

# Évaluation de la toxicité, de l'activité antioxydante, et des teneurs en polyphénols des écorces de tronc de *Pentaclethra Eetveldeana* wild & T. Durand (Fabaceae)

**Elva Ngolo**

Laboratoire de Biochimie et  
Pharmacologie, Faculté de Sciences de la  
santé, Université Marien NGOUABI, PB  
69, Brazzaville - Congo  
Institut National de Recherche en  
Sciences de la Santé, Département de  
pharmacopée et médecine traditionnelle,  
Laboratoire de chimie des biomolécules  
organique et de pharmacodynamie. Cité  
Scientifique (EX ORSTOM), Brazzaville-  
Congo  
[ngoloelva@gmail.com](mailto:ngoloelva@gmail.com)

**Arnaud Wilfrid Etou Ossibi**

Laboratoire de Biochimie et  
Pharmacologie, Faculté de Sciences de la  
santé, Université Marien NGOUABI, PB  
69, Brazzaville – Congo  
[etouarnaud@yahoo.fr](mailto:etouarnaud@yahoo.fr)

**Blondy Mboundou-Bouesse**

Laboratoire de Biochimie et  
Pharmacologie, Faculté de Sciences de la  
santé, Université Marien NGOUABI, PB  
69, Brazzaville – Congo  
Institut National de Recherche en  
Sciences de la Santé, Département de  
pharmacopée et médecine traditionnelle,  
Laboratoire de chimie des biomolécules  
organique et de pharmacodynamie. Cité  
Scientifique (EX ORSTOM), Brazzaville-  
Congo [blondymboun@gmail.com](mailto:blondymboun@gmail.com)

**Andreea Veronica Botezatu**

Département de Chimie, Physique et  
Environnement Université "Dunarea de  
Jos" de Galati,  
Galati Romania [andreea.botezatu@ugal.ro](mailto:andreea.botezatu@ugal.ro)

**Longin Justin Clair Bonazaba Milandou**

Unité de Chimie du Végétal et de la Vie,  
Faculté des Sciences et Techniques,  
Université Marien NGOUABI, B.P. 69,  
Brazzaville-Congo  
[longinbonal@gmail.com](mailto:longinbonal@gmail.com)

**Rodica Mihaela Dinică**

Département de Chimie, Physique et  
Environnement  
Université « Dunarea de Jos » de Galati  
Galati, Romania  
[rodica.dinica@ugal.ro](mailto:rodica.dinica@ugal.ro)

**Bianca Furdui**

Département de Chimie, Physique et  
Environnement  
Université « Dunarea de Jos » de Galati  
Galati, Romania  
[bfurdui@ugal.ro](mailto:bfurdui@ugal.ro)

**Résumé-Contexte** — *Pentaclethra eetveldeana* est une plante médicinale largement utilisée en Afrique centrale pour le traitement de diverses affections. Selon la bibliographie, il existe peu des données scientifiques sur son innocuité et son potentiel biologique. L'étude présentée visait à évaluer la toxicité aiguë et l'activité antioxydante ainsi que la détermination des teneurs des composés polyphénolique des extraits des écorces de tronc de *P. eetveldeana*.

**Méthodes** : Les extraits de *P. eetveldeana* ont été préparés par extraction à ultrasons dans différents solvants. La toxicité aiguë a été évaluée par la méthode de l'OCDE de la ligne directrice 423 chez les souris. L'activité antioxydante a été évaluée à l'aide des tests *in vitro*, tels que le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), le test de décoloration des cations radicaux 2,2'-azino-bis(3éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS), la capacité antioxydante totale (TAC) et la capacité de liaison du fer des chélateurs. Le dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux a été réalisé respectivement par les méthodes utilisant le réactif de FolinCioaltea et le chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>).

**Résultats** : L'extrait de *P. eetveldeana* n'a pas montré de signes de toxicité aiguë aux doses de 500 et 1000 mg/Kg (DL<sub>50</sub> > 1000 mg/kg). Une activité antioxydante significative a été observée, avec une inhibition dose dépendante des radicaux libres dans les tests DPPH et ABTS. Les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux étaient élevées, confirmant la richesse de la plante en composés bioactifs.

**Conclusion** : Les résultats suggèrent que *P. eetveldeana* possède une faible toxicité dose dépendante, une activité antioxydante marquée et un fort contenu en polyphénols et flavonoïdes. Ces données soutiennent son usage traditionnel et ouvrent la voie aux études approfondies sur ses propriétés thérapeutiques potentielles.

