

Toxicité aiguë et effet aphrodisiaque de l'extrait aqueux de *rauwolfia obscura* k. Schum(apocynaceae)

Radard ONDELE¹, Arnaud Wilfrid ETOU OSSIBI¹, D'Avila Judicaelle BASSOUEKA¹,
Max Bonaventure PENEME¹, Romaric De Garde ELION ITOU¹, Aaron BINIMBI MASSENGO²
et Ange Antoine ABENA^{1*}

¹ Laboratoire de Biochimie et pharmacologie, Faculté des sciences de la Santé,
Université Marien Ngouabi de Brazzaville, Congo

² Département de Biologie et Physiologie Animale, Faculté des Sciences et Techniques,
Université Marien Ngouabi de Brazzaville, Congo

* Correspondance, courriel : abena_cg@yahoo.fr

Résumé

Rauwolfia obscura (Apocynaceae) est une plante bien connue en médecine traditionnelle congolaise. Elle est appelée en langues vernaculaires par ompi-mpié (Gangoulou), onduele (Beti) et nungubakuyu (Lari). Ses racines sont réputées aphrodisiaques. Beaucoup de pathologies peuvent influencer de temps à autre, la vie et l'activité sexuelles humaines. C'est le cas de l'impotence sexuelle qui représente une préoccupation pour près de 30 à 50% de personnes âgées entre 40 et 70 ans. La présente étude visait à évaluer la toxicité aiguë chez la souris ainsi que les effets de l'extrait aqueux des racines de *R. obscura* sur les paramètres sexuels chez le rat mâle. La toxicité aiguë a été évaluée en administrant par voie orale l'extrait aqueux de la plante aux doses respectives de 300, 1500, 2000, 2500 et 5000mg/kg ; les souris témoins auraient reçu de l'eau distillée à 0,5mL/100g. Les paramètres sexuels (nombre de montes sexuelles, nombre d'érection, nombre d'éjaculation et le temps de latence) ont été évalués par la méthode classique en administrant per os aux rats mâles l'extrait aqueux de *R. obscura* (100, 250 et 500mg/kg par jour) pendant une semaine. Il ressort de cette étude que l'extrait aqueux de *R. obscura* provoque une mortalité de 60% et de 80% respectivement aux doses de 2500 et 5000mg/kg. La DL₅₀ est évaluée à 3300mg/kg. *R. obscura* serait moyennement toxique. L'extrait aqueux de la plante accroît significativement les paramètres sexuels chez le rat mâle à la dose de 100mg/kg. Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux des racines de *R. obscura* présente des potentialités aphrodisiaques qui seraient dues à la présence des stéroïdes et flavonoïdes dans cette plante. Cette étude mérite d'être approfondie afin de mettre en évidence les lésions provoquées sur les organes ainsi que les mécanismes d'action de ces racines sur la fonction sexuelle.

Mots-clés : *rauwolfia obscura*, toxicité aiguë, aphrodisiaque, yohimbine.

Abstract

Acute toxicity and aphrodisiac effect of the aqueous extract of *rauwolfia obscura* k schum (apocynaceae)

Rauwolfia obscura (Apocynaceae) is a well-known medicinal plant used in traditional medicine in Republic of Congo. It is called in local languages by ompi-mpie (Gangoulou), onduele (Beti) and nungu ba kuyu (Lari).

Its roots are used as aphrodisiacs. Many pathologies can influence time with other, the life and the sexual activity in human. It is the case of the sexual impotence which represents a concern for nearly 30 to 50% of people aged between 40 and 70 years old. The aim of the present study as to evaluate the acute toxicity of the aqueous extract of the root in male and female mice as well as these effects of on the sexual parameters in male rats. Oral acute toxicity was evaluated by oral administration of aqueous extract of the plant respectively at the doses of 300, 1500, 2000, 2500 and 5000 mg/kg; control mice received distilled water (0,5mL/100g). Sexual parameters (sexual mounts, erection number ejaculatory number and latency) were evaluated by the traditional method by managing per bone with the male rats the aqueous extract of *R. obscura* with of 100, 250 and 500 mg/kg during one week. Aqueous extracts of *R. obscura* causes mortality at the doses of 2500 and 5000mg/kg. Therefore, the resulting LD₅₀ was 3300mg/kg. *R. obscura* would be meanly toxic. The aqueous extract of the plant increased significantly sexual parameters of male at the dose of 100mg/kg. These results suggest that the aqueous extract of the roots of *R. obscura* have potential aphrodisiac effect which is likely do to the presence of sterols and flavonoids in this plant. Further studies are necessary lesions induced and mechanism of action of this extract on sexual function.

