



UNIVERSITE  
JEAN LOROUGNON GUEDE

**UFR AGROFORESTERIE**

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union-Discipline-Travail

-----

Ministère de l'Enseignement Supérieur et  
de la Recherche Scientifique

ANNEE : 2023-2024

N° D'ORDRE :

116

**CANDIDAT**

Nom : **KONE**

Prénoms : **Mariam**

# **THESE DE DOCTORAT**

**Mention : Biologie-Santé**

**Spécialité : Biochimie et Pharmacologie des  
Substances Naturelles**

**Etude de l'activité d'un médicament traditionnel  
amélioré utilisé dans le traitement de l'hépatite en  
Côte d'Ivoire**

## **JURY**

- Présidente** : Mme TRAORE OUATTARA Karidia, Professeur  
Titulaire, Université Jean LOROUGNON GUEDE
- Directeur** : M. ACKAH Jacques Auguste Alfred Bognan, Maître de  
Conférences, Université Jean LOROUGNON GUEDE
- Rapporteur** : M. KRA Adou Koffi Mathieu, Maître de Conférences,  
Université Felix HOUPHOUET-BOIGNY
- Examineur** : M. YAYE Yapi Guillaume, Maître de Conférences,  
Université Jean LOROUGNON GUEDE
- Examineur** : M. OUATTARA Karamoko, Professeur Titulaire,  
Université Polytechnique de San-Pedro

**Soutenue publiquement  
le:13/12/2024.....**

## TABLE DES MATIERES

|  | Pages |
|--|-------|
| Dédicace   | VIII  |
| Avant-propos   | IX    |
| Remerciement   | X     |
| Liste des sigles et abréviations   | XIII  |
| Liste des tableaux   | XVI   |
| Liste des figures  | XVII  |
| INTRODUCTION   | 1     |
| PREMIERE PARTIE : GENERALITES  | 5     |
| 1-Présentation de la plante  | 6     |
| 1-1. <i>Terminalia catappa</i>   | 6     |
| 1-1-1. Nom vernaculaire  | 6     |
| 1-1-2. Position systématique   | 6     |
| 1-1-3. Description de la plante  | 6     |
| 1-1-4. Répartition géographique de <i>Terminalia catappa</i>                   | 6     |
| 1-1-5. Utilisation en médecine traditionnelle                                  | 7     |
| 1-1-6. Pharmacologie et composition phytochimique de <i>Terminalia catappa</i> | 7     |
| 1-2. <i>Combretum micranthum</i>   | 8     |
| 1-2-1. Nom vernaculaire  | 8     |
| 1-2-2. Position Systématique   | 8     |
| 1-2-3. Description botanique   | 8     |
| 1-2-4. Distribution géographique   | 9     |
| 1-2-5. Utilisation en Médecine Traditionnelle                                  | 9     |
| 1-2-6. Activités biologiques et pharmacologiques                               | 9     |
| 1-3. Métabolites secondaires   | 10    |
| 1-3-1. Alcaloïdes  | 10    |
| 1-3-1-1. Fonction  | 11    |
| 1-3-1-2. Toxicité  | 11    |
| 1-3-2. Terpenoïdes et leurs fonctions  | 12    |
| 1-3-3. Flavonoïdes   | 13    |
| 1-3-3-1 Fonction   | 13    |
| 1-3-3-2. Toxicité  | 14    |

|   |    |
|---|----|
| 1-3-4. Tanins   | 14 |
| 1-3-4-1. Fonction                                     | 15 |
| 1-3-4-2. Toxicité                                     | 15 |
| 1-4. Etude de la toxicité                             | 16 |
| 1-4-1. Toxicité aigüe                                 | 16 |
| 1-4-2. Toxicité subaiguë                              | 17 |
| 1-4-3. Toxicité subchronique                          | 17 |
| 1-4-4. Toxicité chronique                             | 17 |
| 1-5. Généralité sur le Foie                           | 17 |
| 1-5-1. Fonction du foie                               | 19 |
| 1-5-1-1. Détoxification                               | 19 |
| 1-5-1-2. Production de la bile                        | 20 |
| 1-5-1-3. Métabolisme des nutriments                   | 20 |
| 1-5-1-4. Régénération du foie                         | 21 |
| 1-6. Hépatites  | 21 |
| 1-6-1. Différents types d'hépatites                   | 21 |
| 1-6-1-1. Hépatites virales                            | 21 |
| 1-6-1-1-1. Virus de l'hépatite A                      | 22 |
| 1-6-1-1-1-1. Caractéristique de l'hépatite virale A   | 22 |
| 1-6-1-1-1-2. Identification du virus de l'hépatite A  | 22 |
| 1-6-1-1-1-3. Prévention de l'hépatite virale A        | 23 |
| 1-6-1-1-1-4. Traitement                               | 23 |
| 1-6-1-1-2. Virus de l'hépatite B                      | 24 |
| 1-6-1-1-2-1. Caractéristique du virus de l'hépatite B | 24 |
| 1-6-1-1-2-2. Diagnostique de l'hépatite virale B      | 25 |
| 1-6-1-1-2-3. Prévention de l'hépatite virale B        | 26 |
| 1-6-1-1-2-4. Traitement                               | 26 |
| 1-6-1-1-3. Virus de l'hépatite C                      | 26 |
| 1-6-1-1-3-1. Caractéristique du virus de l'hépatite C | 27 |
| 1-6-1-1-3-2. Diagnostique de l'hépatite virale C      | 27 |
| 1-6-1-1-4. Virus de l'hépatite D                      | 28 |
| 1-6-1-1-4-1. Diagnostique de l'hépatite virale D      | 28 |
| 1-6-1-1-4-2. Prévention                               | 28 |

|  |    |
|--|----|
| 1-6-1-1-4-3. Traitement                                    | 28 |
| 1-6-1-1-5. Virus de l'hépatite E                           | 28 |
| 1-6-1-1-5-1. Caractéristiques virologiques de l'hépatite E | 29 |
| 1-6-1-1-5-2. Diagnostique de l'hépatite virale E           | 29 |
| 1-6-1-1-5-3. Prévention                                    | 29 |
| 1-6-1-1-5-4. Traitement                                    | 29 |
| 1-6-1-2. Hépatites non virales                             | 30 |
| 1-6-1-3. Hépatite chronique due à l'inflammation           | 30 |
| 1-6-1-4. Hépatite chronique due à la fibrose               | 30 |
| 1-6-2. Traitements conventionnels des hépatites            | 31 |
| 1-6-3. Utilisation des plantes                             | 31 |
| 1-7. Substances hépatotoxiques                             | 32 |
| 1-7-1. Paracétamol   | 32 |
| 1-7-2. Tétrachlorure de carbone                            | 32 |
| 1-7- 3. Ethanol  | 33 |
| 1-7-4. Isoniazide  | 33 |
| 1-7-5. Rifampicine   | 33 |
| 1-7-6. D-galactosamine                                     | 33 |
| 1-7-7. Antidote : N-acétylcystéine                         | 33 |
| DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES                     | 35 |
| 2-Matériel et Méthodes                                     | 36 |
| 2-1. Matériel  | 36 |
| 2-1-1. Matériel biologique                                 | 36 |
| 2-1-1-1. Matériel végétal                                  | 36 |
| 2-1-1-2. Matériel animal                                   | 36 |
| 2-1-2. Matériel de laboratoire                             | 37 |
| 2-1-3. Produits chimiques et consommables                  | 37 |
| 2-2. Méthodes  | 37 |
| 2-2-1. Criblage phytochimique                              | 37 |
| 2-2-1-1. Recherche des stérols et les polyterpènes         | 38 |
| 2-2-1-2. Recherche des polyphénols                         | 38 |
| 2-2-1-3. Recherche des flavonoïdes                         | 38 |
| 2-2-1-4. Recherche des tanins                              | 39 |

|  |    |
|--|----|
| 2-2-1-5. Recherche des quinones libres ou combinées  | 39 |
| 2-2-1-6. Recherche des alcaloïdes  | 40 |
| 2-2-1-7. Recherche des saponosides   | 40 |
| 2-3. Essais chromatographiques   | 40 |
| 2-3-1. Principe  | 40 |
| 2-3-2. Modes opératoires   | 42 |
| 2-3-2-1. Préparation de la cuve  | 42 |
| 2-3-2-2. Dépôt des solutions à analyser  | 42 |
| 2-3-2-3. Développement et séchage du chromatogramme  | 42 |
| 2-3-2-4. Révélation  | 42 |
| 2-4. Détermination de la concentration de la solution du médicament                            | 42 |
| 2-5. Etude de la toxicité du Médicament Traditionnel Amélioré                                  | 43 |
| 2-5-1. Conduite de l'expérimentation   | 43 |
| 2-6. Induction de l'hépatotoxicité et évaluation des paramètres hématologiques et Biochimiques | 43 |
| 2-6-1. Induction de l'hépatotoxicité   | 43 |
| 2-6-1-1. Préparation de la solution de paracétamol   | 43 |
| 2-6-1-2. Préparation de solution de N-acétylcystéine   | 44 |
| 2-6-1-3. Méthode d'induction de l'hépatite avec le paracétamol                                 | 44 |
| 2-6-2. Evaluation des paramètres hématologiques et biochimiques                                | 44 |
| 2-6-2-1. Etudes hématologiques   | 45 |
| 2-6-2-2. Etudes biochimiques   | 46 |
| 2-6-2-2-1. Dosage de la bilirubine totale et conjugué  | 46 |
| 2-6-2-2-2. Dosage des protéines totales  | 46 |
| 2-6-2-2-3. Activités des transaminases   | 47 |
| 2-6-2-2-4. Activité de la phosphatase alcaline   | 47 |
| 2-6-2-2-5. Activité de la Gamma-Glutamyl Transférase   | 48 |
| 2-6-2-2-6. Dosage de la Créatinine   | 48 |
| 2-6-2-2-7. Dosage du cholestérol total et HDL  | 49 |
| 2-7. Sacrifice et prélèvement du foie  | 50 |
| 2-7-1. Calcul du poids relatif du foie   | 50 |
| 2-7-2. Examen macroscopique  | 50 |
| 2-7-2-1. Couleur   | 50 |

