

Caractérisation phytochimique et activité antiradicalaire des feuilles de *Luffa cylindrica* (L.) M.J. Roem : plante utilisée pour le traitement du diabète de type 2 au Bénin.

VIGNINOU Nonvignon Hugues¹., ASSONGBA Yédjanlognon Faustin^{1,3,*}, ASSANHOU A. Gabin², KASSEHUIN C. Urbain²., DJEGO M. G. Julien³., GBAGUIDI A. Fernand².

¹Laboratoire de Recherche en Biotechnologies Médicales et Pharmaceutiques (LaRBiMeP), Ecole Nationale des Biosciences et Biotechnologies Appliquées (ENSBB)/ Université Nationale des Sciences, Technologies, Ingénierie et Mathématiques (UNSSIM).

²Laboratoire des Chimie Pharmaceutique Organique, Ecole de Pharmacie, Faculté des Sciences de la Santé, Université d'Abomey-Calavi (UAC).

³Laboratoire d'Ecologie Appliquée, Faculté des Sciences Agronomiques (FSA), UAC.

Date de réception : 13 Juin 2023; Date de révision : 01 Août 2023; Date d'acceptation : 01 Décembre 2023

Résumé:

L'objectif de cette recherche était de contribuer à la valorisation de la plante médicinale *Luffa cylindrica* (L.) M.J. Roem de la famille cucurbitaceae utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement du diabète de type 2 au Bénin. Un extrait hydro éthanolique et un extrait aqueux ont été réalisés. La caractérisation phytochimique de ces extraits a pris appui sur des méthodes classiques. Les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins ont été dosés. L'activité antiradicalaire est réalisée à partir du test du DPPH. Le résultat du screening phytochimique a révélé la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de tanins galliques, d'anthocyanes et de sucres réducteurs. La concentration des polyphénols de l'extrait hydro éthanolique et de l'extrait aqueux sont respectivement 0,09 mg/ml et 0,1mg/ml. La concentration des flavonoïdes dans les deux extraits sont de 0,03mg/ml pour l'extrait hydro éthanolique et 0,01mg/ml pour l'extrait aqueux. S'agissant de la concentration des tanins, elles sont de 0,1mg/ml pour l'extrait hydro éthanolique et 0,08mg/ml pour l'extrait aqueux. L'activité antioxydante réalisée à l'aide du test de DPPH présente une CI50 de 85,33µg/ml de l'extrait hydro éthanolique. Cette CI50 obtenue de l'extrait hydro éthanolique évoque une activité antiradicalaire significative.

Mots clés : *Luffa cylindrica*, phytochimie, activité antiradicalaire.

Phytochemical characterisation and antiradical activity of *Luffa cylindrica* (L.) M.J. Roem leaves: a plant used to treat type 2 diabetes in Benin

Abstract :

The aim of this research was to contribute to the development of the medicinal plant *Luffa cylindrica* (L.) M.J. Roem from the cucurbitaceae family, used in traditional medicine for the treatment of type 2 diabetes in Benin. A hydroethanolic extract and an aqueous extract were produced. The phytochemical characterisation of these extracts was based on conventional methods. Polyphenols, flavonoids and tannins were measured. The DPPH test was used to determine free radical scavenging activity. The results of the phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, flavonoids, gall tannins, anthocyanins and reducing sugars. The concentration of polyphenols in the hydroethanolic extract and aqueous extract were 0.09mg/ml and 0.1mg/ml respectively. The concentration of flavonoids in both extracts was 0.03mg/ml for the hydroethanolic extract and 0.01mg/ml for the aqueous extract. The concentration of tannins was 0.1mg/ml for the hydroethanolic extract and 0.08mg/ml for the aqueous extract. Antioxidant activity using the DPPH test showed an IC50 of 85.33µg/ml for the hydroethanolic extract. This IC50 obtained from the hydroethanolic extract suggests significant antiradical activity.

Keywords : *Luffa cylindrica*, phytochemistry, antiradical activity.

Introduction

Le diabète est une maladie chronique qui survient lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou lorsque l'organisme n'arrive plus à utiliser correctement l'insuline qu'il produit ce qui entraîne une hyperglycémie (OMS, 2021 ; Aboh., 2017). Cette hyperglycémie est associée à des degrés divers et par des mécanismes encore mal connus, au développement de complications micro vasculaires et à une augmentation du risque cardiovasculaire (Monnier, 2019 ; Niamassoumou, 2020). Il existe deux types de diabète : le diabète de type 1 et le diabète de type

2. Le diabète de type 1 se distingue par une production insuffisante d'insuline et est diagnostiqué particulièrement chez les enfants et les adolescents. Ses causes peuvent être dues à une prédisposition génétique et aussi certains facteurs liés à l'environnement. Le diabète de type 2 qui représente la majorité des cas de diabète rencontré dans le monde résulte d'une utilisation inefficace par l'organisme de l'insuline qu'il produit et est diagnostiqué principalement chez les adultes. Mais, on observe depuis quelques temps une augmentation du nombre de

(*) Correspondance : Assongba Y.F. ; e-mail : yedjanlognon@gmail.com; tél. : (+229) 95673397.

cas chez les enfants. Les causes peuvent être dues à une surcharge pondérale et le manque d'activité physique (PEu, 2021). Le diabète est une pathologie complexe par ses mécanismes physiopathologiques et la genèse de plusieurs complications de l'angiopathie qui sont fréquentes et chroniques (Picard et al., 2017 ; Bouabid, 2020).

Le nombre de personnes atteintes du diabète de type 2 augmente dans le monde et ceci s'explique en partie par l'augmentation de l'obésité et de la sédentarité presque totale des personnes tout au long de la journée (OMS, 2016). En 2019, selon la Fédération Internationale du Diabète (FID, 2019), le nombre d'adultes diabétiques avoisinait 463 millions dans le monde.

Au Bénin, les études ont montré que la prévalence du diabète de type 2 augmente ces dernières années. En 2010, cette prévalence était estimée à 3% (Mbanya et al., 2010 ; Fagbémi et al., 2017). Deux (2) ans plus tard, elle avoisinait 4,2% (Djrolo et al., 2012 ; Fagbémi et al., 2017).

Le stress oxydatif est impliqué dans le développement de complications micro et macrovasculaires du diabète (Bouabid, 2020). Aussi, les diabétiques ont une protection antioxydante déficiente qui augmente leur fragilité aux dommages oxydatifs et favorise le développement des complications diabétiques (Bouabid, 2020).

Cependant, le coût élevé des traitements conventionnels du diabète pour les populations est un facteur qui stimule l'engouement de ces dernières vers les produits de la médecine traditionnelle (Agban et al., 2013 ; Dieng et al., 2017).