Keywords : *rauvolfia obscura* ; acute toxicity; aphrodisiac, yohimbine

1. Introduction

La recherche du plaisir demeure une préoccupation majeure dans l'existence humaine. Privé du plaisir sexuel, l'homme sombre dans la frustration. Les capacités sexuelles chez l'homme varient en fonction de l'âge, de ses états physiologique et psychologique. Elles atteignent leur stade maximal dans l'intervalle de vingt-cinq à trente-cinq ans, et diminuent lentement au-delà de cette tranche d'âge. [1], pense pour cela, que la baisse de l'activité sexuelle a été considérée comme une évolution naturelle faisant partie du vieillissement physiologique et donc une fatalité liée à l'âge. Cependant, de nombreuses pathologies peuvent influencer de temps à autre, la vie et l'activité sexuelles humaines. C'est le cas de l'impotence sexuelle, définie comme l'incapacité répétée que connaît un homme à initier et maintenir l'érection au cours d'un rapport sexuel [2, 3]. Elle représente ainsi une préoccupation pour près de 30 à 50% de personnes âgées entre 40 et 70 ans. Ainsi, [4], rapporte qu'environ 322 millions d'hommes pourraient être affectés d'impotence sexuelle en l'an 2025. De nombreux médicaments sont utilisés pour le traitement du dysfonctionnement sexuel, mais leur coût élevé constitue un facteur limitant. Face à toutes ces situations, certaines personnes ont de temps à autre leur regard tourné vers la médecine traditionnelle, qui leur procure des traitements à moindre coût. Ces traitements sont faits à base des plantes médicinales comme *Rauvolfia obscura* (*R. obscura*), présumées aphrodisiaques. En République du Congo, ces plantes sont utilisées par de nombreuses personnes souvent sans connaissances scientifiques. C'est pour cette raison que cette étude a été réalisée avec pour objectifs d'étudier la toxicité aiguë de l'extrait aqueux des racines de *R. obscura* chez la souris ; les effets sur quelques paramètres sexuels et aussi de réaliser le criblage chimique des racines de *R. obscura*.

2. Méthodologie

2-1. Matériel

2-1-1. Matériel végétal

Les écorces des racines de *Rauvolfia obscura* K. Schum (Apocynaceae) ont été utilisées. Ces racines ont été récoltées à Gamboma (localité située à 365 km au nord de Brazzaville, Congo) en mars 2010.

L'identification a été réalisée par des botanistes systématiciens de la Faculté des Sciences et Techniques de Brazzaville puis complétée au laboratoire de botanique du Centre d'Etudes sur les Ressources Végétales (CERVE) de Brazzaville où un échantillon a été déposé sous le numéro : IEC001856 du 9/12/96. Le séchage des échantillons récoltés a été réalisé au laboratoire, à l'abri du soleil pendant 15 jours, à la température de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Après séchage, les échantillons ont été broyés à l'aide d'un mortier en bois.

2-1-2. Matériel animal

Des souris mâles de souche albinos suisse de poids compris entre 20 et 25 g et des rats albinos (mâle et femelle) de souche wistar de poids compris entre 150 et 200g ont été utilisées. Ces animaux, placés dans les cages de dimensions $46 \times 27 \times 17 \text{ cm}^3$, ont eu un accès libre à une alimentation standard et à l'eau. Les animaux sont mis en acclimatation pendant 72 heures et à jeun pendant 24 heures avant chaque expérience.

2-2. Préparation de l'extrait aqueux

50 g de poudre de *R. obscura* ont été mis en ébullition dans 500 mL d'eau distillée pendant 15min. Après refroidissement puis filtration sur du coton hydrophile et du papier filtre «Wattman», le décocté obtenu a été concentré sur bain marie thermostaté à 55°C , ce qui a permis d'obtenir 15g d'un résidu solide (rendement de 30%) de couleur marron.