|   |    |
|---|----|
| 2-7-2-2. Consistance  | 50 |
| 2-7-2-3. Texture  | 51 |
| 2-8. Analyse statistique  | 51 |
| TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION  | 52 |
| OBJECTIF 1 : DETERMINATION DE LA TENEUR DES DIFFERENTS<br>COMPOSES CHIMIQUES DU MEDICAMENT TRADITIONNEL AMELIORE  | 53 |
| 1-1. Introduction   | 53 |
| 1-2. Détermination de la composition phytochimique de l'extrait du MTA  | 53 |
| 1-3. Discussion partielle   | 55 |
| 1-4. Conclusion partielle   | 55 |
| OBJECTIF 2 : ETUDE DE LA TOXICITE DU MEDICAMENT TRADITIONNEL<br>AMELIORE (MTA)  | 56 |
| 2-1. Introduction   | 56 |
| 2-2. Evaluation de la toxicité aiguë du MTA   | 56 |
| 2-3. Effet du MTA sur les paramètres hématologiques   | 57 |
| 2-4. Effet du MTA sur les paramètres biochimiques   | 58 |
| 2-4-1. Effet du MTA sur les transaminases   | 58 |
| 2-4-2. Effet du MTA sur la créatinine   | 59 |
| 2-4-3. Effet du MTA sur les triglycérides   | 60 |
| 2-4-4. Effet du MTA sur le cholestérol total et HDL   | 60 |
| 2-5. Discussion partielle   | 61 |
| 2-6. Conclusion partielle   | 63 |
| OBJECTIF 3 : EFFETS PHARMACOLOGIQUES DU MEDICAMENT<br>TRADITIONNEL AMELIORE (MTA) SUR L'HEPATOTOXICITE INDUITE PAR<br>LE PARACETAMOL CHEZ LES RATS WISTAR | 64 |
| 3-1. Introduction   | 64 |
| 3-2. Effet du MTA sur la structure du foie des rats intoxiqués  | 64 |
| 3-2-1. Etats des poids relatifs des foies   | 64 |
| 3-4-2. Examen macroscopique du foie   | 64 |
| 3-3. Paramètres hématologiques de l'hépatotoxicité induite avec le paracétamol  | 65 |
| 3-4. Activité hépatoprotectrice du MTA après le traitement  | 66 |
| 3-5. Paramètres biochimiques de l'hépatotoxicité induite avec le paracétamol  | 66 |
| 3-5-1. Effet du MTA sur la concentration des protéines totales  | 66 |

|  |    |
|--|----|
| 3-5-2. Effet du MTA sur l'activité enzymatique des transaminases               | 67 |
| 3-5-3. Effet du MTA sur l'activité enzymatique de Phosphatases Alcalines (PAL) | 69 |
| 3-5-4. Effet du MTA sur l'activité enzymatique de Gamma Glutamyl Transférases  | 70 |
| 3-5-5. Effet du MTA sur la concentration des bilirubines                       | 71 |
| 3-6. Discussion partielle  | 73 |
| 3-7. Conclusion Partielle  | 76 |
| IV- Conclusion et Perspectives   | 77 |
| V- Références  | 79 |
| VI- Annexes  |    |

## **DEDICACE**

Je dédie ce travail à :

Mon père KONE Bakary

Tu m'as toujours montré que l'on peut braver les difficultés pour atteindre un objectif précis. Avec peu de moyens, tu as pu scolariser tous tes enfants que nous sommes. Merci de toujours m'encourager dans les études et d'avoir confiance en moi, et merci cher père de m'avoir inculqué le courage. Puisse ce travail te combler de joie et d'espoir. Je prie DIEU afin qu'il te donne la vie et la santé.

Ma mère TRAORE Alima

Qui sans cesse me soutient dans ma vie avec des bénédictions. Tu n'as cessé de m'encourager à la persévérance et au pardon. Maman, ton soutien infailible m'a permis d'arriver au bout de mes efforts. Ta tendresse et ton amour ont été pour moi un grand support. Toi qui as consenti d'énormes sacrifices pour mon épanouissement, reçois chère mère ma reconnaissance et ma profonde gratitude. Puisse cette thèse te combler également de joie et d'espoir. Tu es tellement importante que chaque jour que DIEU fait, je souhaiterais encore et encore te combler de joie. Ce travail est le tien.

Mes frères et sœurs

Vous m'avez soutenu durant les périodes difficiles en prière avec vos moyens matériels et moraux afin que je puisse avancer dans la vie. Tous mes remerciements pour votre soutien inlassable. Je vous aime.

Mon époux TRAORE Sibiry

Cet époux qui n'a jamais cessé de me soutenir sur tous les plans possibles sans exclusion.

Il a accepté toutes les situations où il fallait sortir très tôt, rentrer très tard, supporter mes humeurs, partager mes peines et travailler pratiquement toute la nuit. Merci infiniment pour avoir enduré cette situation. Tes conseils m'ont beaucoup aidé.

## AVANT-PROPOS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'Agrovalorisation de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) de l'UFR Agroforesterie de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa. Sous la direction du Professeur ACKAH Jacques Auguste Alfred Bognan, Maître de conférences. Il s'inscrit dans le programme de la valorisation de la pharmacopée ivoirienne pour aider au développement de produits nouveaux, fiables et à la portée de nos populations malades.

Le thème que nous abordons dans cette présente thèse met en évidence l'effet curatif de l'extrait aqueux d'un phytomédicament nommé Abraham sur des rats wistar rendus malades. L'étude a trait à l'évaluation du pouvoir anti-hépatique de *Terminalia catappa* et de *Combretum micranthum* de peuplement récent en Côte d'Ivoire et dont le pouvoir serait soupçonné en matière de traitement contre les affections hépatites.

## REMERCIEMENTS

Ma reconnaissance et mes remerciements vont à l'endroit de mes dirigeants et de tous mes Enseignants de l'Université Jean Lorougnon Guédé.

◆ A Madame ADOHI Adjo Viviane Epouse KROU, Professeur Titulaire de Physique Atomique, Présidente de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa pour les bonnes conditions de notre formation académique, les conseils, et tout le travail abattu au sein de l'Université ;

◆ A Monsieur SORO Dogniméton, Professeur Titulaire d'Agropédologie, Vice-Président de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa en charge de la Pédagogie, de la Vie Universitaire, de la Recherche et de l'Innovation Technologique, pour ses conseils et le travail qu'il abat au sein de l'Université ;

◆ A Monsieur KONE Issiaka, Professeur Titulaire de Sociologie des organisations, Vice-Président de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa en charge de la Planification, de la Programmation et des Relations Extérieures, pour son aide, ses enseignements, ses conseils et le travail qu'il abat au sein de l'Université ;

◆ A Madame TONESSIA Dolou Charlotte, Maître de Conférences de Phytopathologie, Directrice de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) Agroforesterie de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, pour tous les efforts consentis dans la bonne marche de l'UFR ;

◆ A Monsieur BEUGRE Grah Avit Maxwell, Professeur Titulaire de Biochimie et Nutrition, Directeur du Laboratoire d'Agrovalorisation pour avoir autorisé l'accès aux salles et au matériel lors des travaux dans le Laboratoire ;

◆ A Madame TRAORE OUATTARA Karidia, Professeur Titulaire de Biologie-Végétale, Enseignant-Chercheur à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE de Daloa. Très cher Maître, vous nous honorez en acceptant de présider ce jury malgré vos nombreuses occupations universitaires. Recevez nos remerciements, pour votre disponibilité sans limite dans la formation de la jeune génération, gage d'ardeur dans le travail bien fait ;

◆ A Monsieur ACKAH Jacques Auguste Alfred Bognan, Directeur Scientifique de cette thèse, Maître de Conférences de Biochimie, Responsable de la filière Biologie Santé de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, pour sa confiance en acceptant de diriger mes travaux de recherche et en me faisant bénéficier de son expérience, ses encouragements, ses soutiens

administratifs et académiques. Cher Maître, vous êtes celui qui m'a permis d'approfondir l'un des vastes domaines de la Science qui est la biochimie et la pharmacologie. Votre rigueur et méthodologie dans le travail, votre disponibilité dans l'encadrement ainsi que votre abnégation dans l'investigation scientifique m'ont servi de boussole dans la réalisation de cette thèse. Je vous remercie vivement de m'avoir accompagné tout au long de ce parcours, de m'avoir guidé et enseigné les réflexes d'un bon chercheur. Je vous remercie aussi de m'avoir montré l'exemple dans la préparation et la rédaction de mes travaux. Vos qualités scientifiques et humaines, votre écoute, votre patience, votre optimisme et votre extraordinaire force de travail font de vous un exemple dont j'espère pouvoir longtemps profiter. Merci papa ;

◆ A Monsieur KRA Adou Koffi Mathieu, Maître de Conférences de Biochimie Microbiologie, Enseignant-Chercheur à l'Université Felix HOUPHOUET-BOIGNY, Merci pour avoir instruit ce travail de thèse et pour ses critiques constructives qui ont permis de rehausser la qualité de cette thèse ;