En effet, l'utilisation du phytomédicament occupe une place de choix dans le système de santé en Afrique (Vitry, 2019). De ce fait, la recherche sur les plantes médicinales a gagné une grande importance au cours des dernières décennies notamment le traitement du diabète par les plantes (Grover et al., 2002 ; Mrabti, 2018). Bien que certaines de ces plantes aient une grande réputation dans la médecine traditionnelle, beaucoup restent à démontrer scientifiquement (Kolling et al., 2010 ; Mrabti, 2018). A cet effet, une étude scientifique des phytomédicaments utilisés pour le traitement de diabète peut fournir de précieuses pistes pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés et de stratégies alternatives (Pan et al., 2013 ; Mrabti, 2018).

Au Bénin, plusieurs plantes sont utilisées dans le traitement en médecine traditionnelle du diabète

de type 2 dont *Luffa cylindrica* et plusieurs autres plantes. *Luffa cylindrica* a été choisi pour cette étude car selon l'étude ethnobotanique sur les plantes médicinales réalisée par Assongba et al. (2021), cette plante est citée dans le traitement le diabète, une pathologie qui prend une part prépondérante sur la santé humaine. L'utilisation des plantes pour se soigner est une question de culture et de tradition. Il est à noter que pour les besoins de santé, une frange de la population béninoise a recours à la médecine traditionnelle, dont les remèdes sont essentiellement à base de plantes. Le diabète est aussi pris en charge en médecine traditionnelle d'où la nécessité d'étudier la phytochimie de *Luffa cylindrica*, une plante utilisée par les phytothérapeutes dans le traitement du diabète. Les travaux de Chaurasia et al (2011) et de Kazeem et al (2021) ont montré que l'extrait alcoolique et aqueux des feuilles de *Luffa cylindrica* a une activité antidiabétique chez les rats rendus diabétiques.

Selon la littérature, la plante *Luffa cylindrica* était étudiée par plusieurs auteurs pour ses activités entrant dans le traitement de diverses actions pathologiques : effet oxydatif, anti-inflammatoire (Abirami et al., 2011 ; Kao et al., 2012 ; Dubey et al., 2015). Ces travaux retrouvés dans la littérature ont été réalisés dans différents pays. En 2011 Abirami et ses collaborateurs de l'institut de l'université Annamalai Nagar ont étudié l'espèce sur son aspect pharmacologique. Un an plus tard plus précisément en 2012 Kao et ses collaborateurs du département de la science et de l'alimentation de l'université Taipei Taiwan ont aussi mené des études sur *Luffa cylindrica*. Dubey et ses collaborateurs en 2015 du département de pharmacologie, de l'institut de pharmacie, l'université Uttar Pradesh, de l'India, ont abordé l'effet de l'extrait du fruit de *Luffa cylindrica* sur les marqueurs du stress oxydatif dans la cataracte induite par le peroxyde d'hydrogène.

Cependant aucune étude n'a été faite sur *Luffa cylindrica* au Bénin. Sachant que les activités d'une plante, ainsi que ses composants phytochimiques, varient sensiblement selon la région géographique, notre étude s'est portée sur *Luffa cylindrica* qui pousse au Bénin.

L'objectif général de cette étude est de réaliser un screening phytochimique. De façon, spécifique, déterminer les différents groupes de métabolites secondaires, de quantifier leur concentration et prouver enfin l'activité antiradicalaire de *Luffa cylindrica*.

Matériel et Méthodes

1. Matériel biologique

- Plant material:

Les feuilles de *Luffa cylindrica* (photo 1) ont été récoltées au centre du Bénin précisément à Bohicon.

Ensuite, les feuilles sont séchées à une température de 20°C à 25°C et broyées (photo 2 et 3).



Photo 1: *Luffa cylindrica* (Vigninou, 2022)



Photo 2 : Feuilles séchées de *Luffa cylindrica*



Photo 3 : Poudre des feuilles de *Luffa cylindrica*

- Description de la plante :

Luffa cylindrica appelé en français « éponge végétal », au Bénin, on appelle en Fon « Assangokan, Yovotékan », en Nago « erun, kanrinkan », en Yoruba « kankan-ayaba ». Cette espèce végétale est une plante annuelle rampante constituée des fleurs jaunes (photo 1) et des graines de couleurs noires.

2.Méthodologie

Le screening phytochimique est réalisé sur les deux types d'extrait (aqueux et l'hydro éthanolique. A cet effet, la méthode de Houghton et Ramann. (1998), modifié par Houngbèmè et al., (2014) basée sur les réactions (de coloration et / ou de précipitation) a été appliquée pour l'identification de Alcaloïdes, Tanins, Flavonoïdes, Anthocyanes, Dérivés quinoniques, Saponosides, Triterpénoïdes, Stéroïdes, Composés réducteurs, Hétérosides cardiotoniques.

2.1. Recherche des alcaloïdes (Test de 24h) :

- Test en milieu basique

On met 5 g de la poudre dans 5 mL d'ammoniaque dilué au demi. A ce mélange, on ajoute 25 mL d'éther chloroformique et on laisse macérer pendant 24 h dans un flacon bouché. Le filtrat est séché sur du sulfate sodique anhydre et ensuite épuisé avec 5 mL d'acide chlorhydrique à 5% deux fois de suite. Au filtrat, on ajoute 5 gouttes de réactif de MAYER. En cas de présence d'alcaloïde, un précipité est observé.

2.2. Recherche des composés poly phénoliques (Tanins, Flavonoïdes et Anthocyanes):

Dans un erlenmeyer, on met 2,5 g de la poudre auxquels on ajoute 50 mL d'eau bouillante. Le mélange infusé est laissé 15 min sous agitation continue, puis filtré. Ce filtrat réparti en 4 portions servira aux recherches ci-après :

a-Recherche des tanins

A la première portion du filtrat, on ajoute quelques gouttes de chlorure ferrique à 1%. L'observation d'une coloration bleu-foncée, verte ou noire indique la présence des tanins.

- Recherche des tanins catéchiques:

A 30mL de la seconde portion, on ajoute 15mL de réactif de STIASNY et chauffons le mélange au bain-marie à 90 °C pendant 15 min. L'apparition d'un précipité rose indique la présence des tanins catéchiques.

- Recherche des tanins galliques

Après récupération du filtrat précédant, celui-ci a été saturé d'acétate sodique additionné de quelques gouttes de chlorure ferrique à 1%. L'observation d'une teinte bleue ou noire indique la présence de tanins galliques.

b- Recherche des flavonoïdes

A 5 mL de la troisième portion, on ajoute 5 mL d'alcool chlorhydrique (réactif de SHINODA) et une pincée de poudre de magnésium : c'est la réaction de la Cyanidine, dite réaction de SHINODA. L'apparition d'une coloration

orangée (flavones), rouge (flavonols) ou violette (flavonones) indique la présence de flavonoïdes.

c-Recherche des anthocyanes

On additionne quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 5% à 1mL de la quatrième portion du filtrat. Ce mélange est ensuite alcalinisé par ajout de quelques gouttes d'ammoniaque dilué au demi. L'observation d'une coloration rouge qui s'accroît et qui vire au bleu-violet ou verdâtre indique la présence d'anthocyane.