**Mots-clés** — *Pentaclethra eetveldeana*, toxicité aiguë, antioxydant, polyphénols et flavonoïdes.

## I. INTRODUCTION

Les plantes médicinales représentent depuis longtemps une source majeure de molécules bioactives utilisées dans le traitement de diverses affections. En Afrique subsaharienne, de nombreuses espèces végétales sont employées en médecine traditionnelle, mais leur efficacité et leur sécurité d'utilisation

demeurent encore peu documentées par des approches scientifiques rigoureuses [1].

L'évaluation de la toxicité et du potentiel phytochimique de ces plantes constitue donc une étape essentielle pour valider leur usage empirique et envisager de futures applications thérapeutiques.

Parmi ces espèces végétales, on trouve *Pentaclethra eetveldeana*. Ce genre *Pentaclethra* est représenté par seulement 3 espèces (*Pentaclethra eetveldeana*, *P. macrophylla* et *P. macroloba*). Les études phytochimiques antérieures ont révélé que les plantes du genre *Pentaclethra* sont une source riche en métaboliques secondaires tels que les saponosides, les tanins, les alcaloïdes, les flavonoïdes et les monoglycérides [2]. S'agissant de l'espèce *Pentaclethra eetveldeana*, traditionnellement, les écorces de *Pentaclethra eetveldeana* sont reconnues pour leurs propriétés émétiques, purgatives, analgésiques et antiparasitaires. De plus ses feuilles sont utilisées pour traiter la démence, une maladie neurodégénérative caractérisée par la libération de radicaux libres, notamment de type peroxyde [3]. Toutefois, peu d'études ont exploré son profil phytochimique et ses effets biologiques de manière systématique.

En effet, les polyphénols et les flavonoïdes étant largement reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, jouent un rôle crucial dans la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène en contribuant ainsi à la prévention du stress oxydatif impliqué dans plusieurs pathologies chroniques. Par ailleurs, l'étude de la toxicité est indispensable afin de déterminer les marges de sécurité d'utilisation de la plante.

Dans ce contexte, la présente étude vise à : (i) évaluer la toxicité aiguë, (ii), examiner son activité antioxydante à l'aide de tests *in vitro*, et (iii) déterminer les teneurs en polyphénols et flavonoïdes des écorces tronc de *Pentaclethra eetveldeana*. Ces résultats devraient contribuer à une meilleure compréhension du potentiel pharmacologique de cette espèce et fournir une base scientifique pour son usage en médecine traditionnelle.

## II. MÉTHODOLOGIE

### A. Matériel végétal

Les écorces de tronc de *P. eetveldeana* ont été récoltées le 14 mai 2025, dans la forêt de la cité scientifique Château d'eau situé dans l'arrondissement 1 Makélékélé (BrazzavilleCongo).

#### B. Matériel animal

Les souris swiss (*Mus musculus*) de souche albinos, de poids corporel compris entre 25 et 30 g et âgées de  $14 \pm 2$  semaines ont été utilisées.

Ces animaux ont été fournis par l'animalerie de l'Institut National de Recherche en Sciences de la Santé. Ils étaient élevés dans les conditions standards de température de l'air d'environ 27 °C, du taux d'humidité de 50 à 60 % et d'un cycle photopériodique de 12 heures de jour/nuits. Ces animaux avaient un accès libre à l'eau du robinet et à de la nourriture sous forme de galettes.

#### C. Préparation des extraits des écorces de tronc de *P. eetveldeana*

Les écorces de tronc de *P. eetveldeana* ont été découpées en petits morceaux. Après 3 semaines de séchage à l'air libre, ces écorces étaient broyées à l'aide d'un mortier pour l'obtention de la poudre fine. 20 g de cette poudre des écorces et 200 mL du solvant (méthanol ou mélange éthanol-eau) ont été introduits dans un ballon de fond rond de 250 mL et le milieu a été mis à l'ultrason pendant 2 heures. Par la suite, les extraits ont été préparés à l'aide de solvants de polarité croissante (hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle, butanol et eau distillée) dans les mêmes conditions expérimentales. Les extraits obtenus ont ensuite été filtrés puis concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif afin d'obtenir les extraits secs. Cette opération a été répétée deux fois afin d'optimiser la quantité de chaque extrait. Enfin, les extraits secs ont été conservés au réfrigérateur à une température de - 18 °C.