◆ A Monsieur YAYE Yapi Guillaume, Maître de Conférences de Biochimie Microbiologie Enseignant-Chercheur à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE de Daloa. Merci pour avoir accepté d'examiner ce travail et pour votre sollicitude. Nous sommes particulièrement sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de faire partir de ce jury ;

◆ A Monsieur OUATTARA Karamoko, Professeur Titulaire de Biochimie Pharmacologie des Substances Naturelles, Vice-Président de l'Université Polytechnique de San-Pedro en charge de la Planification, de la Programmation et des Relations Extérieures, c'est avec plaisir et spontanéité que vous avez accepté de siéger dans notre jury de thèse. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde admiration et nos sincères remerciements papa ;

◆ Mes profonds remerciements vont également à l'endroit du professeur SALAMI Kassanayou, professeur honoraire d'anatomie de l'université Nangui Abrogoua pour son aide, son encouragement, son précieux conseil, sa confiance en moi ;

◆ Monsieur Yvan ZUNON-KIPRE, Professeur Titulaire d'Anatomie à l'Université Nangui Abrogoua. Je profite de l'occasion, pour exprimer mon profond respect et mon immense gratitude. Aussi, voudrais-je remercier sincèrement pour son aide quant à la réalisation de mes travaux ;

◆ Monsieur KONE Moussa, Maître de Conférences de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, vos conseils et vos encouragements nous ont permis de surmonter les difficultés

rencontrées au cours de la réalisation de ce travail. Merci infiniment Docteur, que l'ÉTERNEL DIEU vous bénisse ;

◆ Monsieur OUATTARA Abou, Maître de Conférences de Biochimie-Microbiologie à l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, vos conseils et vos encouragements nous ont permis de surmonter les difficultés rencontrées au cours de la réalisation de ce travail. Merci infiniment Docteur, que l'ÉTERNEL DIEU vous bénisse ;

◆ A Monsieur OKOU Obou Constantin, Maître de Conférences de Biochimie et Pharmacologie des Substances Naturelles, je profite de l'occasion, pour lui exprimer mon profond respect et mon immense gratitude. Aussi, voudrais-je le remercier sincèrement pour son aide quant à la réalisation de mes travaux ;

◆ Docteur KPAHE Ziehi Fidèle, Maître de Conférences de Physiologie animale au Laboratoire de Biodiversité et Écologie Tropicale à l'Université Jean Lorougnon GUEDE merci pour vos conseils, votre disponibilité, votre compréhension et surtout votre courtoisie ;

◆ Docteur Kassim DOSSO, Maître-Assistant de Physiologie animale et pharmacologie à l'UFR Environnement de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, merci pour vos conseils, votre disponibilité, votre compréhension et surtout votre courtoisie. J'ai été ravi et honoré d'apprendre encore avec vous ;

◆ A tous les Enseignants-Chercheurs du parcours Biologie Santé, vous nous avez transmis vos savoirs avec plein de dévotion. Merci pour toutes ces connaissances acquises par votre canal ;

◆ A Docteur GNAGNE Arthur Stéphane, ethno pharmacologue gérant de l'Unité de Fabrication et de Commercialisation de Phytomédicament DJEKA PHARMACO, pour m'avoir accueilli au sein de sa structure, merci à vous cher Docteur pour la formation et le soutien financier ;

◆ A tous les employés de la structure l'Unité de Fabrication et de Commercialisation de Phytomédicament DJEKA PHARMACO, vous êtes comme une famille pour moi. Je vous suis infiniment reconnaissant pour tout le soutien ;

◆ A Monsieur ZAMBLE Bi Dubi Modeste, pour son sacrifice et son aide dans la réalisation pratique de cette thèse ; vous nous avez fait partager vos connaissances en Physiologie Animale, phytothérapie et pharmacologie. Merci pour votre grande disponibilité et votre large contribution pour la réalisation de ce travail ;

## LISTE DES ABREVIATIONS ET SIGLES

|                      |   |
|----------------------|---|
| AINS                 | : Anti-inflammatoires non stéroïdiens                       |
| ADN                  | : Acide désoxyribonucléique                                 |
| AE                   | : Activité enzymatique                                      |
| AgHBc                | : Antigène de capsidite ou de core du virus de l'hépatite B |
| AgHBe                | : Forme soluble de l'AgHBc                                  |
| AgHBs                | : Antigène de surface du virus de l'hépatite B              |
| ALAT                 | : Alanine aminotransférase                                  |
| ARN                  | : Acide Ribonucléique                                       |
| ASAT                 | : Aspartate aminotransférase                                |
| CCl <sub>4</sub>     | : Tétrachlorure de carbone ou tétrachlorométhane            |
| CCl <sub>3</sub>     | : Trichlorométhyle  |
| CCl <sub>3</sub> COO | : Trichloroperoxyéthyle                                     |
| CCMH                 | : Concentration Corpusculaire Moyen en Hémoglobine          |
| CCM                  | : Chromatographie sur couche mince                          |
| CHC                  | : Carcinome Hépatocellulaire                                |
| Da                   | : Dalton  |
| DL <sub>50</sub>     | : Dose létale 50  |
| DEA                  | : Diéthanolamine  |
| EDTA                 | : Acide éthylène diamine tétra acétique                     |
| EMTA                 | : Extrait du Médicament Traditionnel Amélioré               |
| ESM                  | : Erreur Standard sur la Moyenne                            |
| FeCl <sub>3</sub>    | : Trichlorure de fer  |
| Hb                   | : Hémoglobine   |
| HDL                  | : Lipoprotéines de haute densité                            |
| HCl                  | : Acide Chlorhydrique                                       |
| HHDP                 | : Acide Hexahydroxydiphénique                               |
| Ht                   | : Hématocrite   |
| IgG                  | : Immuno Globulines G                                       |
| IgM                  | : Immuno Globulines M                                       |
| IFCC                 | : International Federation of Clinical Chemistry            |
| Kg                   | : Kilogramme  |
| LDH                  | : Lactate Déshydrogénase                                    |

|              |  |
|--------------|--|
| LDL          | : Lipoprotéines de basse densité                             |
| mg/dL        | : Milligramme par décilitre                                  |
| mg/L         | : Milligramme par litre                                      |
| mmol/L       | : Millimole par litre  |
| mol/L        | : Mole par litre   |
| MTA          | : Médicament Traditionnel Amélioré                           |
| NaCl         | : Chlorure de Sodium   |
| NAC          | : N-acétylcystéine   |
| NAD          | : Nicotinamide Adénine Dinucléotide                          |
| NADH         | : Hydrure de Nicotinamide Adénine Dinucléotide               |
| OCDE         | : Organisation de la Coopération de Développement Economique |
| OH           | : Hydroxyde  |
| OMS          | : Organisation Mondiale de la Santé                          |
| pH           | : Potentiel d'hydrogène                                      |
| PT           | : Protéine totale  |
| PR           | : Poids relatif,   |
| PF           | : Poids du foie,   |
| PA           | : Poids de l'animal  |
| PC           | : Poids Corporel   |
| PAL          | : Phosphatase Alcaline                                       |
| SGH          | : Système de classification Globalement Humanisé             |
| TGP          | : Transaminase Glutamo-Oxaloacétique                         |
| TGP          | : Transaminase Glutamo-pyruvique                             |
| TCMH         | : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine                |
| UFR          | : Unité de Formation et de Recherche                         |
| UJLoG        | : Université Jean Lorougnon Guédé                            |
| UV           | : Ultra-Violet   |
| VGM          | : Volume Globulaire Moyenne                                  |
| VHA          | : Virus de l'Hépatite A                                      |
| VHB          | : Virus de l'Hépatite B                                      |
| VHC          | : Virus de l'Hépatite C                                      |
| VHD          | : Virus de l'hépatite D                                      |
| VHE          | : Virus de l'Hépatite E                                      |
| $\gamma$ -GT | : Gamma-Glutamyl Transférase                                 |

% : Pourcentage  
μL : Microlitre

## LISTE DES TABLEAUX

|   | Pages |
|---|-------|
| Tableau I : Evolution sérologique des marqueurs du VHA au cours d'hépatite A                                  | 23    |
| Tableau II : Sérologie de l'hépatite B  | 26    |
| Tableau III : Récapitulatif de l'identification des métabolites secondaires sur plaque CCM                    | 41    |
| Tableau IV : Signes cliniques de toxicité aiguë enregistrés après administration du MTA                       | 56    |
| Tableau V : Mortalité des rates en fonction de la dose de l'extrait aqueux du MTA administrée par voie orale  | 57    |
| Tableau VI : Valeurs des paramètres hématologiques des rats après l'administration de l'extrait aqueux du MTA | 58    |
| Tableau VII : Poids relatif des foies   | 72    |
| Tableau VIII : Paramètres hématologiques des rats avant l'induction hépatique et après traitement             | 73    |