2.3. Recherche des dérivés quinoniques (Test de 24h):

Dans un erlenmeyer, on a nous mélangé 2mL d'HCl à 5 % et 2 g de la poudre. A ce mélange, on ajoute 20 mL de chloroforme et on laisse en agitation continue le mélange pendant 24 heures. Après macération, on ajoute au produit obtenu 5 ml d'ammoniaque au mélange précédent : c'est la réaction de BORN-TRAGER. L'observation de la coloration rose ou rouge violacée indique une réaction positive.

2.4. Recherche des saponosides :

Ils sont mis en évidence par l'indice de mousse (IM) qui est fourni par le degré de dilution d'un décocté aqueux de la drogue qui, dans des conditions déterminées, donne une mousse persistante.

Le décocté de 1 g de poudre est préparé pendant 30 min dans 100mL d'eau distillée avec une ébullition modérée. Le filtrat refroidi puis ajusté à 100ml est réparti dans 10 tubes à essais (hauteur 16 cm x 16 mm de diamètre) en série arithmétique de raison 1/10ème de concentration du décocté (successivement 1, 2, 3..., 10 mL de décocté). Après ajustement du volume de chaque tube à 10 mL avec de l'eau distillée on agite 30 fois dans le sens de la longueur pendant 15 secondes (deux agitations par seconde, après l'avoir bouché avec le pouce), le tube est laissé au repos pendant 15 min. La hauteur de la mousse est mesurée. Si elle est supérieure ou égale à 1cm dans l'un des tubes, la dilution dans ce tube est l'indice de mousse cherché. Elle peut se calculer suivant la formule :

$$IM = 1000/N^{\circ} \text{ de tube.}$$

Si l'indice est inférieur à 100 (négligeable).

2.5. Recherche de triterpénoïdes et de stéroïdes :

Pour cette recherche, nous ajoutons à 1 g de la poudre, 10mL d'alcool éthylique à 70 °C et nous agitions pendant 30 min. A ce mélange, nous ajoutons 10ml d'eau distillée puis 2mL d'acétate de plomb à 10% à volume égal V/V. Après 15 min de repos, nous ajoutons au filtrat 2mL de solution aqueuse de phosphate disodique à 10%.

Après 15 min de repos, le filtrat est recueilli dans une ampoule à décanter et extrait à trois reprises avec 5mL de chloroforme (CHCl₃). Les solutions chloroformiques sont séchées sur du sulfate de sodium anhydre puis divisées en trois portions et évaporées à siccité (bain-marie).

a- Recherche de triterpénoïdes

La première portion est solubilisée par quelques gouttes d'acide acétique. Au mélange obtenu, nous ajoutons 3mL d'un mélange (v/v) d'anhydride acétique-acide sulfurique. La phase chloroformique se colore en rose puis vire au pourpre.

b- Recherche de stéroïdes

A la deuxième portion, nous ajoutons 2 gouttes d'une solution alcoolique à 2% d'acide dinitrobenzoïque et 2 gouttes d'hydroxyde de sodium à 1N. L'apparition d'une coloration rouge pourpre ou rouge au vin indique la présence de stéroïdes. C'est la réaction de KEDDE (également pour les cardénolides).

2.6. Recherche des composés réducteurs:

Le décocté à 10 % est obtenu par ébullition modérée pendant 3 min d'un mélange de 50mL d'eau distillée et de 5g de la poudre. Après refroidissement, le filtrat est ajusté à 50mL avec de l'eau distillée. 5mL de filtrat sont introduits dans un tube à essai. Après le chauffage au bain-marie à 90 °C pendant quelques minutes, on ajoute 1mL de réactif de Fehling (liqueur de Fehling A + liqueur de Fehling B à volume égal). On réchauffe le filtrat quelques minutes après. L'observation d'un précipité rouge vif indique la présence de composés réducteurs.

2.7. Hétérosides cardiotoniques

On prépare un extrait à partir de 1g de poudre et 10 ml d'éthanol à 60° alcoolique et 5ml d'une solution d'acétate neutre de plomb à 10%. Porter au bain-marie pendant 10 minutes et filtrer.

Extraire au chloroforme et partager la phase organique entre trois tubes à essai, évaporer à sec et reprendre avec l'isopropanol. Introduit ensuite dans le tube n°1 le réactif de Baljet ; dans le tube n°2 le réactif de Kedde et dans le tube n°3 le réactif de Raymond-Marthoud. Introduire enfin dans chaque tube 5 gouttes de KOH à 5% dans l'alcool. La présence de cardénolides se traduit par une coloration orange dans le tube n°1 ; rouge violacée dans le tube n°2 et violet fugace dans le tube n°3.

2.8. Méthode d'extraction aqueux et hydro éthanolique

Selon la méthode d'Assanhou et al. (2022).

Cette méthode consiste à mélanger 50g de la poudre dans 500ml de solvants. Ensuite le

mélange obtenu est macéré pendant 48 heures à l'aide de l'agitateur rotatif. Après 48h de macération, le mélange est filtré pour l'obtention d'un extrait qui sera consacré à l'étude à une température de 25°C.

2.9. Dosages phytochimiques de l'extrait aqueux et de l'extrait hydro éthanolique des feuilles de *Luffa cylindrica*

a-Dosage des polyphénols totaux :

La méthode utilisée ici est celle décrite par Yizhong et al. (2004) ; Macheix et al. (2005) et utilisée par Bocco et al. (2017). Cela consiste à préparer séparément dans des tubes à hémolyse des solutions constituées de blanc réactif d'étalon (acide gallique) et d'échantillon à doser. A 20µl d'eau distillé, on ajoute 1ml de chromogène constitué de réactif de Folin-ciocalteu c'est le blanc réactif.

A 20µl d'étalon (acide gallique), on ajoute 1 mL de chromogène : c'est la solution étalon.

A 20 µl d'échantillon (extrait végétal méthanoïque à 1mg/mL, on ajoute 1ml du chromogène : c'est l'échantillon.

Ensuite, chaque solution est agitée à l'aide d'un vortex puis après 1 minute de repos, on complète à chaque solution 0,5 ml du tampon carbonate de sodium (7,5%) et on agite à une seconde fois au vortex. Après 30 minutes environ d'incubation à température ambiante, l'absorbance des solutions d'échantillons et celle des standards (étalon) sont mesurés à 760 nm et 620 nm par rapport à la solution d'eau distillée représentant le blanc réactif.

b-Dosage des flavonoïdes

Méthode de Hariri et al. (1991) et utilisée par Bocco et al. (2017).