2-3. Etude de la toxicité aigüe chez la souris

Les animaux sont au préalable mis à jeun 24 heures avant le traitement. Trente (30) souris repartis en lots de cinq souris chacun, ont été traités comme suit :

- le lot témoin a reçu de l'eau distillée (0,5 mL/100g) ;
- les lots 1, 2, 3, 4 et 5 ont été traités à l'extrait aqueux de *R. Obscura* aux doses respectives de 300, 1500, 2000, 2500 et 5000 mg/kg.

Après administration unique des produits par voie orale, les animaux ont été placés dans des cages individuelles pour observations. Ces observations ont concerné le comportement et l'état général des animaux. La mortalité par lot a été évaluée pendant 48 heures après administration des produits. Le poids corporel de chaque animal, a été mesuré quotidiennement pendant sept jours.

2-4. Etude de l'effet aphrodisiaque chez le rat

Cinq (5) lots de cinq (5) rats mâles chacun, mis à jeun pendant 24 heures, ont été constitués et traités pendant sept jours comme suit :

- le lot 1 témoin, a reçu l'eau distillée (0,5 mL/100g par jour) ;
- le lot 2 a été traité avec la molécule de référence, la yohimbine (1mg /kg par jour) ;
- les lots 3, 4 et 5, ont été traités avec l'extrait aqueux de *R. obscura* aux doses respectives de 100, 250 et 500 mg/kg de poids corporel par jour.

Tous les produits ont été administrés par voie orale. Au quatrième jour de traitement des rats mâles, vingt-cinq rats femelles avaient reçu par voie sous cutanée pendant trois jours, de l'œstradiol (600 ug /animal/ jour) pour les rendre réceptives. Six heures après la dernière administration, les animaux ont été placés dans les cages par couple. Les paramètres sexuels suivants : le nombre de montes sexuelles, d'érection, d'éjaculation et le temps de latence ont été observés pendant une heure.

2-5. Screening Chimique

Les grandes familles chimiques (alcaloïdes, flavonoïdes anthocyanes, anthraquinones, quinones libres, tanins, saponosides hétérosides cardiotoniques) ont été recherchées dans les extraits de *R. obscura* en utilisant les tests caractéristiques de chaque famille tel que décrits par Bouquet, et Wagner [5, 6]

2-6. Analyse statistique

Les résultats exprimés en moyennes affectées de l'erreur standard ont été soumis à une analyse de variance à un facteur suivis du test t de Student-Fischer. La différence observée était significative lorsque la valeur de t calculée est, en valeur absolue, supérieure à la valeur de t lue dans la table t de Student pour le degré de liberté, $d.d.l = n_1 + n_2 - 2$ et le risque de première espèce de 5 %. n_1 et n_2 sont le nombre de valeurs pour chaque série de mesure

3. Résultats

3-1. Etude de la toxicité aiguë

3-1-1. Effets de l'extrait aqueux de *R. obscura* sur le comportement, l'état général et la mortalité

L'étude de la toxicité aiguë chez la souris montre que l'extrait aqueux administré par voie orale de *R. obscura* aux doses de 300, 1500, 2000, 2500 et 5000 mg/kg, provoque une diminution de la mobilité spontanée, de la sensibilité à la douleur induite par le pincement de la queue et de la réaction au stimulus extérieur par rapport aux souris témoins (eau distillée 0,5 mL/100g, per os). La mortalité est de 60% et 80% aux doses respectives de 2500 et 5000 mg/kg (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Etat général des animaux après administration de l'extrait aqueux de *R. obscura*

Paramètres	Traitements					
	Lot témoin	Lot 1 300 mg/kg	Lot 2 1500 mg/kg	Lot 3 2000mg/kg	Lot 4 2500mg/kg	Lot 5 5000 mg/kg
Nombre d'animaux	05	05	05	05	05	05
Mobilité	N	D	D	D	-	--
Agressivité	N	A	A	A	A	A
Etat des Selles	N	N	N	N	N	N
Sensibilité à la douleur	N	D	D	D	A	A
Vomissement	A	A	A	A	A	A
Vocalisation	A	A	A	A	A	A
Pilot érection	A	A	A	A	A	A
Etat de la queue	N	N	N	N	N	N
Ptosis	A	A	A	A	-	--
Vigilance	+	+	+	+	-	--
Nombre de morts	0	0	0	0	03	04