## LISTE DE FIGURE

|  | Pages |
|--|-------|
| Figure 1 : <i>Terminalia catappa</i>   | 8     |
| Figure 2 : Feuilles et Fruits de <i>Terminalia catappa</i>   | 8     |
| Figure 3 : <i>Combretum micranthum</i>   | 10    |
| Figure 4 : Anatomie et physiologie du foie   | 18    |
| Figure 5 : Structure d'un lobule hépatique   | 19    |
| Figure 6 : Cirrhose atropho-hypertrophique mixte   | 31    |
| Figure 7 : Médicament Traditionnel Amélioré (ABRAHAM)  | 36    |
| Figure 8 : Rat albinos blanc ( <i>Rattus norvegicus</i> ) de souche Wistar   | 37    |
| Figure 9 : Caractérisation Phytochimique du MTA (colorimétrique)   | 54    |
| Figure 10 : Caractérisation Phytochimique du MTA (CCM)   | 54    |
| Figure 11 : Variation l'activité des Transaminases   | 59    |
| Figure 12 : Variation de l'activité en créatinine  | 59    |
| Figure 13 : Variation de l'activité de triglycérides   | 60    |
| Figure 14 : Variation des teneurs des cholestérols   | 61    |
| Figure 15 : Variation des protéines totales après traitement des rats intoxiqués avec le MTA et N-Acétylcystéine                                     | 65    |
| Figure 16 : Variation de l'activité de ASAT après traitement des rats intoxiqués avec le MTA et N Acétylcystéine                                     | 67    |
| Figure 17 : Variation de l'activité de ALAT après traitement des rats intoxiqués avec le MTA et N-Acétylcystéine                                     | 67    |
| Figure 18 : Variation de l'activité de la Phosphatase Alcaline après traitement des rats intoxiqués avec le MTA et N-Acétylcystéine                  | 68    |
| Figure 19 : Variation de l'activité de Gamma glutamyl après traitement des rats intoxiqués avec le MTA et N-Acétylcystéine                           | 69    |
| Figure 20 : Variation des concentrations de la Bilirubine Totale après traitement des rats intoxiqués avec le MTA et N-Acétylcystéine                | 71    |
| Figure 21 : Variation des concentrations de la Bilirubine conjuguée après traitement des rats intoxiqués avec le phytomédicament et N-Acétylcystéine | 71    |
| Figure 22 : Photographies des foies  | 72    |

# **INTRODUCTION**

Partout dans le monde, l'intérêt pour la médecine traditionnelle s'accroît constamment. En Afrique, cette pratique nécessite toujours des améliorations considérables, comparativement à celle de l'Inde ou de la Chine. A cela, s'ajoute la dette grandissante des nations africaines et l'augmentation du coût des soins de santé modernes qui rendent les soins de santé traditionnels de plus en plus important. Ainsi plus de 80% de la population africaine vivant dans les zones rurales s'adonne à cette médecine traditionnelle. Ces populations, ainsi que ceux des zones urbaines et même des pays industrialisés, se tournent de plus en plus vers la nature pour les soins de santé (Lucienne, 2007). En effet, les plantes médicinales constituent un héritage naturel pour l'humanité en matière de soins. Ces usines chimiques naturelles sont responsables de la production de substances à activités biochimiques et pharmacologiques, parmi lesquelles figurent des composés dotés de propriétés antioxydantes (Bravo, 1998 ; Pandey & Rizvi, 2009), anti-inflammatoires (González *et al.*, 2011), antimicrobiennes (Daglia, 2012), antivirales (Meerbach *et al.*, 2001; Chávez *et al.*, 2006 ). Et ces composés sont utilisés pour répondre aux besoins essentiels de la population en général. (Schauenberg *et al.*, 1997). A ce jour, plus de 10000 espèces de plantes différentes sont utilisées à des fins thérapeutiques (Lucienne, 2007). Elles sont utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques, c'est le cas de celles traitant de l'hépatite.

Le foie un organe clé du corps humain effectue diverses activités métaboliques nécessaires à la nutrition et à l'homéostasie. C'est là où a lieu diverses réactions dont celles de la détoxification et de l'épuration des substances exogènes et endogènes. Cet organe constitue en même temps une cible primaire pour les produits potentiellement toxiques, les polluants environnementaux et certains agents pathogènes. Cette exposition à ces agents, couplée à leur biotransformation est associée à la production de radicaux libres hautement réactifs qui peuvent causer des dommages oxydatifs cellulaires et conduire à une altération des fonctions hépatiques essentielles (Wolf, 1999 ; Jaeschke *et al.*, 2002).

Par ailleurs les données médicales relatives à la prévalence et au développement des pathologies hépatiques indiquent une fréquence élevée des pathologies du foie et constituent actuellement un véritable problème de santé publique à l'échelon mondial. En effet, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), près de 500 millions de personnes dans le monde vivent avec une hépatite chronique et environ un million en meurent chaque année (Anonyme 1, 2009). En 2020, par exemple la région africaine représentait 26 % des cas mondiaux de morbidité due aux hépatites B et C, avec 125000 décès associés (OMS, 2022). L'hépatite est contractée par 5 à 10 % de la population africaine (OMS, 2016 ; Anzouan-Kacou *et al.*, 2022).

En Côte d'Ivoire, les données sont aussi alarmantes. Il ressort qu'environ 2 millions de personnes soit 8 à 10 % de la population sont atteintes de l'hépatite virale et sont sujettes à une cirrhose et à un cancer du foie (Enel *et al.*, 2014). Celle de l'hépatite C est de 3,3 % dans la population générale (Lemoine *et al.*, 2013 ; Anzouan-Kacou *et al.*, 2022). Et selon Enel *et al.* (2014), la prévalence de l'hépatite B est de 12% en Côte d'Ivoire. Malgré ces chiffres alarmants, la prise en charge des hépatites B et C demeurent très limitée (Séri, 2013).

Ces différents types d'hépatite ont sensiblement le même impact sur le foie car on détecte les mêmes anticorps lors de leurs manifestations (Chiba *et al.*, 2022). Pour faire face à ces pathologies, un certain nombre de médicaments dont l'Interféron alpha, l'Epomédiol, le Mucorex ou Citolone, la Ribavirine etc. sont fournis par la médecine conventionnelle. A l'instar de plusieurs autres médicaments dits modernes utilisés dans le traitement des maladies du foie, ces produits ont des effets secondaires. En outre le traitement de l'hépatite impose des séjours longs d'hospitalisation onéreux et les résultats escomptés sont souvent insatisfaisants (Calzada *et al.*, 2007)

Eu égard à la gravité des pathologies du foie, la recherche de nouvelles molécules actives en raison des difficultés rencontrées, tels que, les résistances primaires et secondaires ou la toxicité. Afin de faire face à cette préoccupation majeure, certains chercheurs se sont penchés sur cette question. Etant donné les vertus médicinales des plantes de la pharmacopée dont on compte 50000 espèces avec des propriétés médicinales confirmées selon Adjanohoun (1990). Par ailleurs il est possible que ces plantes puissent être utilisées comme de nouvelles têtes de séries de médicaments, ce qui pourrait permettre de créer un nouvel « arsenal » thérapeutique, plus efficace et à moindre coût. C'est dans cette optique, que notre Laboratoire d'Agrovalorisation a adopté une approche qui consiste à étudier les plantes de la pharmacopée ivoirienne pour repérer celles qui pourraient être à l'origine de nouveaux traitements de l'hépatiques. Pour y parvenir nombreuses enquêtes ethnobotaniques en 2019 qui a abouti à la sélection de nombreuses plantes parmi lesquelles, on compte des espèces à activités.

Ce travail s'inscrit dans le cadre général de la valorisation des plantes médicinales en Côte d'Ivoire par l'évaluation de l'activité hépatoprotectrice d'un Médicament Traditionnel Amélioré (MTA) produit par un tradipraticien.

Dans la présente étude, il s'agit plus spécifiquement de :

- Déterminer la teneur des différents composés chimiques du Médicament Traditionnel Amélioré (MTA) ;
- Etudier la toxicité de ce produit ;
- Evaluer son effet pharmacologique sur l'hépatotoxicité induite chez les rats wistar ;

Le présent document qui présente l'essentiel de nos activités, est articulé comme suit :

- Une première partie consacrée à une revue bibliographique des deux plantes *Terminalia catappa* et *Combretum micranthum* utilisées comme élément majeur dans le MTA ainsi que la recherche sur le foie ;
- Une deuxième partie présentant le matériel et les méthodes utilisés dans ce travail, les résultats obtenus, les discussions qu'ils suscitent, une conclusion et des perspectives.

**PREMIERE PARTIE :**  
**GENERALITES**

## 1- PRESENTATION DE LA PLANTE

### 1-1. *Terminalia catappa*

#### 1-1-1. Nom vernaculaire est le Côcôman

#### 1-1-2. Position systématique

Selon les travaux de Aké-Assi (2002), la position systématique de *Terminalia catappa* est :

|                    |                                    |
|--------------------|------------------------------------|
| Règne              | : Végétal                          |
| Sous règne         | : Tracheobionta                    |
| Embranchement      | : Spermaphyte                      |
| Sous embranchement | : Angiosperme                      |
| Classe             | : Dicotylédones : Dialypétales     |
| Sous-classe        | : Magnoliopsida ( <i>Rosidae</i> ) |
| Ordre              | : Myrtale                          |
| Famille            | : Combretaceae                     |
| Genre              | : <i>Terminalia</i>                |
| Espèce             | : <i>Terminalia catappa</i>        |

#### 1-1-3. Description de la plante

*Terminalia catappa* est un arbre de 5 à 25 mètres de hauteur à rameaux prolongés, à des feuilles épaisses (figure 2). Toutes les feuilles entières, sont obovales ou cuspidées au sommet, mesurant jusqu'à 30 cm de long et 16 cm de largeur. Les feuilles deviennent rouge pourpre à l'âge adulte et virent au jaune à la sénescence (Adjanooun & Aké-Assi, 1979 ; Aké-Assi & Guinko, 1991).

