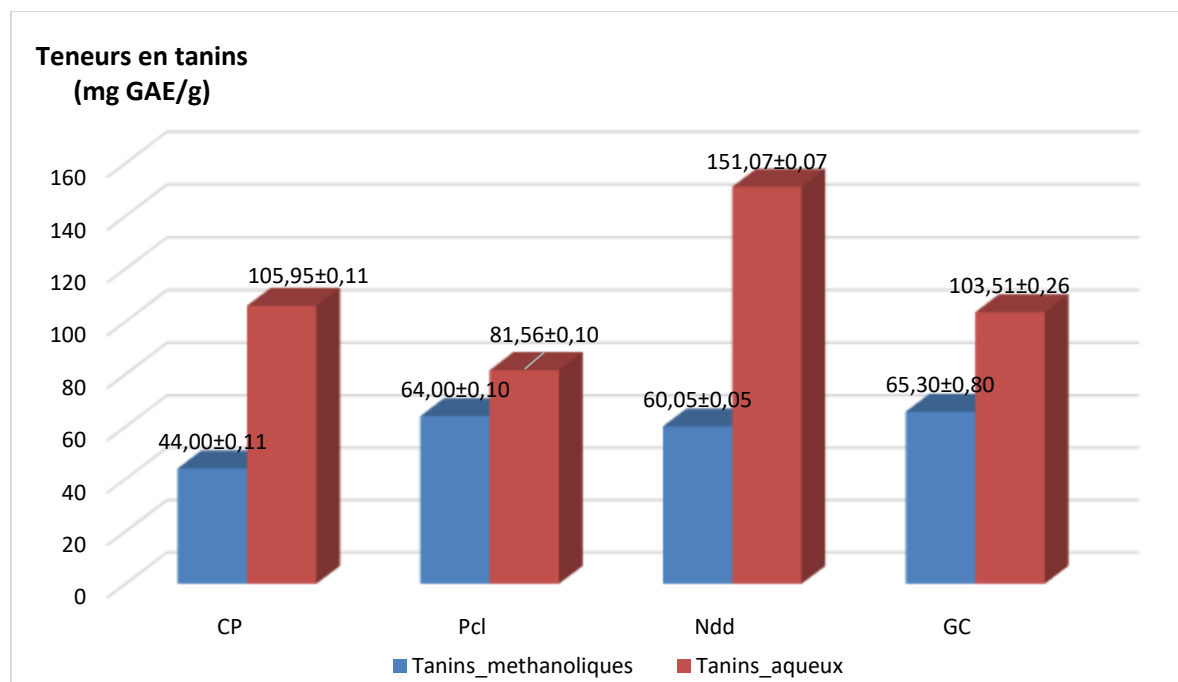
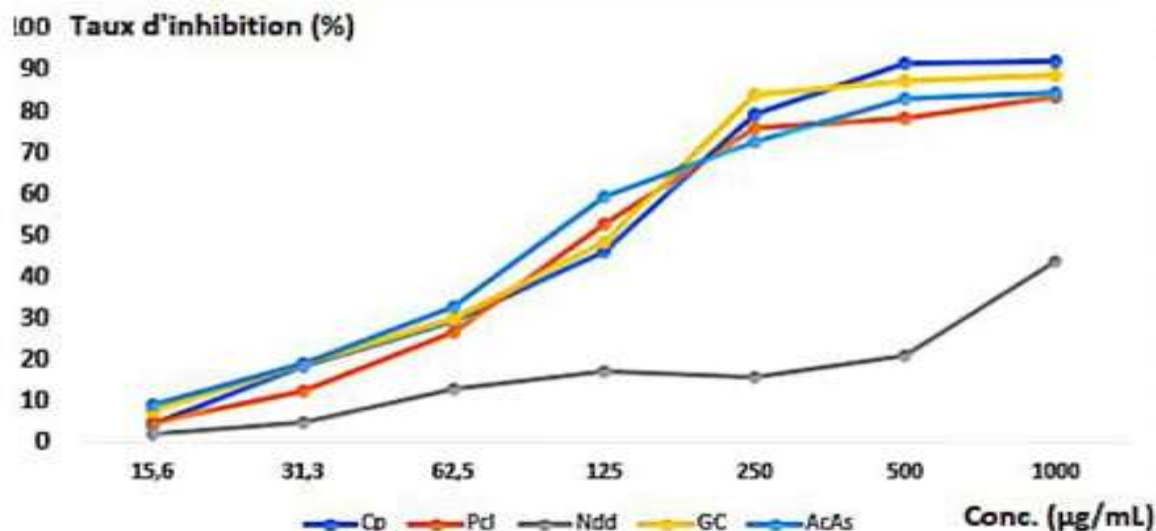