A : Absent ; N : Normal ; + : Oui ; - : très faible ; -- : Pas de réaction ; D : diminution

3-1-2. Effet de l'extrait aqueux de *R. obscura* sur l'évolution pondérale des souris

La **Figure 1** montre l'évolution du poids des souris après administration de l'extrait aqueux des racines de *R. obscura* (300, 1500, 2000, 2500 et 5000mg/kg). Les animaux présentent une augmentation significative ($p < 0,05$) de la masse corporelle par rapport au premier jour. Sauf aux doses de 2000 et 2500 mg/kg.

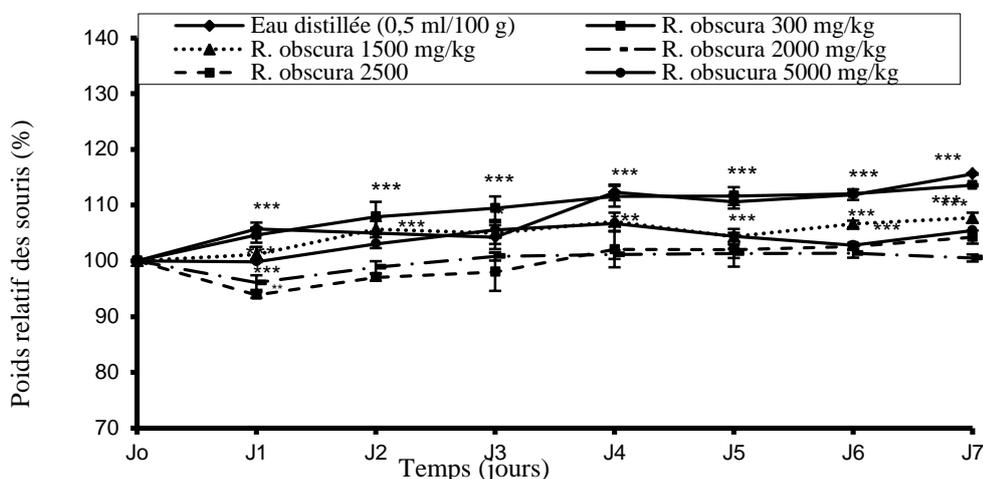


Figure 1 : Effets de l'extrait aqueux de *R. obscura* sur l'évolution pondérale des souris. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ESM, $n = 5$, ** $p < 0,05$; *** $p < 0,001$

3-2. Etude de l'effet aphrodisiaque de l'extrait aqueux de *R. obscura* chez le rat

3-2-1. Effet sur les montes sexuelles

La **Figure 2** montre l'effet de l'extrait aqueux de *R. obscura* sur les montes sexuelles chez le rat pendant une heure. A la dose de 100 mg/kg, cet extrait a provoqué une augmentation non significative du nombre de montes sexuelles par rapport aux rats témoins. Avec la yohimbine (1 mg/kg), le nombre de montes est passé à $48,20 \pm 3,26$ montes ($p < 0,05$) par rapport aux rats témoins ($42,40 \pm 5,48$ montes). Cependant, aux doses de 250 et 500mg/kg, le nombre de montes est resté faible par rapport à celui des témoins.