#### 1-1-4. Répartition géographique de *Terminalia catappa*

*Terminalia catappa* se trouve dans les régions tropicales. Elle provient du monde antique (Asie du Sud- Est). C'est en 1767 que le botaniste français d'origine Ecossaise MICHEL Adanson l'a décrite pour la première fois. Cette plante est appelée Côcôma en Côte d'Ivoire, Badamier en Europe, M'handaya aux Comores, et Amandier des indes en Inde. Elle est présente en Côte d'Ivoire principalement sur la côte. Selon (Adjanooun & Ake Assi, 1979 ; Ake Assi & Guinko, 1991), elle est principalement employée pour l'ornementation

### 1-1-5. Utilisation des plantes en pratique médicale traditionnelle

Dans la médecine traditionnelle, cette plante est considérée comme ayant des propriétés antibiotiques, antiparasitaires, anti infectieux, antihypertensives et antidiabétiques (Burkill, 1997). La partie de la plante qui est la plus employée sont les feuilles. Par conséquent dans l'île de la Réunion, l'infusion des feuilles vieilles soigne la dysenterie et l'hypertension. Tandis que la décoction des feuilles soigne l'asthme. A l'île Maurice, on utilise le décocté des feuilles pour traiter le diabète et celui de l'écorce pour le traitement de la diarrhée (Adjanohoun *et al.*, 1983). Les feuilles et l'écorce sont utilisées en Côte d'Ivoire et au Congo Brazzaville, pour le traitement du diabète et de l'hypertension artérielle (Diafouka & Lejoly, 1993 ; Ahoussou *et al.*, 1995). Au Nigeria, les amygdalites sont traitées par le macéré des feuilles dans l'huile de palme selon (Amennoudji & Ake, 1990).

### 1-1-6. Pharmacologie et composition phytochimique de *Terminalia catappa*

En 1999, Ta-Chen *et al.*, ont découvert dans des feuilles de *Terminalia catappa*, 19 molécules dont des tanins et composés similaires. Ils comprennent : l'acide gallique, l'acide ellagique, le 2,3-(S) -HHDP-D-glucose, la punicalagine, la corilagine, la tercatatine, la casuarinine, la castalagine, la grandinine, la castaline, le 3-methoxy-4-hydroxyphenol-1-O-D-(6-O-galloyl)-glucoside, le 3,5-dimethoxy-4-hydroxyphenol-1-O-D-(6-O-galloyl)-glucoside , epicatechine-3-O gallate, epigallocatechine-3-O-gallate, procyanidine B-1, procyanidine 3-O-galloyl B-2, acutissimine A, eugénigrandine A et catappanine A. La cyanidine 3-glucoside, la corilagine, un inhibiteur de la topoisomérase I et II (Hecht *et al.*, 1992 ; Kashiwada *et al.*, 1993) et la xanthine oxydase (Hatano *et al.*, 1990), sont présentes dans les fruits. Plusieurs activités pharmacologiques de *Terminalia catappa* sont menées selon Masuda *et al.*, (1999), les feuilles de la plante possèdent une activité anti-cancérogène. Elles interagissent aussi avec la transcriptase inverse. L'acide ellagique est responsable de cela (Masuda *et al.*, 1999). Selon Shimizu *et al.*, (1989), Dorsh & Wagner (1991), Pawar *et al.*, (1997), Rathnasooriya & Dhamasiri (2000), elle possède également une action anti-inflammatoire, antiasthmatique, anticataracte, aphrodisiaque et anti-hépatite.

Dans leur étude de 2003, Fan et ses collaborateurs ont identifié l'acide ursolique et l'acide 2 $\alpha$ , 3 $\beta$ , 23-trihydroxyurs-12-en-28-oïque, qui jouent un rôle dans l'activité anti-inflammatoire des feuilles de *Terminalia catappa*.

Les recherches menées par Nagappa *et al.*, (2003), Syed *et al.*, (2005) ont démontré que les extraits aqueux, méthanoïques et éthers de pétrole provenant des feuilles et des fruits de la plante ont une action antidiabétique. Effectivement, ces auteurs ont provoqué un diabète

expérimental chez des animaux. Leurs travaux ont prouvé que ces divers extraits contribuent à l'amélioration du poids corporel, le profil des lipides et régénèrent les cellules  $\beta$  du pancréas.



**Figure 1 :** *Terminalia catappa*



**Figure 2 :** Feuilles et Fruits de *Terminalia catappa*

## 1-2. *Combretum micranthum*

### 1-2-1. Nom vernaculaire : kinkéliba

### 1-2-2. Position Systématique

Selon les travaux de (Stuessy, 2009), la position systématique de *Combretum micranthum*

|             |                               |
|-------------|-------------------------------|
| Règne       | : Végétale                    |
| Sous règne  | : Tracheobionta               |
| Division    | : Magnoliophyta               |
| Classe      | : Magnoliopsida               |
| Sous-classe | : Rosidae                     |
| Ordre       | : Myrtales                    |
| Famille     | : Combretaceae                |
| Genre       | : <i>Combretum</i>            |
| Espèce      | : <i>Combretum micranthum</i> |

### 1-2-3. Description botanique

Le kinkéliba prend la forme d'un arbrisseau touffu pouvant atteindre 4 ou 5 mètres, quelquefois réuni en buisson, dont l'extrémité des branches est volubile. Les feuilles (Figure 3) peu pétiolées, d'un vert sombre, largement ovales, pointues à l'extrémité, sont entières et dures.

Les Fleurs sont de petites tailles, blanches en épis. Le fruit est un samare à quatre ailes membraneuses de 1,5 cm de long sur 1,5 cm de large (Fleurentin, 2013).

#### **1-2-4. Distribution géographique**

*Combretum micranthum* est une plante répandue dans les régions soudano-sahéliennes d'Afrique Occidentale. Les pays concernés sont : Sénégal, Sierra-Leone, Guinée, Mali, Mauritanie, Gambie, Niger, Côte-d'Ivoire, Ghana, Nigeria, Bénin. (Berhaut, 1997).

#### **1-2-5. Utilisation en Médecine Traditionnelle**

Kinkéliba est utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés cholagogues et diurétiques. Répandue en Afrique de l'Ouest, elle est utilisée en infusion pour traiter la constipation, stimuler la fonction biliaire et favoriser l'élimination des toxines. Elle possède également une efficacité en tant qu'anti-inflammatoire et antibactérien, ainsi que dans la préservation des cellules du foie. La consommation de kinkéliba favorise la contraction des muscles intestinaux, ce qui favorise la digestion. On le reconnaît aussi comme un antipaludéen dans les régions d'Afrique occidentale. Elle présente une activité anti-inflammatoire et antimicrobienne contre certains micro-organismes, et stimule le foie et la bile grâce à son effet cholagogue et diurétique selon (Fleurentin, 2013).

#### **1-2-6. Activités biologiques et pharmacologiques**

*Combretum micranthum* possède de nombreuses activités pharmacologiques : Antiblénorrhagique, antientéralgique, antirhumatismale, antitussive cholagogue, diurétique, émétique, fébrifuge, tonique, vermifuge et vulnéraire et antibiotique (Fortin *et al.*, 2000). Une enquête sur l'activité phytochimique et biologique de *Combretum micranthum* a révélé la présence de nombreux composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les alcaloïdes ayant de nombreuses activités biologiques (Kpemissi *et al.*, 2019)



**Figure 3 :** *Combretum micranthum*

### 1-3. Composés chimiques des plantes

Les métabolites primaires et les métabolites secondaires sont distincts dans le métabolisme végétal. Les métabolites primaires jouent un rôle essentiel dans la croissance, le développement, la reproduction et l'assimilation des nutriments qui sont présents dans la plante. Les métabolites secondaires, eux, ont différentes fonctions, telles que la protection de la plante ou l'attraction de certaines espèces pollinisatrices. La communication entre les plantes est également facilitée par ces outils (Kanyonga *et al.*, 2010). Il existe quatre grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux : les alcaloïdes, les composés phénoliques, les terpénoïdes et stéroïdes.

#### 1-3-1. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques naturels, principalement issus des plantes fleurissantes, qui renferment au moins un atome d'azote dans leur composition chimique, avec un caractère basique variable. Les alcaloïdes sont présents dans les parties florales, les fruits ou les graines de nombreuses plantes. On retrouve ces substances en concentration dans les vacuoles (Krief, 2003). Selon Jean (2009), une étude sur la localisation et la répartition des alcaloïdes révèle qu'ils sont rarement présents en état libre dans la plante. Ils peuvent être présents sous forme de glycosides ou de sels d'acide citrique, malique, tartrique ou combinés avec les tanins.

##### 1-3-1-1. Fonction des alcaloïdes

Selon Aniszewski (2015), les alcaloïdes participent au processus d'adaptation d'un organisme au milieu de vie. Les alcaloïdes ont un effet de poison ou de répulsion sur les prédateurs, les parasites et les concurrents. Les alcaloïdes végétaux sont présents en tant que

composés défensifs contre les invertébrés et les vertébrés herbivores, mais seulement quelques-uns sont impliqués dans les interactions entre les plantes (Hage, 2013). Ces éléments jouent également un rôle essentiel dans la résistance aux contraintes biologiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (UV, température, etc.), contribuent également à attirer les pollinisateurs et contribuent aux réponses allélopathiques (Devkota & Sewald, 2013).

Selon Badiaga (2011), l'emploi des alcaloïdes comme "remèdes" a donné des résultats prometteurs dans le traitement de certaines pathologies aiguës telles que le cancer, l'hypertension, le diabète et l'hépatite, tant en médecine traditionnelle qu'actualisée. Si de nombreux d'entre eux sont toxiques (strychnine, aconitine), certains sont utilisés en médecine pour leurs propriétés antioxydantes (pipérine, caféine), antibactériennes (berbérine), antifongiques (spartatéine), anti-inflammatoires (colchicine), anticancéreuses (pipérine), analgésiques (morphine, codéine), dans le cadre de protocoles de sédation (anesthésie, atropine) souvent accompagnés d'hypnotiques, ou comme antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine) (Zenk & Jueng, 2007).