Figure 3 : Teneur en tanins totaux des extraits des plantes (Légende : Ndd : *N. diderrichii* ; Pcl : *P. macrophylla* ; Cp : *C. procera* et Gc : *G. kola*)

Il ressort de la figure 3 que la teneur en tanins varie de 65,30±0,80 mg GAE/g (*G. kola*), 64,00±0,10 mg GAE/g (*P. macrophylla*), 60,05±0,05 mg GAE/g (*N. diderrichii*) à 44,00±0,11 mg GAE/g (*C. procera*) pour les extraits méthanoliques et de 151,07±0,07 mg GAE/g (*N. diderrichii*), 105,95±0,11 mg GAE/g (*C. procera*), 103,51±0,26 mg GAE/g (*Gc*) à 81,56±0,10 mg GAE/g (*P. macrophylla*) pour les extraits aqueux. Il a été remarqué que les extraits aqueux révèlent une

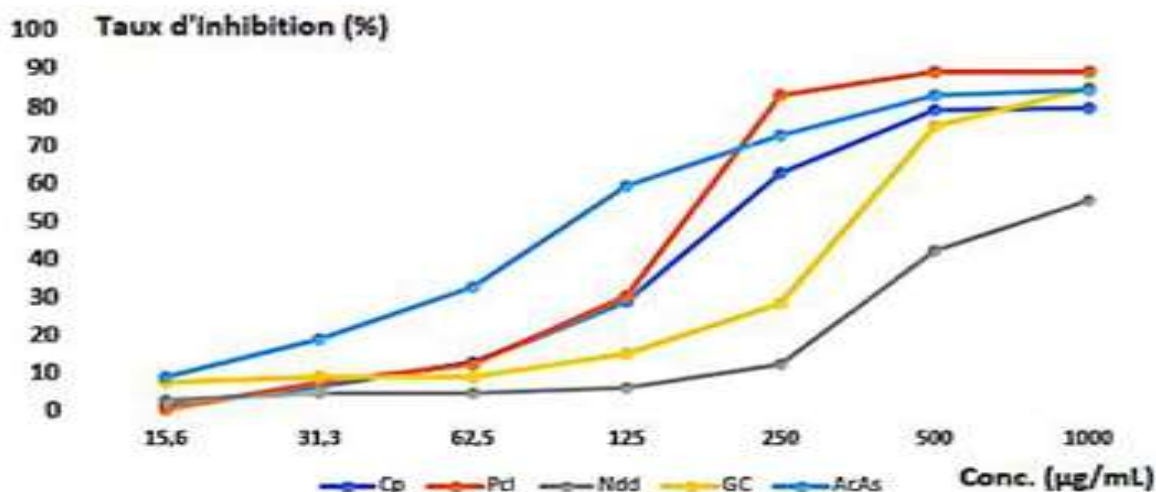
teneur plus élevée que les extraits méthanoliques. Cette concentration élevée des tanins dans les extraits aqueux peut être expliqué par le fait que les tanins sont des composés phénoliques très solubles dans l'eau (Tahouo, 2016).

Activité antioxydante (piégeage du radical DPPH) : Les résultats de l'activité antioxydante par le piégeage du radical DPPH des extraits de plantes sont consignés dans les figures 4 et 5.



Légende: Cp: *Carapa procera* ; Pcl: *Pentaclethra macrophylla* ; Ndd: *Nauclea diderrichii* ; Gc: *Garcinia kola* ; AcAs: Acide ascorbique

Figure 4. Taux d'inhibition d'EAQ et AcAs aqueux



Légende: Cp: *Carapa procera* ; Pcl: *Pentaclethra macrophylla* ; Ndd: *Nauclea diderrichii* ; Gc: *Garcinia kola* ; AcAs: Acide ascorbique