On dispose d'une solution mère d'étalon (quercétine 0,1mg/ml) à partir de laquelle on réalise des dilutions successives (0,001 à 0,03mg/ml) et d'une solution d'échantillon à doser (0,005 /µl) préparer à partir de Méthanol 80%. A 2ml de la solution d'extrait et des standards, on ajoute 100µl du réactif de NEU (2-amino éthyl diphenyl borate). Après agitation au vortex, l'absorbance est mesurée à 450nm. Chaque expérience est répétée 3fois

c-Dosage des tanins

Méthode décrit par Yizhong et al. (2004) ; Macheix et al. (2005) et utilisée par Bocco et al. (2017) est utilisée.

3. Résultats

3.1. Screening phytochimique

Les résultats du screening phytochimique sont résumés dans le tableau I.

On prépare séparément dans les tubes à hémolyse des solutions constituées de blanc réactif d'étalon (acide gallique) et d'échantillon à doser. A 20µl d'eau distillé, on ajoute 1ml de chromogène constitué de réactif de Folin-ciocalteu c'est le blanc réactif. A 20µl d'étalon (acide tannique), on ajoute 1ml de chromogène : c'est la solution étalon. A 20µl d'échantillon (extrait végétal méthanoïque à 1mg/ml, on ajoute 1ml du chromogène : C'est l'échantillon. Ensuite, chaque solution est agitée à l'aide d'un vortex puis après 1 minute de repos, on complète à chaque solution 0,5ml du tampon carbonate de sodium (7,5%) et on agite à une seconde fois au vortex. Après 30 minutes environ d'incubation à température ambiante, l'absorbance des solutions d'échantillons et celle des standards (étalon) sont mesurés à 760nm et 620nm par rapport à la solution d'eau distillée représentant le blanc réactif.

2.10. Activité antioxydante de l'extrait aqueux et hydro éthanolique des feuilles de *Luffa cylindrica*

- Test DPPH

La détermination de l'activité antiradicalaire par le test de DPPH est effectuée en utilisant la méthode décrite par Molyneux. (2003) ; Dieng et al. (2017) et Salhi Najoua (2020) légèrement modifiée.

Une solution éthanolique de DPPH a été préparée en dissolvant 4mg de ce produit dans 100 mL d'éthanol. Ensuite, à 50µL d'extrait à une concentration donnée sont ajoutés 950µl de la solution DPPH. Les extraits ainsi que la référence (acide ascorbique) sont testés à différentes concentrations (250 - 125 - 62,5 - 31,25 - 15,62 - 7,81 µg/ml) ; puis les absorbances sont mesurées à 517 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité.

Trois essais sont effectués pour chaque concentration de produit testé. L'activité antioxydant liée à l'effet de piégeage du radical DPPH est exprimée en pourcentage d'inhibition (PI) à l'aide de la formule suivante :

$$PI = 100(A_0 - A_1) / A_0 ;$$

A₀ : absorbance DPPH ;

A₁ : absorbance échantillon.

La CI50 (concentration de l'échantillon nécessaire pour neutraliser 50 % des radicaux libres) sera obtenu en posant y=50.

3.2. Rendement d'extraction

Les rendements de l'extrait aqueux et hydro éthanolique sont présentés dans le tableau II.

Tableau I : Screening phytochimique des extraits

Métabolites secondaires	Résultats
Alcaloïdes	+
Tanins galliques	+
Flavonoïdes	+
Anthocyanes	+
Dérivés quinoniques	-
Saponosides	-
Triterpénoïdes	-
Stéroïdes	-
Composés réducteurs	+
Hétérosides cardiotoniques	-

Légende : Présence (+) ; Absence (-)

Tableau II : Rendements d'extraction des feuilles de *Luffa cylindrica*

Types d'extraits	Masse de la poudre des feuilles (g)	Extrait sec obtenu (g)	Rendements (%)
Extrait aqueux	100	14,8	14,8
Extrait hydroéthanolique	150	19,83	13,22

3.3. Dosage des polyphénols totaux :

La quantification des concentrations polyphénoliques des extraits aqueux et des extraits hydroéthanoliques des feuilles de *Luffa cylindrica* est déterminée à partir de la courbe de l'acide gallique. A cet effet, la méthode appliquée est celle décrite par Yizhong et al. (2004) ; Macheix et al. (2005) et utilisée par Bocco et al. (2017).

La figure 1 ci-après nous montre la courbe de l'acide gallique (standard).

La droite de régression $y = 0,07076x + 0,6644$; $R^2 = 0,9772$, nous a permis de déterminer les teneurs des polyphénols totaux de l'extrait aqueux et de l'extrait hydro éthanolique des feuilles de *Luffa cylindrica*. La valeur de l'extrait hydro éthanolique est de 0,09mg/ml pour les polyphénols totaux. Celle de l'extrait aqueux est de 0,1mg/ml.

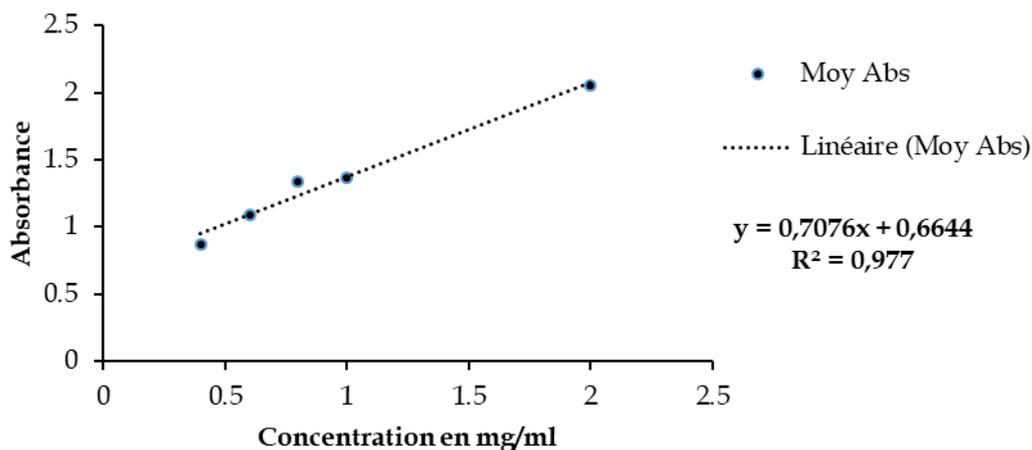


Figure 1 : Absorbance de l'acide gallique en fonction de la concentration (standard)

3.4. Dosage des flavonoïdes

Méthode de Hariri et al. (1991) et utilisée par Bocco et al. (2017).

Les concentrations de l'extrait aqueux et hydro éthanolique ont été déterminées à partir de la courbe de la quercétine utilisé comme standard.

La figure 2 ci-après nous montre la courbe standard de la quercétine.