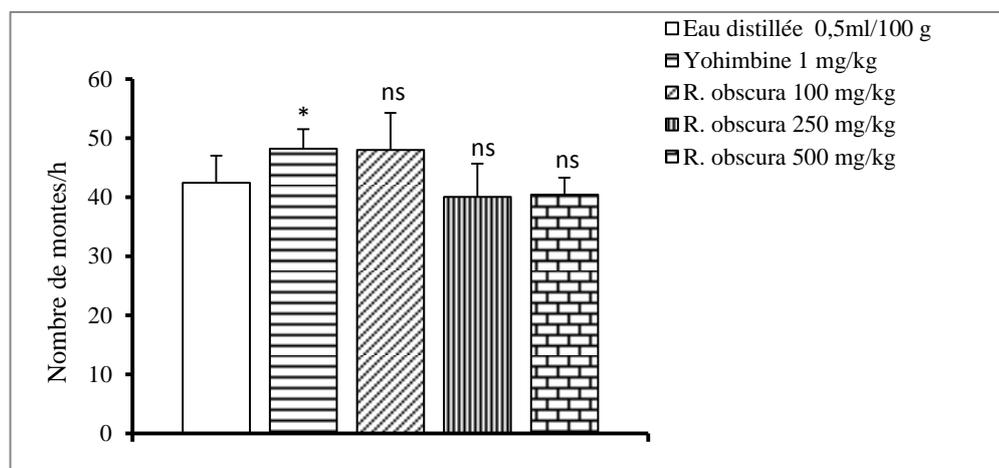


Figure 2 : Effets de l'extrait aqueux de *R. obscura* sur les montes Sexuelles chez le rat. Les valeurs sont des moyennes \pm ESM, $n = 5$, * $p < 0,05$ différence significative par rapport aux rats témoins, ns = différence non significative

3-2-2. Effet sur le nombre d'érection

L'extrait aqueux de *R. obscura* (100mg/kg) provoque une augmentation significative ($p < 0,05$) de la fréquence d'érection elle est de $57,6 \pm 1,60$ érections /h contre $44,00 \pm 5,20$ chez les rats témoins (**Figure 3**). Une augmentation de la fréquence d'érection a été observée aussi avec la yohimbine à 1mg/kg. Aux doses de 250 et 500mg/kg, cet extrait a provoqué une diminution du nombre d'érection.

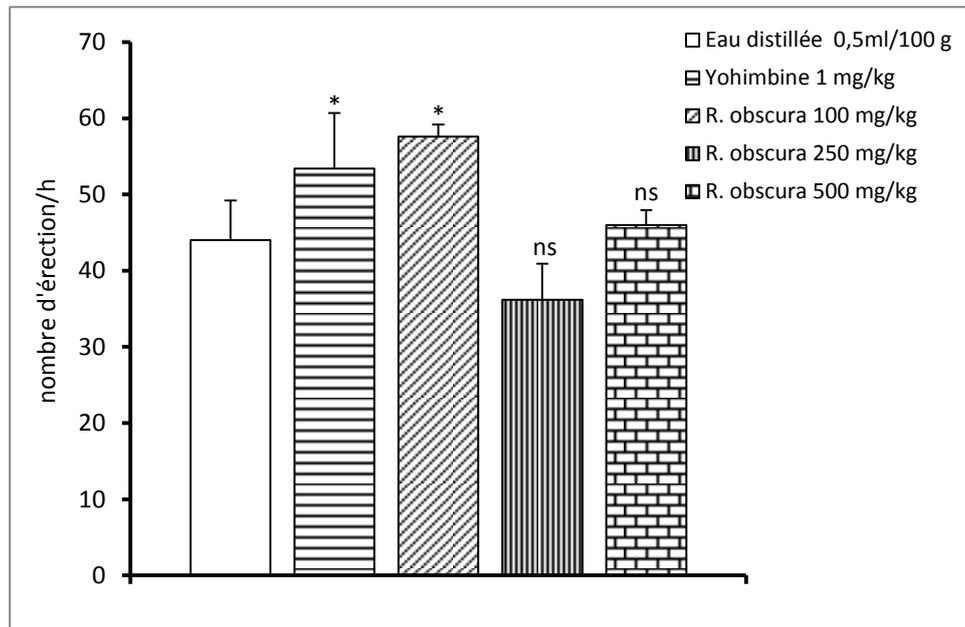


Figure 3 : Effets de l'extrait aqueux de *R. obscura* sur la fréquence d'érection chez le rat
Les valeurs sont des moyennes \pm ESM, $n = 5$, * $p < 0,05$ différence Significative par rapport aux rats témoins, ns = différence non significative

3-2-3. Effet sur le nombre d'éjaculation

La **Figure 4** montre l'effet de l'extrait aqueux sur le nombre d'éjaculation chez le rat pendant une heure. L'extrait aqueux de *R. obscura* (100 mg/kg) provoque une augmentation du nombre d'éjaculation ($3,60 \pm 0,24$, $p < 0,05$) par rapport aux rats témoins ($2,20 \pm 0,48$). Avec la yohimbine (1 mg/kg) le nombre d'éjaculation n'est que de ($3,40 \pm 0,75$, $p < 0,05$). Les doses de 250 et 500 mg/kg ne modifient pas significativement le nombre d'éjaculation.