Figure 5. Taux d'inhibition d'EME et AcAs aqueux

Il ressort des figures 4 et 5 que les extraits de concentrations de 15,5 µg/mL à 1000 µg/mL montrent un taux d'inhibition dans la séquence *C. procera* (4,2% à 91,6%), *G. kola* (7,5% à 88,5%), *P. macrophylla* (4,7% à 83,3%), *N. diderrichii* (1,6% à 43,2%) pour les EME ; *P. macrophylla* (0,2% à 88,9%), *G. kola* (7,5% à 84,5%), *C. procera* (1,2% à 79,7%), *N. diderrichii* (2,5% à 55,1%) pour les EAQ et

8,9% à 84,0% pour l'acide ascorbique. Un taux d'inhibition élevé a été observé à 1000 µg/mL de *C. procera* (91,6%) et *G. kola* (88,5%) pour les EME et de *P. macrophylla* (88,9%), *G. kola* (84,5%) pour les EAQ par rapport à l'acide ascorbique (83,98%). Par contre un taux d'inhibition similaire de *P. macrophylla* (83,3%) pour EME et très faible de *N. diderrichii* (55,1%, 43,2% pour les deux

extraits) par rapport à l'AcAs a été remarqué. En comparant les deux extraits, il a été observé que les EME ont montré le taux d'inhibition élevé que les EAQ, à cause certainement de leurs teneurs élevés en polyphénols totaux. Les flavonoïdes et tanins sont des anti oxydants puissants qui ont la capacité de prévenir et d'arranger les dommages causés par les radicaux libres et agissent comme des poubelles à radicaux libres. Les molécules anti oxydantes apportées par les aliments peuvent détruire les radicaux libres produits au cours des métabolismes cellulaires (Emeraux, 2019 ; Allaert et al., 2018 ; Ebrahimzadeh et al., 2000). Les propriétés antioxydantes de ces quatre plantes sous étude ont été confirmées par les travaux de Ngbolua et al. (2014) et Secka et al., (2021) sur les écorces de *C. procera* ; de Lango (2020) et Yamssi et al., (2018) sur les écorces de *P. macrophylla* ; de Sidiq et al., (2018) sur les écorces de *N.*

diderrichii et de Ekene (2014) sur les écorces de *G. kola*. Par ailleurs, certains travaux antérieurs ont montré un lien étroit entre la dysfonction érectile et le stress oxydant. En effet, le mono oxyde d'azote (NO) perd alors ses propriétés physiologiques et devient au contraire très toxique par la réaction instantanée avec les espèces oxygénées (EOA) et la formation de peroxynitrites (ONOO). Cette hypothèse soutient que les propriétés radicalaires pourront être bénéfique dans la prise en charge de la dysfonction érectile (Triggle, 2003 ; Ellis, 2010).

Efficacité antioxydante des extraits des plantes: Les valeurs IC₅₀ déterminées en mg/mL expriment la concentration efficace de l'extrait antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% de moles de radical DPPH en dissolution dans les extraits. Le tableau 3 donne les valeurs de l'efficacité antioxydante.

Tableau 3. Efficacité Anti oxydante des extraits (mg/mL)

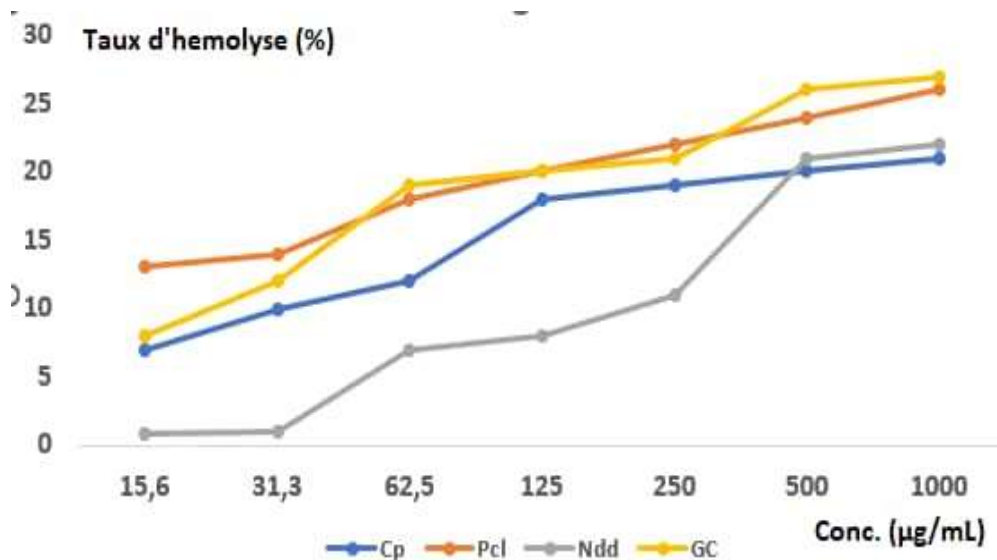
Espèce végétale	IC ₅₀ EME (mg/mL)	IC ₅₀ EAQ (mg/mL)
<i>C. procera</i>	0,163	0,126
<i>P. macrophylla</i>	0,097	0,149
<i>N. diderrichii</i>	0,387	4,820
<i>G. kola</i>	0,326	0,117
AcAsc	0,080	0,080