#### D. Évaluation de la toxicité aiguë

La toxicité aiguë a été réalisée chez la souris swiss selon la méthode de l'OCDE [4]. Pour cela, les souris ont été mises à jeun pendant 4 heures et réparties en 5 lots de 3 souris chacun puis traitées par voie orale de la manière suivante :

- le lot témoin a reçu de l'eau distillée à la dose de 1 mL/100 g ;
- les lots 2 à 5 ont reçu l'extrait hydroethanolique des écorces tronc de *P. eetveldeana* aux doses respectives de 500,1000, 2000 et 5000 mg/kg.

Le comportement général des animaux a été observé à  $\frac{1}{2}$ , 1, 2, 3 et 4 heures après administration de chaque produit. La mortalité a été notée pendant 48 heures après l'administration des produits. Les souris ont été laissées en observation pendant 14 jours pour observer les constats sur l'apparition d'éventuels signes tardifs de toxicité. Ainsi, leur poids corporel a été noté tous les deux jours.

#### E. Evaluation de l'activité antioxydante

Les tests d'évaluation de cette activité ont été réalisés directement en utilisant un appareil Tecan Pro 200, plaque multipuits Tecan Trading AGlecteur (Männedorf, Suisse). Les extraits du méthanol, d'acétate d'éthyle, du butanol et d'eau distillée ont été utilisés.

##### E.1. Test antioxydant par la méthode d'inhibition le radical 2,2 diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH)

Les effets antioxydants des extraits (méthanolique, acétate d'éthyle, butanol et eau distillée) testés ont été estimés par dosage du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). En bref, 100 µL d'extrait +100 µL d'une solution méthanolique

ont été mélangés et homogénéisés avec le réactif du DPPH à 100 µL.

Les solutions obtenues ont ensuite été incubées à l'obscurité et à température ambiante pendant 15 minutes. Après la période d'incubation, les valeurs d'absorbance de ces solutions ont été mesurées à 517 nm. Toutes les expériences ont été réalisées en triple. Le pourcentage d'inhibition du DPPH, relatif à l'activité antioxydante, a été calculé à l'aide de la formule suivante :

% d'inhibition du radical DPPH =  $((Ac - As) / Ac) * 100$  ; où Ac est l'absorbance du témoin et As est celle de l'extrait [5].

E.2. Test antioxydant par la méthode de piégeage des cations La capacité de piégeage des cations par l'acide 2,2-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) a été déterminée comme décrit précédemment avec le dosage du DPPH, avec de légères modifications, selon la méthode décrite par Balli et al., 2020 [6]. La solution de cations ABTS a été préparée puis conservée 16 h à l'obscurité et à température ambiante. La solution a été diluée avec du méthanol absolu jusqu'à obtenir une absorbance à 734 nm de  $0,700 \pm 0,02$ , puis utilisée comme réactif ABTS. L'absorbance de la solution réactionnelle finale a été mesurée à 734 nm dans une plaque à 96 puits.

##### E.3. Test antioxydant par la méthode de réduction de TAC

Ce test repose sur la réduction du Mo (VI) en Mo (V) et la formation ultérieure d'un complexe Mo (V) vert à pH acide. Pour le dosage de la capacité antioxydante totale, 0,1 mL d'échantillon a été mélangé dans des tubes Eppendorf avec 1 mL de solution réactive (acide sulfurique 0,6 M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM). Les échantillons ont ensuite été incubés à 95 °C pendant 90 minutes. Une fois le mélange refroidi à température ambiante, l'absorbance de chaque solution a été mesurée à 695 nm.

La capacité antioxydante totale est exprimée en équivalents du composé standard. Toutes les expériences ont été réalisées en triple [7].

##### E.4. Test antioxydant par la méthode de réduction de la ferrozine

L'ion ferreux a été évalué par formation d'un complexe ferreux-ferrozine mesuré à 562 nm, selon une méthode adaptée en plaque 96 puits. Les échantillons ont été mélangés à du sulfate ferreux (2 mM), incubés 5 min à température ambiante, puis la réaction a été initiée par ajout de ferrozine (0,2 mM). Après 10 min, l'absorbance a été lue à 562 nm. L'EDTA a servi d'étalon et l'eau distillée de témoin. Les analyses ont été réalisées en triple [8].