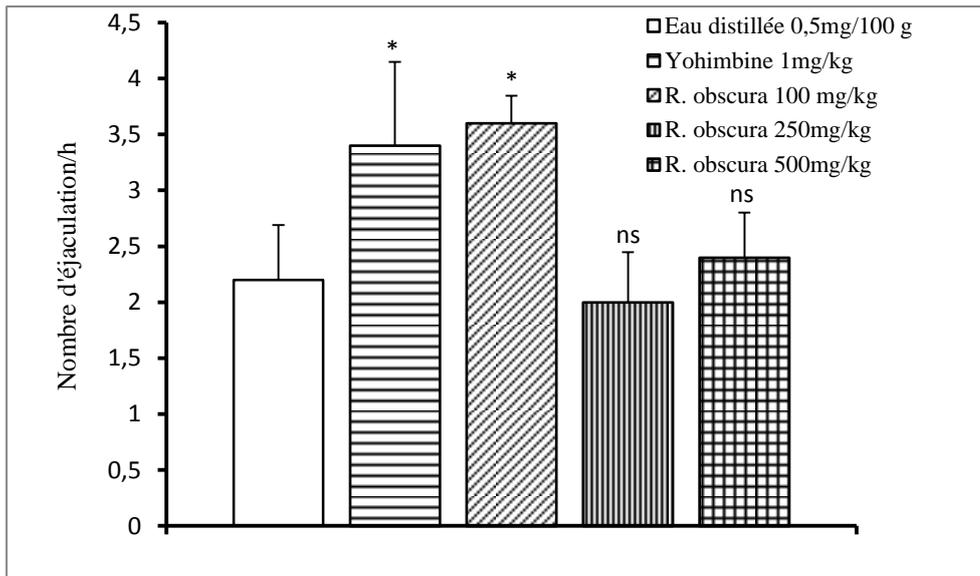


Figure 4 : Effets de l'extrait aqueux de *R. obscura* sur la fréquence d'éjaculation chez le rat. Les valeurs sont des moyennes \pm ESM, $n = 5$, * $p < 0,05$ différence Significative par rapport aux rats témoins, ns = différence non significative

3-2-4. Effet sur le temps de latence

La **Figure 5** montre le temps qui sépare deux montes sexuelles consécutives pendant une heure. L'extrait aqueux de *R. obscura* provoque une diminution significative du temps de latence ($50,20 \pm 0,86$ sec., $p < 0,05$) à la dose de 100mg/kg par rapport aux animaux témoins ayant reçu l'eau distillée ($75,6 \pm 7,74$ sec.). Aux doses de 250 et 500mg/kg, le temps de latence est plus long. La yohimbine (1 mg/kg) a provoqué la diminution du temps de latence à $49,8 \pm 2,8$ sec ($p < 0,05$).