L'efficacité antioxydante des différents extraits a été déduite à partir des valeurs de leurs IC₅₀. D'après ces valeurs (tableau 4.4), l'efficacité antioxydant des échantillons devrait dans l'ordre suivant, AcAsc (0,080) > *P. macrophylla* (0,097) > *C. procera* (0,163) > *G. kola* (0,326) > *N. diderrichii* (0,387) pour le EME et AcAsc (0,080) > *G. kola* (0,116) > *C. procera* (0,126) > *P. macrophylla* (0,149) > *N. diderrichii* (4,820) pour le EAQ. L'efficacité de trois premières plantes approche celles de l'acide ascorbique. Cependant, les extraits de *N. diderrichii* révèlent une capacité faible par rapport au composé standard utilisé. Il a été prouvé que les antioxydants tels que l'acide ascorbique, le tocophérol, les tanins et les

flavonoïdes réduisent et décolorent le radical DPPH en raison de leur capacité à céder le proton. Les polyphénols présents dans les extraits de ces plantes sont éventuellement responsables de l'activité antioxydante de ces extraits. Cela rejoint les travaux de Nabila et al. (2012) menés sur les extraits de *Satureja calamintha*.

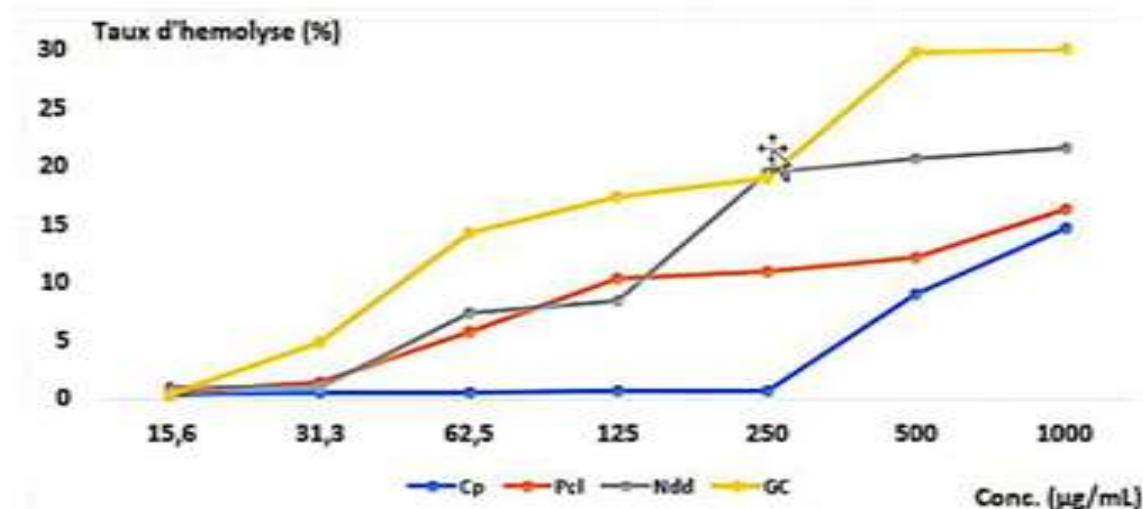
Activité hémolytique : Le test d'hémolyse a été réalisé puis que, même si une plante a une grande capacité anti oxydante, son utilisation en médecine traditionnelle et dans les préparations pharmaceutiques sera impossible en présence de leur effet hémolytique, qui est un indicateur de la toxicité cellulaire (Houmènou et al., 2018). Les taux d'hémolyse

des extraits aqueux et methanolique de quatre plantes en fonction des concentrations sont représentés dans les figures 6 et 7.