La droite $y = 9,5131x + 0,1569$; $R^2 = 0,9741$ a permis de déterminer les teneurs de l'extrait aqueux et de l'extrait hydro éthanolique des feuilles de *Luffa cylindrica*.

La concentration en teneur des flavonoïdes (figure 3) de l'extrait hydro éthanolique est de 0,03mg/mL, concentration supérieure à celle de

l'extrait aqueux (0,01mg/mL) des feuilles de *Luffa cylindrica*.

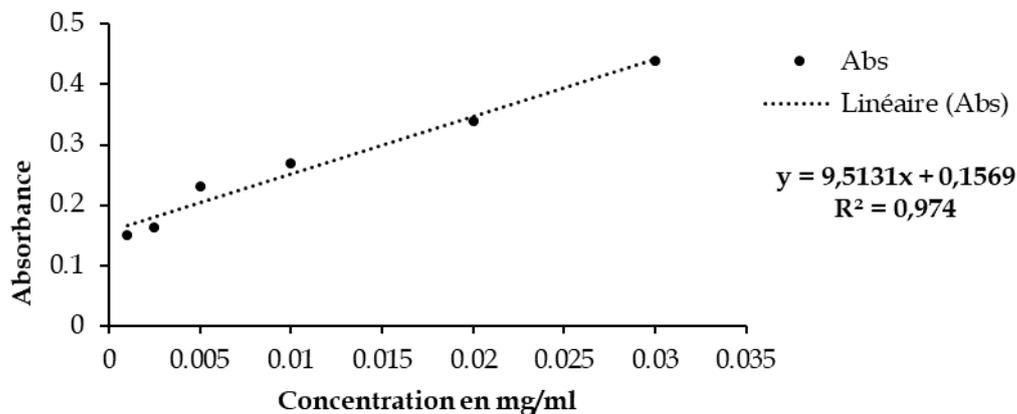


Figure 2 : Absorbance de la quercétine en fonction de la concentration (standard)

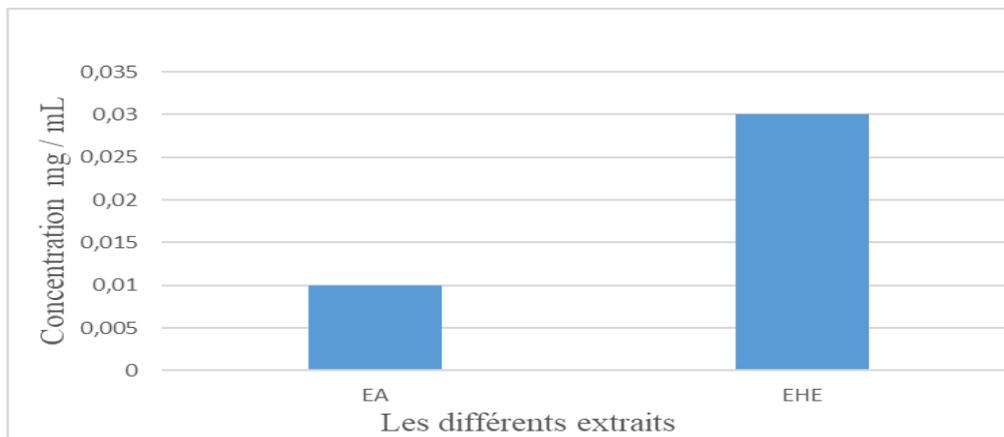


Figure 3 : Teneurs des flavonoïdes en mg/ml

3.5. Dosage des tanins

La méthode décrit par Yizhong et al. (2004) ; Macheix et al. (2005) et utilisée par Bocco et al. (2017) est utilisée dont le standard est l'acide tannique (figure 4). La droite de régression de l'acide tannique nous a permis de déterminer les

teneurs des tanins de l'extrait aqueux et hydroéthanoliques des feuilles de *Luffa cylindrica*. La figure ci-après montre les absorbances de l'acide tannique en fonction de leurs concentrations (figure 5).

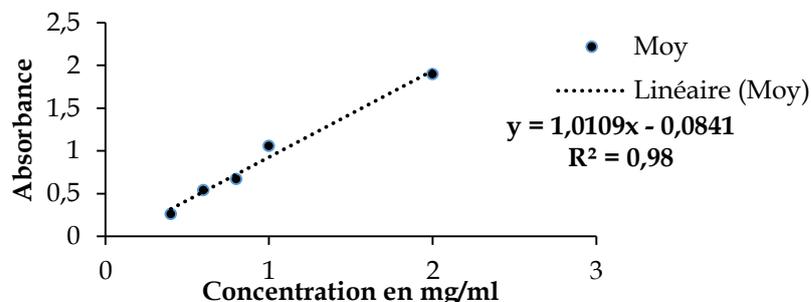


Figure 4 : Absorbances de l'acide tannique en fonction de leurs concentrations (standard)

La droite $y=1,0109x-0,0841$; $R^2=0,9842$ a permis de déterminer les teneurs de l'extrait aqueux et

de l'extrait hydro éthanolique des feuilles de *Luffa cylindrica* dans la figure suivante.

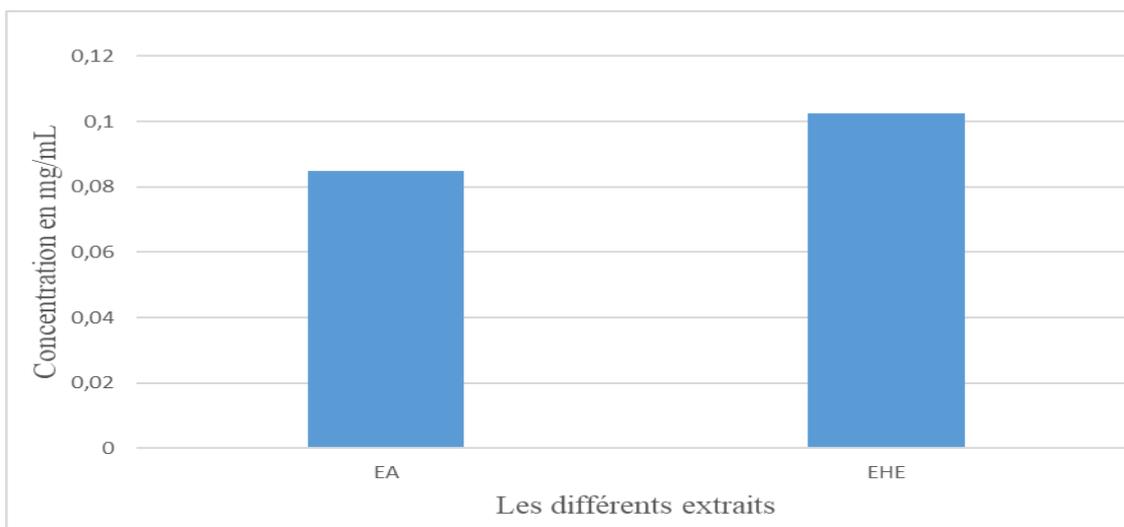


Figure 5 : Teneurs en tanins (mg/mL)

3.6. Activité antiradicalaire de l'extrait hydro éthanolique des feuilles de *Luffa cylindrica*

Cette activité est réalisée en utilisant la méthode décrite par Molyneux. (2003) légèrement modifié par Dieng et al. (2017) dont l'objectif est de piéger les radicaux libres à l'aide du DPPH à partir de

l'extrait hydro éthanolique. L'acide ascorbique est le standard utilisé (figure 6).