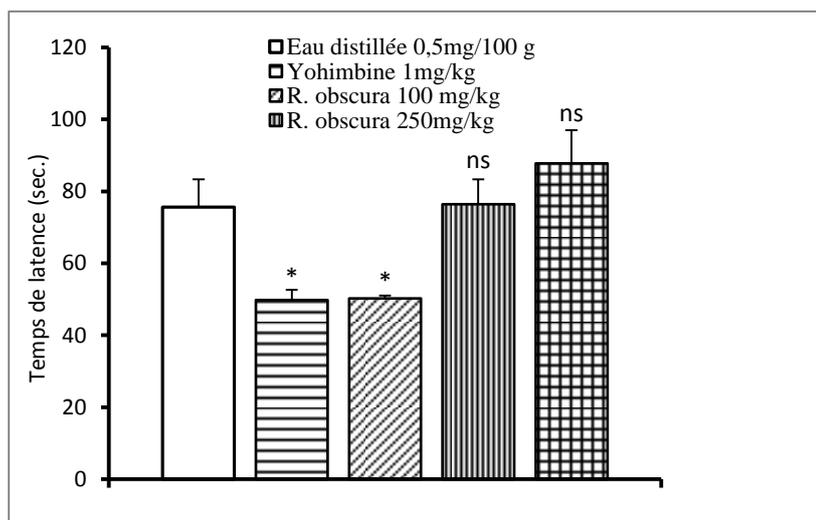


Figure 5 : Effets de l'extrait aqueux de *R. obscura* sur le temps de latence chez le rat. Les valeurs sont des moyennes \pm ESM, $n = 5$, * $p < 0,05$ différence Significative par rapport aux rats témoins, ns = différence non significative

3-3. Screening chimique

Les réactions en tubes ont montré la présence des familles chimiques suivantes : les tanins, les stérols, les saponosides, les flavonoïdes et les hétérosides cardiotoniques (**Tableau 2**).

Tableau 2 : Screening chimique de *R. obscura*

Familles chimiques recherchées	Résultats
Anthraquinones	-
Quinones libres	-
Tanins	+
Stérols et Terpenoides	+
Saponosides	+
Alcaloides	-
Flavonoïdes	+
Hétérosides cardiotoniques	+
Anthocyane	-

- : présence ; + : absence

4. Discussion

La présente étude avait pour objectif d'étudier la toxicité aiguë et les effets de l'extrait aqueux des racines de *R. obscura* sur les paramètres sexuels. L'étude de la toxicité a montré que l'extrait aqueux des racines de cette plante, provoque une mortalité de 60% et 80% aux doses respectives de 2500 et 5000mg/kg. La dose létale 50 (DL₅₀) calculée étant de 3300 mg/kg. D'après la classification de [7], *R. obscura* est moyennement toxique. Chaque mort était précédée de la diminution de la mobilité et de la fatigue. Ce résultat, laisse penser que cette plante aurait probablement des effets sédatifs. Par ailleurs, les souris étaient dispersées dans les cages. Ce phénomène qui traduirait le manque de communication entre les animaux [8] serait induit par l'extrait de la plante. Ainsi, *R. obscura*, bien que moyennement toxique, pourrait être un bon matériel pour les études pharmacologiques. L'extrait aqueux de *R. obscura* à la dose de 100mg/kg, stimule les paramètres sexuels chez le rat mâle. En effet, l'augmentation, bien que non significative, du nombre de montes sexuelles, laisse penser à l'envie d'un contact permanent entre le mâle et la femelle [9]. Cependant, l'augmentation significative ($P < 0,05$) de la fréquence d'érection ainsi que celle de la fréquence d'éjaculation, pourrait expliquer l'augmentation de la libido que procure cet extrait aqueux. Il est prouvé dans de nombreuses études que les extraits de plantes aphrodisiaques agissaient sur le plaisir [10].

L'extrait de *R. obscura* agirait favorablement sur un afflux sanguin vers les structures érectiles et éjaculatoires péniennes. De cette manière, les effets de cet extrait aqueux à la dose de 100mg/kg s'assimileraient au produit de référence qui est la yohimbine. En effet, la yohimbine est un puissant vasodilatateur [11] qui agit en inversant la vasoconstriction due à l'adrénaline en vasodilatation nécessaire à l'obtention d'une érection. La diminution significative ($P < 0,05$) du temps de latence, suggère une stimulation de virilité, caractéristique des aphrodisiaques. Aussi, elle traduit le tonus nerveux, en effet, dans des situations normales, ce temps est long et constitue pour cela, un indicateur de la fatigue nerveuse [12]. La durée longue de ce paramètre sexuel aux doses de 250 et 500mg/kg serait attribuée à la fatigue qu'occasionne l'extrait aqueux de *R. obscura* évoquée dans l'étude de toxicité aiguë. Le Screening chimique indique la présence des tanins, des stérols et des flavonoïdes. La présence des flavonoïdes et de stérols dans *R. obscura*. Pourrait expliquer, l'effet aphrodisiaque observé. Le nombre croissant des montes sexuelles serait dû à la présence des stérols et flavonoïdes [13, 14].