Légende: Cp: *Carapa procera* ; Pcl: *Pentaclethra macrophylla* ; Ndd: *Nauclea diderrichii* ; Gc: *Garcinia kola* ; AcAs: Acide ascorbique

Figure 6. Pouvoir hémolytique des extraits EME des plantes



Légende: Cp: *Carapa procera* ; Pcl: *Pentaclethra macrophylla* ; Ndd: *Nauclea diderrichii* ; Gc: *Garcinia kola* ; AcAs: Acide ascorbique

Figure 7 : Pouvoir hémolytique des extraits d'EAQ des plantes

Au regard des figures 6 et 7, il a été constaté que tous les extraits à 1000 µg/mL ont de pouvoir hémolytique faible : de *C. procera* (14.7%) < *P. macrophylla* (16.4%) < *N.*

diderrichii (21.6%) < *G. kola* (21%), les EAQ et de *C. procera* (21%) < *N. diderrichii* (22%) < *P. macrophylla* (26%) < *G. kola* (28%), pour les EME. Il ressort de ces résultats

que les taux d'hémolyse sont directement proportionnels à l'augmentation des concentrations des extraits, et que les extraits aqueux ont d'effet hémolytique faible par rapport aux extraits méthanoliques. Ce qui corrobore les travaux de Haddouchi et al. (2016) sur les extraits méthanoliques de quatre plantes sahariennes d'Algérie et également à ceux d'Elalaoui (2015) sur les extraits de *Berberis vulgaris* L. Cependant, les extraits méthanoliques de *P. macrophylla* et *G. kola* peuvent être légèrement hémolytiques à des concentrations supérieures à 1000 µg/mL.

Cytotoxicité : L'intérêt de ces plantes exigerait qu'une approche de leur toxicité puisse être entreprise en vue de leur utilisation thérapeutique, malgré qu'elles soient anti oxydantes. Le degré de toxicité de ces différentes espèces a été évalué en considérant les résultats de taux d'hémolyse de chaque extrait en se basant sur les tableaux 4 et 5 de correspondance entre IC₅₀ et la toxicité établie par Mousseux en 1995 utilisée par Adjatin et al. (2013) ; Djengué et al. (2017) et Houmènou et al. (2018).

Tableau 4. Niveau de toxicité des extraits plantes en fonction de la valeur de IC₅₀.

Extraits	IC ₅₀ EME (mg/mL)	Toxicité	IC ₅₀ EAQ (mg/mL)	Toxicité
<i>C. procera</i>	0,069	+	0,477	-
<i>P. macrophylla</i>	0,079	+	0,109	-
<i>G. kola</i>	0,003	+++	0,046	+
<i>N. diderrichii</i>	0,277	-	0,128	-

Légende : Non toxique (-), Faible toxicité (+), Toxicité moyenne (++) , Forte Toxicité (+++)

Tableau 5. Degré de toxicité des extraits des plantes par Mousseux en 1995

IC ₅₀	Toxicité
IC ₅₀ ≥ 0,1 mg/mL	Non toxique (-)
0,1 mg/mL > IC ₅₀ ≥ 0,050 mg/mL	Faible toxicité (+)
0,050 mg/mL > IC ₅₀ ≥ 0,01mg/mL	Toxicité moyenne (++)
IC ₅₀ < 0,01mg/mL	Forte toxicité (+++)

Il ressort de cette étude que les extraits aqueux sont en générale non toxiques, sauf l'extrait de *G. kola* qui est faiblement toxique après comparaison à l'échelle de Mousseux. Les valeurs de IC₅₀ obtenues pour les extraits méthanoliques de *C. procera* et *P. macrophylla* sont faiblement toxiques car leur IC₅₀ sont dans l'intervalle de 0,1mg/mL > IC₅₀ ≥ 0,050 mg/mL. Par contre, l'extrait méthanolique de *N. diderrichii* s'avère non toxique car son IC₅₀ est supérieur à 0,1 mg/mL et seul l'extrait de *G. kola* est fortement toxique. La toxicité de *G. kola* serait due par sa richesse en composés polyphénoliques et surtout alcaloïdiques. Ce qui signifie que la majorité d'extraits n'est pas toxiques pour les

érythrocytes humains. Toute fois l'absence de toxicité d'une drogue végétale ne signifie pas que la recette dans laquelle elle est utilisée l'est aussi. Des tests pharmacologiques des diverses recettes impliquant ces plantes sont toujours d'un intérêt sur le plan pharmacologique. Dans ces conditions seules les recettes utilisant une seule drogue non toxique peuvent être considérées comme exemptés de toute toxicité. Eu égard aux résultats obtenus nous pouvons affirmer que les recettes provenant de la décoction de ces plantes sont non toxiques. Les études ultérieures peuvent évaluer leurs conservations, afin de proposer à la communauté un phytomédicament bon marché.