### **1-3-1-2. Toxicité**

Les alcaloïdes sont l'une des substances les plus dangereuses connues dans la nature. Il n'y a pas de toxicité dans ces substances lorsqu'elles sont conservées. Les effets néfastes qu'elles peuvent avoir sur le métabolisme de l'Homme, de l'animal, du végétal et des insectes sont très importants (Kar, 2007). La consommation d'alcaloïdes peut être causée par une exposition respiratoire, cutanée, digestive ou circulatoire. Il est évident que la quantité de nourriture consommée et la sensibilité de l'animal visé sont des éléments qui ont un impact direct sur cette condition. La cycloamine (alcaloïde stéroïdien) est un alcaloïde très nocif pour les mammifères, avec des effets tératogènes chez les agneaux. Cela entraîne des malformations congénitales du craniofacial qui entraînent un aspect cyclope (Matsura & Fett-Netto, 2015). Selon Hotti & Rischer (2017), la conicine présente des risques de toxicité chez les êtres humains et animaux. Il est un inhibiteur de l'influx nerveux en antagoniste des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine. Chez les mammifères, elle entraîne également la mort par suffocation. Socrate fut la victime la plus connue de la Conicine. De nombreuses espèces animales (bovins, caprins, ovins, chevaux, chiens, porcins et oiseaux) et l'Homme sont sujettes à l'intoxication à l'ergot depuis longtemps. Ses manifestations peuvent être nerveuses chez les carnivores, les chevaux et les ovins ou gangréneuses, plus courantes chez les bovins, et se traduire par des nécroses ou des troubles de la reproduction, notamment chez les mammifères herbivores (bovins, ovins) et les porcins (Cornière, 2014).

### 1-3-2. Terpénoïdes et leurs fonctions

Le terme "terpénoïdes" fait référence à une catégorie de composés de plusieurs unités structurales d'isoprène. En fonction du nombre d'unités d'isoprène, on les a principalement classées en monoterpène (C10), sesquiterpène (C15), diterpène (C20), triterpène (C30), tétraterpène (C40) et polyterpène (C > 40), etc. (Liao *et al.*, 2016). Ils constituent une catégorie d'hydrocarbures, fabriqués par diverses plantes, notamment les conifères. Il s'agit de composants courants des cellules végétales, qui peuvent participer aux fonctions métaboliques fondamentales. Entre autres, ils sont responsables de l'odeur des végétaux, qui est causée par la libération de molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbone.

Ces substances, extraites du végétal, sont utilisées comme condiments (girofle) ou comme parfums (rose, lavande). De nombreux parmi eux ont des propriétés antiseptiques, ce qui explique leur nombreux usage, y compris l'embaumement qui est resté dans le nom de balsamique donné aux plantes et aux huiles qui en sont extraites (Klaas *et al.*, 2002). Au cours des dernières années, avec l'approfondissement de la étude des terpénoïdes (notamment des terpénoïdes des plantes médicinales), il a été observé que ces composés jouent un rôle de plus en plus important dans le domaine médical et ont différentes activités biologiques : antitumorales, anti-inflammatoires, antibactériennes, antivirales, antipaludéennes, favorisant l'absorption transdermique, prévention et traitement des maladies cardiovasculaires, diminution de la glycémie et d'autres effets. En outre, certains terpénoïdes possèdent aussi des propriétés insecticides, immunomodulateurs, antioxydants, anti-âge et neuroprotecteurs ; les terpénoïdes paclitaxel et artémisinine ont été largement employés dans le domaine médical. Ainsi, l'étude de l'activité biologique des terpénoïdes jouera un rôle essentiel dans la sélection de médicaments et l'amélioration des méthodes de traitement, tout en fournissant une base théorique pour le développement de nouveaux médicaments, qui suscite une grande attention de la part des chercheurs (Liao *et al.*, 2016).

Certains terpénoïdes ont un impact significatif sur la croissance et le développement des plantes, tels que la gibbérelline, car les hormones végétales régulent le développement des plantes et les caroténoïdes participent à la photosynthèse. D'autres jouent un rôle dans l'interaction entre les plantes et l'environnement, tels que la participation aux systèmes de défense des plantes sous la forme de phytoalexines et la compétition entre les différentes espèces en tant que composés de détection interspécifiques (Arimura *et al.*, 2000). Le menthol et l'alcool périllylique, parmi d'autres terpénoïdes volatils, sont des matières premières utilisées dans les épices, les arômes

et les cosmétiques (Martin *et al.*, 2003). Il y a aussi des terpénoïdes qui ont une grande valeur économique.

### 1-3-3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont une vaste famille de composés naturels polyphénoliques. Le nombre de flavonoïdes est estimé à près de 6500, répartis en 12 classes (Stöckigt *et al.*, 2002) et il continue de croître. Les flavonoïdes constituent un groupe de métabolites secondaires très communs dans le monde végétal. Il s'agit de pigments presque universels des plantes qui sont en partie responsables de la couleur des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils ne se trouvent cependant pas seulement dans les fleurs, les feuilles et les fruits, mais dans toutes les parties des plantes. Ils se trouvent dissous dans la vacuole des cellules en tant qu'hétérosides ou en tant que composants de plastes spécifiques appelés chromoplastes.

Selon Havsteen (2002), ils se retrouvent dans les légumes, les boissons comme le vin rouge, le thé, le café, la bière et dans diverses plantes médicinales.

#### 1-3-3-1. Fonction des Flavonoïdes

Les flavonoïdes ont un rôle crucial dans les relations avec les insectes (attraction et participation à la pollinisation entomophile et à la dispersion des graines). Ils jouent un rôle dans les interactions entre les plantes et les microorganismes : aux niveaux des pathogènes comme des symbioses (nodules des légumineuses). Ils interviennent dans les mécanismes de protection des cellules végétales face à certains stress, comme les radiations ultraviolettes. Il s'agit aussi d'inhibiteurs d'enzymes, d'agents chélatants des métaux agressifs pour les plantes. Ils jouent également un rôle essentiel dans la photosensibilisation et les échanges d'énergie, la morphogénèse et la détermination sexuelle, ainsi que la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes (Pietta, 2001).

Selon Lee *et al.* (2009), les flavonoïdes présentent différents effets biochimiques et antioxydants bénéfiques liés à différentes maladies telles que le cancer, la maladie d'Alzheimer (MA), l'athérosclérose, etc. La consommation d'herbes et de boissons riches en flavonoïdes améliore la santé des vaisseaux sanguins, ce qui diminue le risque de maladies. Selon Brüll *et al.*, (2015), leur consommation a été liée à une amélioration de la fonction endothéliale en activant la synthèse de l'oxyde nitrique endothélial vasculaire et la protéine kinase B. Les flavonoïdes ont démontré leur efficacité remarquable dans la prévention de la peroxydation des lipides. Cependant, la peroxydation des lipides est responsable de différentes affections

comme l'athérosclérose, le diabète, l'hépatotoxicité et l'inflammation, ainsi que le processus de vieillissement (Hu *et al.*, 2009).

### 1-3-3-2. Toxicité des Flavonoïdes

Les supposées propriétés toxiques ou même mutagènes de la quercétine suscitent de nombreux débats. Les chercheurs Formica & Regelson (1995) ont fourni une vue d'ensemble intéressante des recherches *in vitro* et *in vivo* sur la quercétine. La plupart des informations sur les effets secondaires toxiques sont issues d'études *in vitro*. La cancérogénicité n'a été rapportée que dans 1 des 17 études d'alimentation menées sur des animaux de laboratoire lors d'une conférence de la Fédération des sociétés américaines de biologie expérimentale en 1984 sur les flavonoïdes alimentaires mutagènes (Starvic, 2008). Selon Dunnick & Hailey (1992), il a été rapporté que des quantités élevées de quercétine sur une période prolongée pourraient provoquer la formation de tumeurs chez les souris. Toutefois, d'autres recherches à long terme n'ont révélé aucune incidence de cancer (Zhu *et al.*, 2001). Contrairement aux études précédentes qui ont montré des effets mutagènes potentiels des flavonoïdes, plusieurs rapports récents montrent que les flavonoïdes, dont la quercétine, semblent être antimutagènes *in vivo* (Kato *et al.*, 1984). L'étude clinique de Knekt *et al.*, (1997), qui a porté sur hommes et femmes pendant 24 ans, a révélé une corrélation inverse entre l'administration de flavonoïdes (quercétine par exemple) et le cancer du poumon. Les données contradictoires peuvent être expliquées par le fait que les flavonoïdes sont toxiques pour les cellules cancéreuses ou les cellules immortalisées, mais ne sont pas toxiques ou moins toxiques pour les cellules normales. S'il en est ainsi, les flavonoïdes pourraient avoir un impact sur la prévention du cancer, ce qui nécessite une étude plus large.

### 1-3-4. Tanins

Le mot tanin provient de la capacité de la peau animale à se tanner en la transformant en cuir grâce à ce composé. Selon Jean-Blain (2000), les tanins sont des composés phénoliques naturels qui sont des métabolites secondaires des plantes supérieures. Ils sont hydrosolubles et ont une masse moléculaire estimée entre 500 et 3000 Da. Ils ont la capacité de former des complexes stables avec d'autres macromolécules, notamment les protéines. Ils se rencontrent dans toutes les plantes, notamment dans certaines familles telles que les légumineuses (Fabaceae). Certaines espèces fourragères tempérées sont présentes parmi elles, comme le sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) et les lotiers pédonculé et corniculé (*Lotus pedunculatus* et *L. corniculatus*) (Mueller-Harvey *et al.*, 2018).