La CI50 (concentration de l'échantillon nécessaire pour neutraliser 50 % des radicaux libres) sera obtenu en posant $y= 50$.

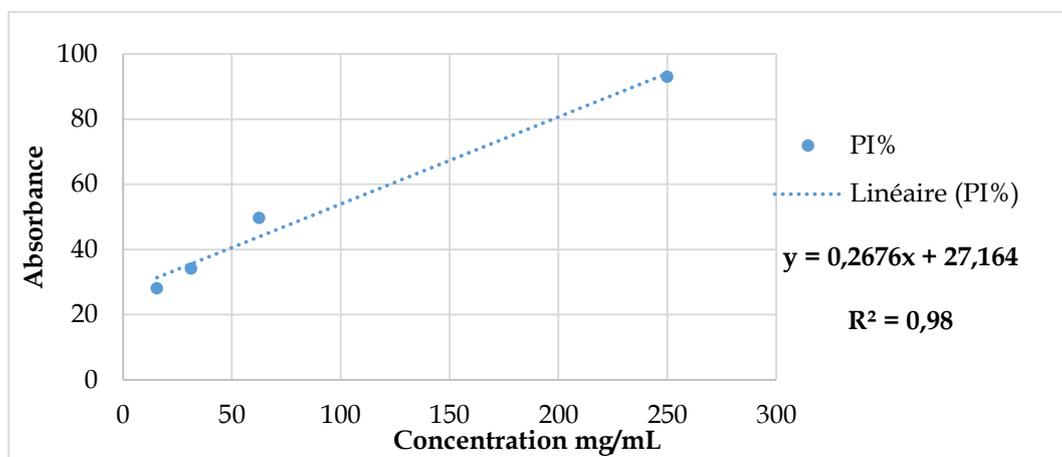


Figure 6 : Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique (standard)

On constate que le PI de l'acide ascorbique est dépendant de la concentration.

La droite $y=0,2676x+27,164$; $R^2=0,9816$ a permis de déterminer la CI50 de l'acide ascorbique qui est de 85,33µg/mL.

La courbe suivante (figure 7) présente le pourcentage d'inhibition de l'extrait hydro éthanolique des feuilles de *Luffa cylindrica* en

fonction de leurs concentrations. On constate que le Pourcentage d'inhibition (PI) est proportionnel à la concentration.

La droite $y= 0,2803x + 25,336$ a permis de déterminer la CI50 qui est de 88µg/ml.

En conséquence, la CI50 de l'extrait hydro éthanolique est plus proche du standard qui est de 85,33 µg/ml.

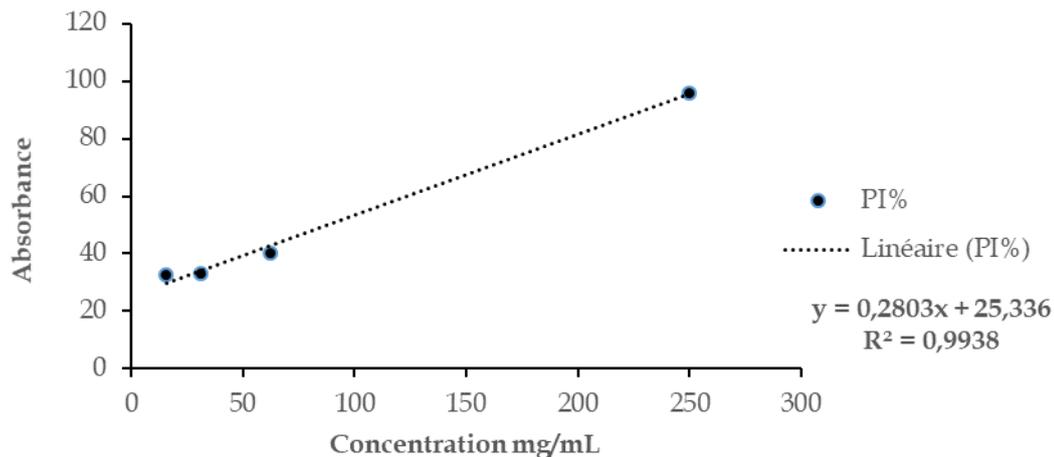


Figure 7 : Pourcentage d’inhibition de l’extrait hydro éthanolique.

4. Discussion

Les plantes médicinales sont connues au Bénin et très appréciées par la population de leur part leur richesse en composés thérapeutiques. Elles sont très appréciées car elles constituent une riche source thérapeutique pour la prévention des maladies et des affections. La nature a doté le Bénin d'une énorme richesse en plantes médicinales. Les plantes médicinales, en tant que sources d'aides thérapeutiques, elles jouent un important rôle dans les systèmes de santé (Assongba et al., 2021).

Le matériel biologique végétal de la présente étude sont les feuilles de *Luffa cylindrica*. De cette drogue est réalisé l'extraction aqueux et hydro éthanolique. Le screening phytochimique des feuilles de *Luffa cylindrica* révèle la présence des alcaloïdes, des tanins galliques, des flavonoïdes, des anthocyanes et des sucres réducteurs. Ces résultats corroborent ceux des auteurs Balakrishnan et Alka (2013) ; Kazeem et al. (2021) ; Erna et Dhigna (2021) qui ont prouvé la présence des métabolites secondaires citées ci haut dans les feuilles de *Luffa cylindrica* voire même dans ses fruits. De ce fait, l'importance des plantes dans le traitement des pathologies est avérée. Cette importance des plantes dans le traitement de certaines pathologies est confirmée par les travaux de Preethi (2013).