CONCLUSION ET APPLICATIONS DES RESULTATS

La présente étude poursuivait l'objectif à réaliser une étude phyto-chimique et d'évaluer in vitro, les activités anti oxydantes et cytotoxiques de quatre plantes (*Carapa procera*, *Pentaclethra macrophylla*, *Garcinia kola* et *Nauclea diderichii*) récoltées à Mbandaka en République démocratique du Congo. Cette étude nous a permis de mettre en évidence la présence des polyphénols (flavonoïdes et tanins) dans tous les extraits de quatre plantes de l'étude. Le taux d'inhibition au radical DPPH des extraits méthanoliques était plus élevé que celui des extraits aqueux de ces plantes. Les tests biologiques réalisés in vitro par la méthode spectrophotométrique ont montré une croissance proportionnelle entre les concentrations en extraits et le taux d'hémolyse. Le test de la toxicité des extraits a révélé que les extraits aqueux de ces plantes sont non toxiques ($IC_{50} \geq 0,1$ mg/mL) alors que les extraits méthanoliques sont légèrement toxiques $0,1\text{mg/mL} > IC_{50} \geq 0,050$ mg/mL

sauf *Garcinia cola* qui est extrêmement toxiques ($IC_{50} < 0,01\text{mg/mL}$). Ces phyto constituants trouvés sont probablement responsables de l'activité anti-oxydante, et pourraient en partie justifier l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle pour le traitement des défaillances sexuelles. Nous soutenons donc en partie l'utilisation de ces trois plantes dans le traitement des troubles érectiles chez les humains. En perspectives, les travaux ultérieurs sur ces extraits s'imposent au niveau pharmacologique et chimique, avec un focus sur la purification, l'identification et l'isolement des principes actifs impliqués dans les pouvoirs antioxydant et cytotoxique de ces écorces, utiles pour une prise en charge optimale des cas de dysfonction érectile dans le monde. Il est donc souhaitable que cette étude soit complétée par l'optimisation des activités obtenues en fonctions des paramètres cinétiques et expérimentaux influençant leur mécanisme.

RÉFÉRENCES

- Adjatin A., Dansi A., Badoussi E., Loko Y. L., Dansi M., Azokpota P., Gbaguidi F., Ahissou H., Akoègninou A., Akpagana K., Sanni A., (2013). Phytochemical screening and toxicity studies of *Crassocephalum rubens* (Juss. ex Jacq.) s. moore and *Crassocephalum crepidioides* (Benth) s. moore consumed as vegetable in Benin, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **5**, 160-167.
- Agostini M., (2020). Contribution à l'étude de l'origine naturelle du tramadol et étude phytochimique de plantes deux Alpines. Thèse soutenue publiquement le 7 septembre 2020, Université de Grenoble Alpes, France.
- Allaert F.A., Guillemet D., Herpin F., Schueller R., (2021). Evaluation of the effectiveness of polyphenols from grape and apple combined with safron on erectile function: *An Observational Study*. Archives in Biomedical Engineering and Biotechnology **5** (4).
- Badiaga, M., (2011). Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. These de Doctorat en chimie, Université de Bamako/Mali, p184.
- Bakaa K.H., Moudouri S.M., Sanda G., Sadiki B., Lakmichi A.M., Dahami Z. et Sartf I. (2017). Prévalence de la dysfonction érectile en urologie, *African Journal of Urlogy*, **23**, 327-330.
- Diao B., Ndoye A.K., Fall P.A., Niang L., Odzebe A., Bah I., Diagne B.A., (2007). La dysfonction érectile au Sénégal: profil épidémiologique, *Andrologie*, **17**, p 223.
- Djengue H.W., Dansi A., Assogba M.F., Ahissou H., Adjatin A., Dansi, M.,