En effet, ces deux familles chimiques induiraient des changements du taux des neurotransmetteurs impliqués dans la fonction érectile et modèleraient l'action des neurotransmetteurs au niveau de leurs cellules cibles ou élèveraient le taux d'androgènes [15].

5. Conclusion

Cette étude a montré que l'extrait aqueux des racines de *R. obscura* est moyennement toxique, il provoque la mort des souris à partir de la dose de 2500mg/kg. LaDL₅₀ est obtenu pour une valeur de 3300mg /kg. Aussi, elle a prouvé les propriétés aphrodisiaques des racines de *R. obscura* à la dose de 100mg/kg. Ces propriétés seraient attribuées à la présence des stérols et flavonoïdes dans les racines de cette plante. Elle ouvre en perspective, l'étude du mécanisme d'action et l'effet cardiovasculaire de l'extrait aqueux et organique de cette plante.

Références

- [1] - T. SEISEN, M. ROUPRET, P. COSTA, F. GUILIANO, Influence de l'âge sur la santé sexuelle masculine. Progrès en Urologie. 22 (2012) S7-S13.
- [2] - J. A. KAYE, JICK, Incidence of erectile dysfunction and characteristics of patients before and after the introduction of sildenafil in the united kingdom : Cross sectional study with comparaison patients. British medical journal (clinical research ed.), 326 (7386) (2003) 424–425.
- [3] - G. JACKSON, Treatment of erectile dysfunction in patients with cardiovascular Disease: Guide to drug selection. Drugs, 64 (14) (2004) : 1533- 1545
- [4] - A. D. SEFTEL, Erectile dysfunction in the elderly epidemiology, etiology and approches to treatment. Journal of Urology, 169 (6) (2003), 1999– 2007.
- [5] - A. BOUQUET, Plantes médicinales du Congo Brazzaville, O.R.S.T.O.M. Paris 30 (1972) 8-18.
- [6] - H. WAGNER, S. BLADTS Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas, Springer, New York (2001).
- [7] - H. Wagner, S. Bladts, Plant drug analysis .A thin layer chromatography atlas, Springer, New York, (2001).
- [8] - T. NGUELEFACK, Effets antihypertenseurs des composés neutres isolés de l'extrait au chlorure de methylene/methanol des feuilles de *Bidens pilosidinn* (Asteraceae) chez le rat Thèse de doctorat 3ème cycle , Université de Yaoundé I ,Yaoundé-Cameroun ,(2002) 136P.
- [9] - T. MAYANK, V. K. DIXIT, Aphrodisiac activity of *Dactylorhiza hatagirea* (D.Don) Sooin male albinos rats.eCAM; 4 (S1) (2007) 29-31.
- [10] - B. ZANOLARI ,Natural aphrodisiacs studies of commercially-available herbal recipes,and phytochemical investigation of *Erythroxylumvaccinifolium* Mart.(Erythroxylaceae) from Brazil, Thèse de doctorat, Faculté des Sciences ,Université de Lausanne, Lausanne-Suisse : (2003) (29) :2
- [11] - K. SABNA, H. SHAHID, I ANSARI, A. JAVED, Exploration aphrodisiaque à base de plantes scientifiquement prouvé : pharmacognRev; 7(13) (2013) :1-10.
- [12] - T. MAYANK, V.K. DIXIT, Aphrodisiac activity of *Dactylorhiza hatagirea* (D.Don) Sooin male albinos rats.eCAM; 4 (S1) (2007) 29-31.
- [13] - S. E. DREWES, J. GEORGE, F. R. KHAN, Recent findings on natural products with erectile dysfunction activity.Phytochemistry, 62 (2003) : 1019-1025.
- [14] - P. WATCHO, M. WANKEU-NYA, T. B. NGUELEFACK, L. TAPONDJOU, R. TEPONNNO, A. KAMANYI , pro-sexual effects of *Dracaena arborea*(wild) link(Dracaenaceae) insexually experienced male rats Pharmacology 1:(400-419) (2007).
- [15] - P. K. SURESH KUMAR, A. SUBRAMONIAM, P. PUSHPANGADAN, Aphrodisiacactivity of Vanda tessellate(ROXB).Hoo extract in male mice Ind j pharmacol, 32 (2000) : 300-304.