Dans les différentes extractions obtenues par macération, le rendement de l'extrait aqueux est de 14,8% et celui de l'extrait hydro éthanolique est de 13,22%. Le rendement de l'extrait aqueux est semblable à celui obtenu par certains auteurs et leurs collaborateurs Balakrishnan et Alka, (2013) et Abigail et Metuaghan, (2019) dont les valeurs trouvées dans leurs études sont respectivement de 14,3% et 13,35%. Mais en ce

qui concerne l'extrait hydro éthanolique, on note une différence entre les valeurs de notre étude et celle des auteurs Chaurasia et ses collaborateurs (2011) et Balakrishnan et Alka, (2013) dont le rendement de l'extrait éthanolique est de 17,17% et 9,8% respectivement. La variation des valeurs pourrait s'expliquer par la méthode d'extraction, par les sites de récoltes des feuilles de *Luffa cylindrica* et de la saison de collecte de la drogue entre autres. La faible concentration des polyphénols totaux dans l'extrait aqueux peut s'expliquer par le fait que le contenu phénolique de la plante est faiblement soluble dans l'eau. La présence de polyphénols dans l'extrait hydro éthanolique serait responsable de l'activité antioxydante de *Luffa cylindrica*. Ceci se justifie par le fait que l'extrait hydro éthanolique est plus concentré en polyphénols que l'extrait aqueux. La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante dépendrait aussi du solvant utilisé lors de la préparation de l'extrait. Par ailleurs, la présence des flavonoïdes, des tanins, des polyphénols dans l'extrait hydro éthanolique prouvait expliquer la capacité de l'activité antioxydante des feuilles de *Luffa cylindrica*. A l'issue de l'évaluation de l'activité antiradicalaire à partir du test de DPPH, la CI50 obtenu de l'extrait hydro éthanolique dans cette étude (88µg/ml) est proche du standard qui est de 85,33 µg/ml. Cette valeur obtenue permet de dire que dans l'extrait hydro éthanolique des feuilles de *Luffa cylindrica* a des effets piègeurs les radicaux libres DPPH. Ces résultats vont dans le même sens que l'étude sur l'examen des utilisations ethnobotaniques, de la phytochimie et de la pharmacologie de *Luffa cylindrica* réalisés par Kazeem et al., en 2021. De plus, la valeur de

la DPPH obtenue dans ce travail est supérieure à celle trouvée par Al-Snafi (2019) qui est de 75µg/ml dans l'extrait éthanolique. Ce pouvoir antioxydant des feuilles de la plante pourrait être dû à la présence des polyphénols et flavonoïdes et des tanins contenus dans cette drogue de la plante. Etant donné que les antioxydants diminuent le stress oxydatif, l'utilisation des

feuilles de cette plante pourrait réduire le stress oxydatif induit par le déséquilibre profond entre les antioxydants et les pro oxydants en faveur de ces derniers et pourrait prévenir les complications micro et macro-vasculaires dans le traitement du diabète de type 2.

Conclusion

Le screening phytochimique sur les extraits aqueux et hydro éthanolique de la feuille de *Luffa cylindrica* a été étudié. Dans cette étude, Les extraits éthanoliques et aqueux de la feuille de *Luffa cylindrica* renferment de divers composés phytochimiques tels que des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins galliques, des anthocyanes. Ces métabolites secondaires retrouvées dans la drogue (feuille) de la plante sont à des concentrations différentes selon les

types d'extrait. Le criblage phytochimique des feuilles de *Luffa cylindrica* a permis de révéler la présence de métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins dotés de pouvoir antioxydant, ce qui justifie les effets antiradicalaires.

Dans le cadre d'une utilisation rationnelle de la drogue, des évaluations biologiques et cliniques sont en perspective.

Références

- Adhirajan N., Dixit V.K. and Chandrakasan G., 2001. Development and evaluation of herbal formulations for hair growth. *Indian Drugs*, 38(11): 559 - 563.
- Abiguail C. D. L and Metuaghan E. A., 2019. Evaluation of Anti-Diabetic Potential of Aqueous Extract of "*Luffa cylindrica*" (Native Sponge/Sponge Gourd) Leaf and Seed on Alloxan Induced Diabetic Wistar Rats. *International Journal of Biochemistry Research*, 25(1), 1-8.
- Abirami M.S., Indhumathy R., Devi G.S., Kumar D.S., Sudarvoli M and Nandini R., 2011. Evaluation of the wound healing and anti-inflammatory activity of whole plant of *Luffa cylindrica* (Linn) in Rats. *Journal of Pharmacology*, (3), 281-285.
- Aboh M. I., Oladosu P., Adeshina G. b., Olayinka B. and Olonitola S. O., 2017. Phytochemical screening and antifungal activity of leaves extracts of *Luffa cylindrica* (Roem). *African Journal of Microbiology Research*, 11(47), 1681-1687.
- Al-Snafi Esmail A., 2019. Constituents and pharmacology of *Luffa cylindrica*- A review, Department of Pharmacology, College of Medicine, Thi qar University, Iraq *Journal of Pharmacy* Volume 9, 68-79
- American Diabetes Association., 2014. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes care*, 37 P
- Anigboro. A.A., 2017. Protective effets of *Luffa aegyptiaca* aqueous extrait against Biochemical Alterations in Diabetic Rats. Faculty of Science, Delta State University. *NISEB journal*, (17), 3-5.
- Assanhou A. G., Wotto E. M., Agbokponto J. E., Kassehin U. C., Ahouansou C. A., Fagla M. R. S., Zime D. H., Gbaguidi A. F., Yemoa Y. L. A. and Ganfon H., 2022. Formulations and standardization of the aqueous extract from the leaves of *morinda lucida* benth, a hypoglycemating plant, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 13(5), 2163-2169.
- Assongba Y. F., Tossou F. S. N., Yoka J., Kpogniwe Z. J., Djego G.M J et Sinsin A.B., 2021. Valorization of the Endogenous Knowledge of Plants Used in the Treatment of Female Infertility in the District of Abomey-Calavi in Benin. *Scholars Academic Journal of Bioscience*, 9(10), 303-314.
- Balakrishnan N et Alka S., 2013. Preliminary phytochemical and pharmacological activities of *Luffa cylindrica* L. Fruit. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6, 113-116.
- Bocco R., Gandonou C. B., Gbaguidi F., Ahouansou A. C., 2017. Phytochemical screening and quantitative variation of some secondary metabolites in five cultivated rice varieties. *Journal of Applied Biosciences*, 113, 11146-11157.
- Bouabid K., 2020. Etude phytochimique et activités antioxydante et antidiabétique in vitro et in vivo d'*Atractylis gummifera* L., Faculté Polydisciplinaire de Taza, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah de Fès, thèse de doctorat, N° 4/CSVS, 185p.
- Bulbul J., Zulfiker, Hamid A., Khatum K. et Begum M., 2011. Etude comparative de l'activité antioxydante, antibactérienne et cytotoxique in vitro de deux plants médicinaux bangladaises, *Luffa cylindrica* L ; et *Luffa acutangula*. *Journal of Pharmacogy*, (3), 59-66.
- Chaurasia S. R. C., Saxena I. D., Chaurasia E and Rajeev S., 2011. Antidiabetic activity of *Luffa acutangula* (L.) Roxb. in alloxan induced diabetic rats. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(2):522-525.
- Dieng M. I. S., Fall A. D., Diatta-Badji K., Sarr A., Sene M., Mbaye A., Diatta W et Bassene E., 2017. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 11(2), 768-776.