- Gbénou D.J., (2017). Phytochemical screening and toxicity of *Lippia multiflora* Moldenke, a minor aromatic leafy vegetable consumed in Benin, *International Journal Current Research Biosciences Plant Biology*, **4**, 77-84.
- Dongmo Fomekong G.-I. (2007). Phytochemical constituents and antioxidant potential of some Cameroonian medicinal plants, *Pharmacologyonline*, **2**, 436-452..
- Ebrahimzadeh M.A., Nabavi S.M., Nabavi S.F., Bahramian F., Bekhradnia A.R., (2010). Antioxidant and free radical scavenging activity of *H. officinalis* L. Var. *Angustifolius*, *V. Odorata*, *B. hyrcana* et *C. Speciosum*, *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, **23**, 29-34.
- Elalaoui Rachida (2015). Contribution à la recherche d'effet hémostatique à partir d'extraits de *Berberis vulgaris* L, Mémoire de Master en biologie appliquée, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen/Algérie.
- Ellis A., Triggle C.R., (2003). Endothelium-derived reactive oxygen species: their relationship to endothelium-dependent hyperpolarization and vascular tone, *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **81**, 1013-1028.
- Farombi O.E., Kanni O.O., Emerole O., (2002). Antioxidant and scavenging activity of flavonoid extract (kolaviron) *Garcinia kola* seeds. *Pharmaceutical Biology*, **40**, 107-116.
- Fungo R., Muyonga J., Kaaya A., Okia C., Tieguhong J.C., (2015). Nutrients and bioactive compounds content of *Baillonella toxisperma*, *Trichoscypha abut* and *Pentaclethra macrophylla* from Cameroon, *Food Science and Nutriment*, **3**, 292-301.
- Haddouchi F., Chaouche T.M., Halla N., (2016). Phytochemical screening, antioxidant activities and hemolytic power of four Saharan plants from Algeria, *Thnopharmacology*, **11**, pp.
- Hagerman A.E., Butler L.G., (1978). Protein Precipitation Method for the Quantitative Determination of Tannins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **26**, 809-812.
- Houmenou V., Adjatin A., Assogba F., Gbénou J., Akoègminou A. (2018). Étude phytochimique et Cytotoxicité de quelques plantes utilisées dans le traitement de la stérilité féminine au Sud-Bénin, *International Journal of Biological*, **14**, pp. 1851-1871.
- Isaac M.N. (2009). Étude prospective des troubles de l'érection dans le service d'urologie (C.H.U. DU POINT G), Thèse en Pharmacie, Université de Bamako.
- Kamatenesi-Mugisha M., Oryen-Origa H. (2005). Traditional herbal remedies used in the management of sexual impotence and erectile dysfunction in western Uganda, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and drug Research*, **5**, 40-49. .
- Ngbolua K.N., Mudogo V., Mpiana T.P., Tshibangu D. S.T (2014). Ethnopharmacological survey, *in vitro* anti-sickling and free radical scavenging activities of *Carapa procera* DC., stem bark (Meliaceae), *Nova Journal of Medical and Biological Sciences*, **2**, 1-14.
- Lango-yaya E., Worowounga X., Issa-Madongo M., Namkona A. F., Saravolia M., Rafai C. D. et Syssa-Magalé J. L. (2020). Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques des écorces de racines de *Paullinia pinnata* et des feuilles de *Pentaclethra macrophylla*, **147**, N°1 (20202).
- Loposso Nkumu M. M., Kane Kapinga Ch., Mafuta Tsita A., Moningo D. (2020). A