##### F. Dosage des composés polyphénoliques

###### F.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur totale en polyphénols a été déterminée par spectrophotométrie à l'aide de la méthode Folin-Ciocalteu, selon la procédure décrite par Cudalbeanu, 2018 [9]. En bref, 10 µL de l'extrait ont été ajoutés à 25 µL de réactif de Folin-Ciocalteu 1 N et ce mélange a été laissé reposer pendant 5 min avant d'ajouter 25 µL de solution aqueuse de  $Na_2CO_3$  à 20 % et 140 µL de l'eau distillée, pour une incubation pendant 30 min. Dans l'échantillon témoin, le réactif de Folin-Ciocalteu a été remplacé par le méthanol. La valeur d'absorbance a été mesurée par rapport au blanc préparé à 760 nm, après 30 min à température ambiante. La teneur totale en polyphénols a été exprimée en µg d'équivalents d'acide gallique (EAG)/mL via une courbe d'étalonnage avec de l'acide gallique.

###### F.2. Dosage des flavonoïdes totaux

En bref, 130 µL de l'extrait ont été ajoutés à 10 µL de  $NaNO_2$  incubation pendant 5 min. Après cela, 10 µL d'une solution aqueuse d' $AlCl_3$  à 2 % et 50 µL de NaOH ont été ajoutés au mélange pour une incubation pendant 6 min. La valeur

d'absorbance a été lue à 415 nm. Pour l'échantillon témoin, l'extrait de *P. eetveldeana* a été remplacé par un solvant approprié. La quercétine a été utilisée comme étalon de référence, et les résultats sont exprimés en  $\mu\text{L}$  d'équivalents quercétine pour 1 g d'échantillon [6].

#### 1) G. Analyse statistique

Tous les tests ont été réalisés en triplicat pour chaque activité. Les données expérimentales sont présentées sous forme de moyenne  $\pm$  écart type des trois essais indépendants.

L'analyse de la significativité statistique des résultats a été effectuée à l'aide de Microsoft Excel et du logiciel GraphPad Prism (version 10.1). Le seuil de significativité a été fixé à  $p < 0,05$ .

### III. RÉSULTATS

#### A. Étude de la toxicité aiguë

A.1. Effet de l'extrait hydroéthanolique de *P. eetveldeana* sur le comportement général et la mortalité des souris Les résultats obtenus montrent que l'administration per os de l'extrait modifie le comportement des souris de manière dose- dépendante. Aux doses de 500 et 1000 mg/kg, aucune modification du comportement n'a été constatée chez les souris. Cependant, aux doses de 2000 et 5000 mg/kg de p.c., on note des changements de comportement qui augmentaient avec la dose. La DL50 de l'extrait de *P. eetveldeana* a été identifiée comme étant supérieure à 1000 mg/Kg de p.c.

#### A.2. Effet de l'extrait hydroéthanolique de *P. eetveldeana* sur le poids des souris

Les études ont montré que les souris traitées avec l'extrait (500 et 1000 mg/kg) présentent un gain de poids à partir du 2<sup>e</sup> jour, contrairement aux souris témoins (Figure 1).

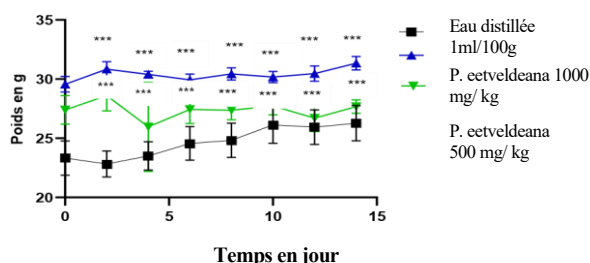


Fig.1: Effets de l'extrait hydroéthanolique du *P. eetveldeana* sur le poids des souris.

Chaque point est une moyenne  $\pm$  ESM,  $n = 3$  ; \*\*\* $p < 0,001$  différence significative par rapport aux témoins (eau distillée).

#### B. Évaluation de l'activité antioxydante

Différents extraits de *P. eetveldeana* à la concentration de 5 mg/mL ont été utilisés pour évaluer l'activité antioxydante, par différents tests.

Pour le test au DPPH, l'extrait méthanolique a montré la plus forte activité inhibitrice du DPPH, suivi par l'extrait à l'acétate d'éthyle.

L'activité antioxydante des extraits a été également étudiée grâce au test de piégeage des radicaux ABTS. Les meilleures activités de piégeage des radicaux lors des tests ABTS ont été observées pour les extraits aqueux.

L'évaluation de la capacité de chélation du fer par les extraits de *P. eetveldeana* a révélé aussi que l'extrait aqueux présentait la plus forte activité.