- Djrolo F., Houinato D., Gbary A., Akoha R., Djigbénoùdé O., Sègnon J., 2012. Prevalence of diabetes mellitus in the adult population at Cotonou, Benin. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 6(2) : 167-169.
- Dubey S., Saha S., Kaithwas G and Saraf S.A., 2015. Effect of standardized fruit extract of *Luffa cylindrica* on oxidative stress markers in hydrogen peroxide induced cataract. *Indian Journal Pharmacology*, 47 : 644-648.
- El Omari N., 2022. Étude phytochimique et toxicologique et évaluation de l'activité antioxydante, antidiabétique et antibactérienne des racines d'*Aristolochia longa* L., Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V-Rabat, Thèse de doctorat, N° : 30/21/CSVS, 203p.
- Erna H and Dhigna C. P., 2021 Literature Review: Potential pharmacological activity of *Luffa cutangula* L. Roxb. Conference Series: Earth and Environmental Science 755, 1-7
- Fagbemi A. Kaossarath, Azonbakin S., Adjagba M., Baba-Moussa L et Laleye A., 2017. Aspects épidémiologiques du diabète de type 1 à la banque d'insuline de Cotonou (Bénin). *International Journal Biological Chemical and Science*. 11(3) : 1085-1095.
- Fédération Internationale du Diabète (FID), 2017. Modifiable Risk Factors for Cardiovascular Disease in Children with Type 1 Diabetes: Can Early Intervention Prevent Future Cardiovascular Events 17: 133-135.
- Grover J. K., Yadav S. and Vats V., 2002. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *Journal of ethnopharmacology*, 81(1) : 81-100.
- Han Y., Zhang X., Qi R., Li X., Gao Y., Zou Z., Cai R., Qi Y., Lucyoside B., 2020. A triterpenoid saponin from *Luffa cylindrica*, inhibits the production of inflammatory mediators via both nuclear factor- κ B and activator protein-1 pathways in activated macrophages. *Journal of Functional Foods*, 69: 94-103.
- Houghton and Raman., 1998. A Laboratory handbook for the fractionation of natural extracts. Chapman et Hall, London, 199p.
- Houngbeme A.G, Gandonou C., Yehouenou B., Kpoviessi S.D.S, Sohounhloùe D., Moudachirou M and Gbaguidi F.A., 2014. Phytochemical analysis, toxicity and antibacterial activity of Benin medicinal plants extracts used in the treatment of sexually transmitted infections associated with HIV-AIDS. *International Journal Pharmacology Science Recherche*, 5 (5): 1739-1745.
- Kao T.H., Huang C.W and Chen B.H., 2012. Functional components in *Luffa cylindrica* and their effects on antiinflammation of macrophage cells. *Food Chemical*, 135, 386– 395.
- Kazeem A. A., Oluwole O. E. et Omolara O. O., 2021. A Review on the Ethnobotanical Uses, Phytochemistry and Pharmacology Effect of *Luffa cylindrica*. In book: Pharmacognosy- Medicinal Plant Publisher, 25p
- Kolling, M., Winkley K., Von Deden M., 2018. "For someone who's rich, it's not a problem". Insights from Tanzania on diabetes health-seeking and medical pluralism among Dar es Salaam's urban poor. *Canadian Journal of Diabetes* 1p. Doi:10.1186/1744-8603-6-8
- Macheix J. J., Fleuriot A., Jay-Allemand C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 216 pages.
- Mbanya JCN, Motala AA, Sobngwi E, Assah FK, Enorus ST., 2010. Diabetes in sub-Saharan Africa. *The Lancet*, 375(9733): 2254-2266.
- Molyneux P., 2003. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant. *Songklanakarin journal of science and technology*, 26(2): 211-219.
- Monnier L., 2019. Diabétologie. 3eme Edition. Paris, 45p
- Morze von Cornelius, Allu R. K. Prasanna Chang Y. Gene Marco-Rius I, Milshteyn E., Wang J., Zhen O. A. Michael G. E. Kurhanewicz C., John V. B. Daniel & Pearce David., 2018. Non-invasive detection of divergent metabolic signals in insulin deficiency vs. insulin resistance in vivo: Scientific reports, 1-12
- Mrabti N. H., 2018. Étude Pharmacologique Toxicologique de l'*Arbutus unedo* L., Formation doctorale : Sciences du Médicament, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Maroc, N° : 09/18 CSVS, 158p.
- Niamassoumou M.M., 2020. Etude phytochimique et de l'activité antiradicalaire de *Gymnema sylvestre* (retz.), Schultz asclepiadaceae, utilisée dans le traitement traditionnel du diabète au mali. Thèse de doctorat d'état de pharmacie, Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako, 99p.
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 2021. www.who.int 25/05/2022.
- Organisation Mondiale de la Santé., 2016. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs138/fr/> <http://www.who.int/mediacentre/fr/>
- Pan, S.Y., Zhou, S.F., Gao, S.H., Yu, Z.L., Zhang, S.F., Tang, M.K., Sun, J.N., Ma, D.L., Han, Y.F., Fong, W.F., Ko, K.M., 2013. New perspectives on how to discover drugs from herbal medicines: CAM'S outstanding contribution to modern therapeutics. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 25p
- Parlement Européen., 2021. Journée mondiale du diabète 2021 eprs@ep.europa.eu (contact) [http://www.eprs.ep.parl.union.eu\(intranet\)](http://www.eprs.ep.parl.union.eu(intranet)). <http://www.europarl.europa.eu/thinktank> (internet). <http://epthinktank.eu> (blog).
- Picard F., Adjedj J. & Varenne O., 2017. Le diabète, une pathologie prothrombotique. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie. Elsevier Masson*, 66(6) : 385-392.
- Preethi P. Jaya., 2013. Herbal medicine for diabetes mellitus: A Review, Department of Pharmacy, Nandha College of Pharmacy and Research Institute, Koorapalayam Piruvu, Erode, TamilNadu, India 638052, *International Journal of Phytopharmacy Review Article*, 3 (1), 01-22p.
- Salhi Najoua., 2020. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et

antihyperglycémiant des extraits aqueux et éthanolique de l'écorce de *Pinus halepensis*, faculté de médecine et de pharmacie rabat, université Mohammed v, Thèse N°35, 178p.

Vitry Marine., 2019. La médecine traditionnelle dans un contexte de pathologies diabétiques : retour d'expérience humanitaire au Bénin, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université de Poitiers, 94p.

Who Expert Committee on Diabetes Mellitus & World Health Organisation. (1980). Comité OMS

d'experts du diabète sucré [réuni à Genève du 25 Septembre au 1er Octobre 1979] : deuxième rapport. Organisation mondiale de la Santé <https://apps.who.int/iris/handle/10665/40998>

Yizhong C., Qiong L., Mei S., Harold C., 2004. Antioxidant activity and phenolic compound of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Science*, 74 : 2157-2184.