- Cross-Sectional Study According to Risk Factors Associated with Erectile Dysfunction in Men, *Advances in Sexual Medicine*, **10** (03): 104-118.
- Mamadoa Badiaga, (2012). Étude ethnobotanique et activités biologique de *nauclea latifolia smith*, une plante médicinale africaine du Mali, thèse, Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université de Bamako.
- Meraux E.E., (2019). Propriétés biologiques des flavonoïdes : étude bibliographique et évaluation de l'activité antioxydante, Thèse en Sciences Pharmaceutiques, Université de Lorraine.
- Mousseux, M. (1995). Test de toxicité sur les larves d'*Artemia salina* et d'entretien d'un élevage de balanes, Rapport de stage de deuxième année. DEUST Aquaculture; Centre Universitaire de Nouvelle-Calédonie, France, p 75.
- Nabila Bougandoura, Nassima Bendimerad (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *nepeta* (L.) Briq. *Nature et Technology, B-Sciences Agronomiques et Biologiques*, **14**, 14-19.
- Niangaly M. H. (2020). Plantes médicinales utilisées dans la prise en charge de la dysfonction érectile par les tradipraticiens de l'Association « *Ton de Pena* » à Bamako, Thèse en Pharmacie, Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako/Mali.
- Nijvedildt R. J., Nood E., Hoorn D.E.C., Boelens P.G., Norren K. and Leeuwen P.A.M. (2001). Flavonoids: a Review of Probable Mechanisms of action and Potential Application, *American Journal Clinic Nutrition*, **74**, 418-425.
- Okunji C.O., Tantalía A.W, Hicks R.P., Iwu M.M., Skanchy D.J., (2002). Capillary electrophoresis determination of biflavonones from *Garcinia kola* in three traditional African medicinal formulations, *Plant Medicine*, **68**, 440-444.
- Ouedraogo Moustapha (2014). Étude pharmaco-chimique du macéré aqueux des écorces de racines de *Calotropis procera* ait (Asclepiadaceae) utilisées en phytothérapie de la maladie drépanocytaire au Burkina Faso, Thèse de Doctorat, Université de Ouagadougou/Burkina Faso.
- Oueslati A., (2017). Prévalence et facteurs de risque de la dysfonction érectile chez les insuffisants rénaux chroniques, *African Journal of Urology*, **23**, 331-337.
- Oyinloye A.M. and Enujiugha V.N. (2018). Antioxidant properties of African oil bean (*Pentaclethra macrophylla* benth) Seed Phenolics as Influenced by Extraction Solvents and Heat Treatments. Proceeding of the 4th Regional Food Science and Technology Summit (ReFOSTA) Akure, Ondo, State Nigeria.
- Secka I.B.A., Hosu A., Seck M., (2021). Phytochemicals content, screening and antioxidant/pro-oxidant activities of *Carapa procera* (barks) (Meliaceae), *South African Journal of Botany*, **137**, 369-376.
- Solstad K. (1993). Frequency of sexual problems and sexual dysfunction in middle-aged Danish men, *Archives of Sexual Behavior*, Vol. **22**, pp. 51-58.
- Pietta, P.-G., (2000). Flavonoids as Antioxidants, *Journal of Natural Products*, **63**, 1035-1042.
- Ralebona1 N.C.R., Sewani-Rusike1 (2012). Effects of ethanolic extract of *Garcinia kola* on sexual behaviour and sperm parameters in male wistar rats, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **6**, 1077-1082.

- Roumeguère Th., Antwerpen P.V., Fathi H. and Rousseau A., (2017). Relationship between oxidative stress and erectile function. *Free Radical Research*, **51**, 1-181.
- Rudelle E., Bitcker M.O., Saad H., Chatelain C., (1993). Priapisme Encycl. Méd. Chir. (Paris-France), *Urologie*, 18-380-A-10, p.5.
- Salah Sheweita (2015). Erectile dysfunction drugs and oxidative stress in the liver of male rats, *Toxicology Report*, **2**, 933-938.
- Susan E, Aeho. Le Manuel Veterinarier M., (2002) In: Duncan J.H et Prasse K. W *Veterinary laboratory Medicine*, Iowa State-University. 2ème Edition. 1è rue chpon. 75003.
- Tembely A.D., Diakité M.L., Ouattara A.Z., Diakité A.S., Traoré B., Kanté M., Coulibaly L., Berthe H.J.G. (2016). Profil épidémiologique clinique et para clinique de la dysfonction érectile en consultation dans le service d'urologie du CHU du point G. *Mali médical*, **31**, 9-17.
- Tahouo Sekpa F. (2016). Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments à base de plantes ; Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Felix Houphouet Boigny, Cote d'ivoire , p 141.
- Virag R., (1982). Intracavernous infection of Papaverine for erectile failure. *Lancet*, **2**, 938.
- Wang Y., Zhang Y., Zhu Z., Zhu S., Li M., Yu B. (2007). Exploration of the correlation between the structure, hemolytic activity and cytotoxicity of steroid saponins, *Bio Organic and Medicinal Chemisty*, **15**, 2528-32.
- Yamssi Cédric, Vincent Khan Payne, Noumedem Anangmo Christelle Nadia, Norbert Kodjio, Etung Kollins, Leonelle Megwi, Jules-Roger Kuate et Mpoame Mbida, (2018). Assessment of anticoccidial and antioxidant efficacy of methanolic extract of *Pentaclethra macrophylla* on rabbits research, *Journal of veterinary sciences*, **11**, 1-10.