Les tanins se trouvent chez les végétaux dans différents organes. Les concentrations les plus élevées sont fréquemment observées dans les fruits, les fleurs et les feuilles. Une accumulation est principalement observée dans les écorces âgées et les tissus pathologiques tels que les galles. Dans leur structure chimique, les tanins sont des polyphénols qui peuvent être divisés en deux catégories : les tanins hydrolysables et les tanins condensés, qui se distinguent par leur origine biogénétique et leur structure chimique (Jean-Blain, 2000).

#### **1-3-4-1. Fonction des Tanins**

Le rôle des tanins est de préserver la plante des prédateurs naturels tels que les bactéries, les champignons et les mammifères herbivores (Mueller-Harvey *et al.*, 2006). L'excès de tanins diminue la consommation de plantes en raison de la sensation d'astringence associée à leur consommation, ce qui entraîne un arrêt de la consommation et protège les végétaux d'une prédation excessive (Jean-Blain, 2000). Selon Cazaux (2002), la liaison aux protéines entraîne une rigidification de l'architecture de la plante et une réduction de son appétit, ce qui repoussera les « agresseurs ». Selon Alkurd *et al.* (2008), ils peuvent aussi être associés à la cellulose et à d'autres minéraux. On distingue les tanins qui peuvent être hydrolysés et condensés. Plusieurs tanins ont des caractéristiques antioxydantes, en raison de leurs propriétés phénoliques qui ont une forte affinité pour les nucléophiles (Bruneton, 1999). On leur a également attribué des propriétés antimutagènes et anticancéreuses (Richelle *et al.*, 2001).

#### **1-3-4-2. Toxicité des Tanins**

Les conséquences néfastes des tanins varient selon leur type.

##### **• Tanins hydrolysable**

Les tanins galliques, également connus sous le nom de tanins galliques, sont facilement hydrolysés à la fois par l'action enzymatique et par l'eau chaude (Conrad *et al.*, 2001). Parfois, ces tanins peuvent causer de graves intoxications, souvent fatales, chez les mammifères herbivores. Selon Jean-Blain (2000), cette dangerosité résulterait du fait que les tanins hydrolysables (de faible poids moléculaire) peuvent être dissous, puis les composés dérivés peuvent être absorbés dans la muqueuse intestinale et circuler dans le sang, ce qui peut entraîner des intoxications graves lors d'une ingestion excessive, entraînant des dommages au foie et aux reins.

##### **• Les tanins condensés**

Encore connus sous le nom de tanins catéchiques, il s'agit de polyphénols de la famille des flavonoïdes (Mueller-Harvey, 2006), dont la structure chimique est basée sur un système

d'hétérocycle. Ils présentent une toxicité bien inférieure à celle des tanins hydrolysables, car ils ne peuvent pas être hydrolysés et sont peu absorbés par la muqueuse digestive en raison de leur poids moléculaire élevé. Toutefois, une consommation excessive de plantes à forte teneur en tanins condensés (> 10 % de la matière sèche) diminue l'ingestion volontaire (Bruneton, 1999). Selon Rochfort *et al.* (2008), l'effet sur l'ingéré serait principalement causé par l'astringence causée par la complexation avec les protéines riches en proline. Des études menées sur des ovins ingérant de fortes doses de quebracho (16 % de la ration) ont montré que les tanins condensés affectent l'intégrité structurelle des muqueuses digestives, des pertes de cellules épithéliales et des signes de dégénérescence et d'ulcérations (Hervas *et al.*, 2003).

#### **1-4. Etude de la toxicité**

Selon Hodgson (2004), la toxicité englobe tous les effets néfastes qui peuvent causer des dommages morphologiques et/ou fonctionnels à un organisme vivant, induits par une substance introduite à une dose unique élevée ou à des doses répétées à des doses plus petites. On la définit aussi comme étant la capacité d'une substance toxique à avoir des effets néfastes sur la santé ou la survie de toute forme de vie, qu'il s'agisse de la vitalité de l'entité ou d'une de ses phases. Selon Ayoub (2018), il est nécessaire d'évaluer toute substance qui doit être commercialisée, qu'il s'agisse d'un médicament ou d'un produit chimique.

##### **1-4-1. Toxicité aiguë**

En utilisant la toxicité aiguë, on peut évaluer les conséquences néfastes après l'administration d'une substance à dose unique dans un délai de 24 heures. La toxicité n'apparaît que très rapidement. L'apparition du seuil de toxicité se produit lorsque l'organisme ne peut plus réparer la lésion ou détoxifier la substance (INRS, 2018). Les symptômes d'intoxication et l'absorption du toxique se manifestent généralement rapidement, la mort ou la guérison sont immédiates. L'évaluation de la toxicité aiguë consiste à examiner de manière qualitative et quantitative les effets toxiques de l'administration unique d'un xénobiotique. Selon Ayoub (2018), cela englobe différentes méthodes telles que des études épidémiologiques, des études expérimentales *in vitro* avec des animaux, des études *in vitro* réalisées sur des cultures de tissus ou de cellules, des études théoriques basées sur la modélisation, des études humaines et des études expérimentales.

#### **1-4-2. Toxicité subaiguë**

La toxicité subaiguë désigne une toxicité répétée pendant une période maximale de 28 jours. L'intoxication est caractérisée par des expositions répétées sur une période de plusieurs jours ou semaines, ce qui entraîne l'apparition des symptômes d'intoxication. Elle offre des renseignements concernant les dangers pour la santé que peut représenter une exposition répétée pendant une période relativement courte (OCDE, 2008). Les effets observés incluent la variation du poids corporel, de la consommation de nourriture et d'eau, des paramètres biochimiques et hématologiques, ainsi que le poids des organes (INRS, 2018).

#### **1-4-3. Toxicité subchronique**

On observe ses effets lorsqu'une substance est administrée quotidiennement aux animaux. La dose est administrée à nouveau pendant plus de 28 jours et moins de 90 jours. Elle permet d'évaluer l'effet toxique sur les organes ciblés ainsi que les doses non toxiques.

#### **1-4-4. Toxicité chronique**

L'exposition répétée pendant plusieurs mois ou années entraîne une toxicité chronique. L'intoxication se manifeste soit par l'accumulation du poison, soit par l'addition des effets engendrés. La voie cutanée, l'inhalation et la voie orale sont les trois principales voies d'administration utilisées dans les études de toxicité chronique. Selon l'OCDE (2018), la sélection de la méthode d'administration est influencée par les propriétés physiques et chimiques du produit chimique testé, ainsi que par la voie d'exposition dominante chez l'homme. L'étude offre des renseignements sur les effets toxiques de la substance et précise les organes ciblés ainsi que la possibilité d'accumulation dans ces organes. Une estimation de la dose sans effet nocif observé peut également être fournie, ce qui permet de définir les critères de sécurité pour l'exposition humaine (INRS, 2018).

### **1-5. Généralité sur le Foie**

Le foie est l'organe humain le plus grand, pesant entre 1,5 et 2 kg chez un adulte. Il est l'un des organes les plus versatiles et les plus complexes de l'organisme. En effet, il remplit de multiples fonctions essentielles à la vie. Elles comprennent l'équilibre glucido-lipidique, la production d'acides aminés et de protéines sanguines, la sécrétion de bile et le métabolisme de substances endogènes ou de xénobiotiques. De plus, il constitue le théâtre de réactions immunitaires sophistiquées. Toutes ces fonctions sont régulées de manière précise, ce qui lui

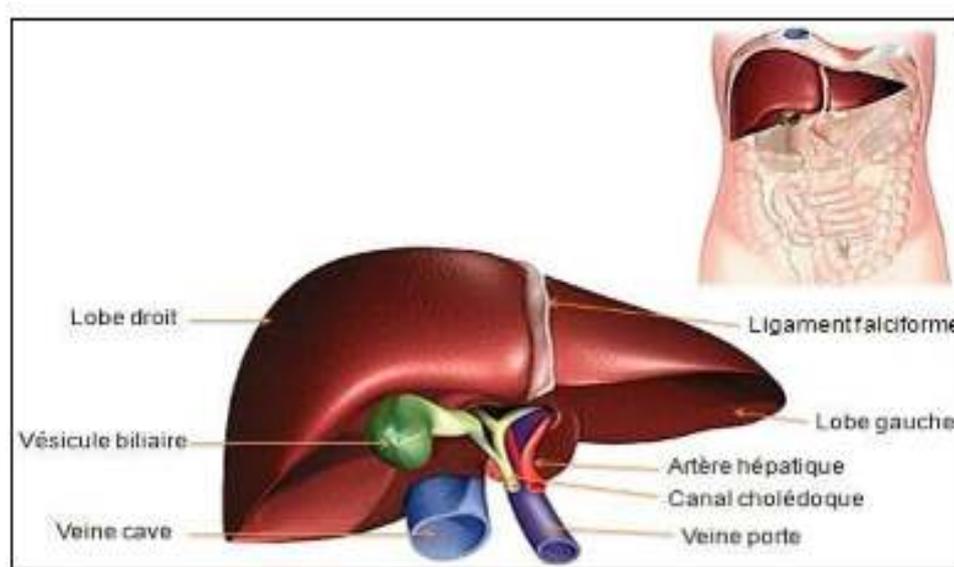
permet de s'adapter aux multiples éléments qu'il rencontre, qu'ils soient alimentaires ou non (Abdel-Misih & Bloomston, 2010).