#### C. Détermination des teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux

La teneur totale en polyphénols des extraits présentait des variations notables. Les teneurs les plus élevées ont été observées dans les extraits butanolique et méthanolique, comparativement aux autres extraits. Par contre les concentrations les plus élevées en flavonoïdes ont été observées dans les extraits méthanolique et aqueux ( $\text{H}_2\text{O}$ ).

### CONCLUSION

Dans cette étude, nous mettons en évidence l'innocuité et le potentiel antioxydant de *P. eetveldeana*. L'extrait hydroéthanolique de cette plante présente une faible toxicité dose-dépendante, avec une  $\text{DL}_{50}$  supérieure à 1000 mg/kg. L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée à partir de différents extraits de *P. eetveldeana* (méthanolique, acétate d'éthyle, butanolique et aqueux) en utilisant plusieurs tests, notamment DPPH, ABTS, TAC et Ferrozine. Parmi ces extraits, l'extrait méthanolique a montré l'une des capacités antioxydantes totales les plus élevées. Il est bien établi que la présence de composés phénoliques et de flavonoïdes confère aux plantes un fort pouvoir antioxydant, ce que confirment nos résultats. Cette étude préliminaire met ainsi en lumière le potentiel prometteur des extraits de *P. eetveldeana* en tant que plante médicinale pour le traitement de diverses pathologies.

### REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à exprimer leur profonde gratitude à l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) pour son précieux soutien, accordé dans le cadre de la bourse Eugen IONESCU 2025, qui a contribué de manière significative à la réalisation de ces travaux.

### RÉFÉRENCES

- [1] Moyo M, Aremu AO, Van Staden J. Aperçu de l'application multiforme des techniques microscopiques aux systèmes de culture de tissus végétaux. *Planta*. 2015 oct.; 242(4) : 773-90. doi : 10.1007/s00425015-2359-4. Publication en ligne du 11 juil. 2015. PMID: 26162927.
- [2] Oyeleke G., Oredeji J., Isola A., Affolai O. (2014). Criblage phytochimique et évaluation nutritionnelle des graines de haricot oléagineux. *Journal de Sciences de l'environnement, toxicologie et technologie alimentaire Pentaclethra* macrophylla <https://doi.org/10.9790/240208221417>
- [3] Bouquet A. (1969). Fétiches et médecines traditionnelles du Congo (Brazzaville). Orstom éditions. <https://core.ac.uk/download/pdf/39887867>.
- [4] OCDE. Toxicité orale aiguë, Méthode par classe de toxicité aiguë. Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, OCDE, 423, (2001), 14 p.
- [5] Saleem, A.; Saleem, M.; Akhtar, M.F. Antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic potential of *Moringa oleifera* Lam: An ethnomedicinal plant of Moringaceae family. *S. Afr. J. Bot.* 2020, 128, 246–256. [CrossRef]
- [6] Balli, D.; Cecchi, L.; Khatib, M.; Bellumori, M.; Cairone, F.; Carradori, S.; Zengin, G.; Cesa, S.; Innocenti, M.; Mulinacci, N. Characterization of Arils Juice and Peel Decoction of Fifteen Varieties of *Punica granatum* L.: A Focus on Anthocyanins, Ellagitannins and Polysaccharides. *Antioxidants* 2020, 9, 238. [CrossRef]
- [7] Govindarajan, R.; Rastogi, S.; Vijayakumar, M.; Shirwaikar, A.; Rawat, A.K.S.; Mehrotra, S.; Pushpangadan, P. Studies on the antioxidant activities of *Desmodium gangeticum*. *Biol. Pharm. Bull.* 2003, 26, 1424–1427. [CrossRef]
- [8] Adjimani, J.P.; Asare, P. Antioxidant and free radical scavenging activity of iron chelators. *Toxicol. Rep.* 2015, 2, 721–728. [CrossRef]
- [9] Cudalbeanu M, Ghinea IO, Furdul B, Dah-Nouvlessounon D, Raclea R, Costache T, Cuculea IE, Urlan F, Dinica RM. Exploring New Antioxidant and Mineral Compounds from *Nymphaea alba* Wild Grown in Danube Delta Biosphere. *Molecules*. 2018 May 23;23(6):1247. doi: 10.3390/molecules23061247. PMID: 29882880; PMCID: PMC6100350.
- [10] Al-Jaber, N.A.; Awaad, A.S.; Moses, J.E. Review on some antioxidant plants growing in Arab world. *J. Saudi Chem. Soc.* 2011, 15, 293–307. [CrossRef]