Le foie est un organe situé dans la partie supérieure droite de la cavité abdominale (Waugh & Grant, 2006). Il est entouré partiellement de péritoine et est enveloppé d'une capsule fibreuse appelée capsule de Glisson. Cette capsule est creusée en sillon délimitant quatre lobes et est invaginée sur sa face inférieure pour former le hile hépatique. Le hile est le point d'entrée et de sortie des vaisseaux sanguins et des nerfs, ainsi que des vaisseaux lymphatiques et des canaux biliaires (Figure 4). Cet organe se singularise par son double apport sanguin réalisé au niveau de deux vaisseaux majeurs : la veine porte et l'artère hépatique. Le sang de la veine apporte des substances issues de l'estomac, des intestins, de la rate et du pancréas, qui seront modifiées pendant leur passage dans le foie. Le sang de l'artère hépatique apporte essentiellement l'oxygène nécessaire à cet organe. Ainsi, le sang approvisionne le foie à partir de ces deux voies et ne ressort que par la veine sus-hépatique (Figure 5).

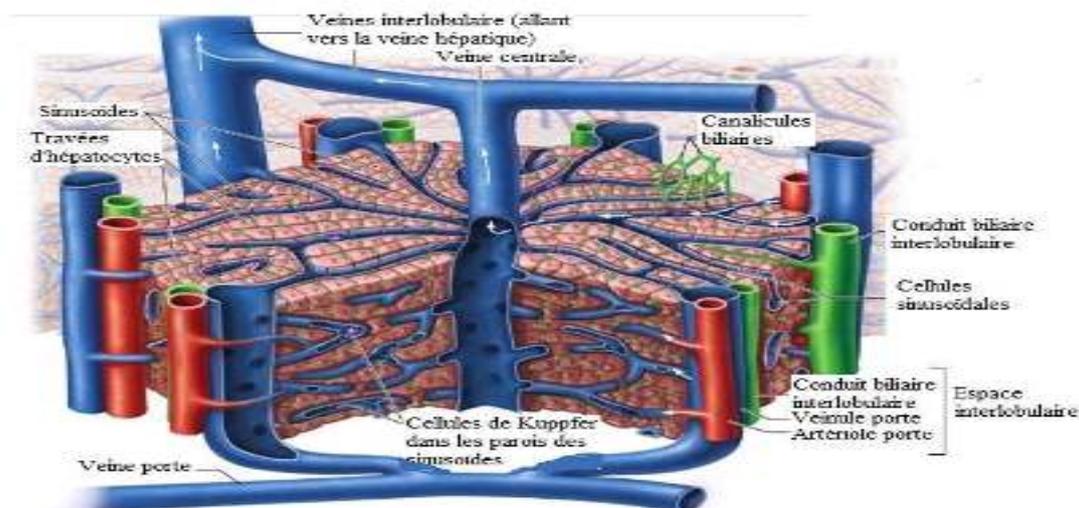
Le foie est constitué principalement de deux types de cellules :

les cellules de Kupffer qui appartiennent au revêtement endothélial des vaisseaux sanguins et qui font partie du système macrophagique ;

les cellules hépatiques ou hépatocytes qui représentent l'entité fonctionnelle de l'organe et qui assurent les fonctions de régulation métabolique, de synthèse, de détoxification et d'excrétion.



**Figure 4** : Anatomie et physiologie du foie (Schünke *et al*, 2007).



**Figure 5 :** Structure d'un lobule hépatique (Marieb & Hoehn, 2015).

### 1-5-1. Fonctions du foie

Le foie assure des fonctions essentielles à l'organisme. Il joue un rôle dans la détoxification des toxines de l'organisme, dans la synthèse et la sécrétion de la bile, dans le métabolisme énergétique et dans les processus de régénération tissulaire. Selon Ward & Daly (1999), le foie joue un rôle essentiel dans toutes les étapes biochimiques de la croissance, du système immunitaire, du métabolisme et de la reproduction.

#### 1-5-1-1. Détoxification

Le foie joue un rôle essentiel dans la purification des substances toxiques provenant de l'extérieur et de l'intérieur. Malgré la facilité d'élimination des substances hydrosolubles par les reins, les substances lipophiles nécessitent une transformation dans les hépatocytes avant d'être excrétées (Sendensky & Dufour, 2011). Le foie assure des fonctions de transport et de métabolisme de substances étrangères à l'organisme, comme des pathogènes. Le foie métabolise également les médicaments et autres toxiques comme l'alcool par un ensemble de réactions enzymatiques pour la biotransformation de molécules initiales insolubles en un ou des métabolites pouvant être éliminés par voie biliaire (Custodio *et al.*, 2008). La production naturelle d'ammoniaque par le colon lors de la décomposition du contenu digestif est très toxique pour le cerveau. La veine porte transporte cette substance au foie, où elle est transformée en urée par les hépatocytes, puis éliminée dans les urines (Natesan *et al.*, 2016).

### 1-5-1-2. Production de la bile

On retrouve dans la bile de l'eau, des électrolytes, des acides biliaires, du cholestérol, des phospholipides et de la bilirubine. Elle est fabriquée dans trois zones distinctes : la bile hépatocytaire, la bile canalaire et la bile vésiculaire. La bile joue un rôle crucial dans l'élimination de divers déchets environnementaux tels que la bilirubine et les médicaments. Elle est aussi cruciale pour l'assimilation des lipides dans l'intestin et joue un rôle essentiel dans le maintien de la glycémie. De plus, elle agit comme un moyen de transport des produits liposolubles jusqu'à l'intestin afin de les éliminer après leur passage dans le foie (Dooley *et al.*, 2011).

Les sels biliaires sont fabriqués uniquement dans les hépatocytes à partir du cholestérol en ajoutant un groupement OH sur le carbone 7 et en éliminant la double liaison (C5-C6). Les acides biliaires essentiels (acide cholique et acide chénodéoxycholique) sont combinés dans les hépatocytes avec des acides aminés tels que la glycine ou la taurine, puis ils sont sécrétés activement dans la bile. Après leur passage dans la bile, ces sels sont modifiés au niveau du côlon par les enzymes de la flore bactérienne. Les sels biliaires secondaires (acide désoxycholique et acide lithocholique) ou tertiaires (acide sulfolithocholique et ursodésoxycholique) qui en découlent peuvent être réabsorbés et renvoyés au foie après avoir traversé le sang portal (Dooley *et al.*, 2011). Ils sont recueillis par les hépatocytes, combinés avec des acides aminés, puis libérés dans la bile. La présence de ce cycle entérohépatique maintient constamment une concentration élevée de sels biliaires dans les intestins. Ces sels sont indispensables pour la digestion des lipides dans le système digestif. Selon Monfort (2016), ces sels ont aussi un rôle crucial dans la prévention de la formation de lithiases à partir du cholestérol dans la vésicule et les voies biliaires.

### 1-5-1-3. Métabolisme des nutriments

Les glucides sont absorbés dans l'intestin grêle, puis on les retrouve dans le foie par la veine porte. Leur passage par la membrane sinusoïdale se fait par des transporteurs protéiques. Ces sucres sont introduits dans les hépatocytes où ils peuvent être glyco-génogénèse ou glycolysés. Il est également responsable de la glyco-génolyse et de la néogluco-génèse par le foie.

Le rôle du foie est également de contrôler le métabolisme des lipides, la synthèse des triglycérides et la dégradation du cholestérol en acides biliaires. D'après Bechmann *et al.*, (2012), le foie est également responsable de la production de lipoprotéines comme les LDL et les HDL.

#### 1-5-1-4. Régénération du foie

Le foie est réputé pour la reconstruction des parties qui lui ont été enlevées. Pour une hépatectomie majeure, il est envisageable de conserver jusqu'à 80 % de la fonction hépatique. Il semble indispensable de stimuler les cellules de Kupffer pour garantir une activité régénérative optimale du foie, sans doute en raison de la libération de TNF $\alpha$  et d'IL-6 (Taub *et al.*, 2003). Ces cytokines ont un impact sur la prolifération des hépatocytes, au moins en partie, en stimulant la transcription à travers des facteurs tels que NF-kB et STAT-3. D'après Abbas *et al.*, (2012), il est envisageable d'attirer les macrophages non-résidents en utilisant divers médiateurs chimiques, comme les protéines chimiotactiques générées après les lésions des hépatocytes. Selon Hogaboam *et al.*, (1999), d'autres chimiokines comme l'IL-8, la CXCL2 et la CXCL5 pourraient également jouer un rôle dans la prolifération des hépatocytes.

### 1-6. Hépatites

Les hépatites sont définies par les inflammations du parenchyme hépatique (Jean-P., 2008). Elle est définie histologiquement par l'existence de lésions hépatiques associant une nécrose hépatocyttaire et un infiltrat inflammatoire, (Guilford *et al.*, 1996 ; Rutgers & Biourge, 2006). Les hépatites chroniques actives peuvent évoluer vers la cirrhose. Les cirrhoses dues aux hépatites chroniques virales représentent un risque majeur de survenue d'un carcinome hépato-cellulaire

#### 1-6-1. Différents types d'hépatites

##### 1-6-1-1. Hépatites virales

La définition biologique de l'hépatite virale chronique se caractérise par la persistance d'une augmentation du taux des transaminases pendant plus de 6 mois après une hépatite virale saisonnière. Le diagnostic précoce des hépatites virales chroniques est important dans l'issue du traitement. Le diagnostic d'hépatite chronique virale est suspecté sur la constatation d'une sérologie virale positive associée à une élévation prolongée du taux des transaminases. Le diagnostic ne peut être confirmé que par la biopsie hépatique qui doit être systématique devant une élévation des transaminases persistant plus de 6 mois, associée à un marqueur viral de réplication. Les causes les plus connues de l'hépatite chronique humaine sont les causes virales, en particulier les hépatites B et C (Watson, 2004).

Une hépatite virale aiguë est une maladie hépatique causée par l'infection par l'un des 5 virus des hépatites. En général, l'inflammation commence brusquement et ne dure que quelques semaines (Anna E, 2018).

Les hépatites virales sont définies comme une souffrance hépatocellulaire due essentiellement à cinq virus hépatotropes (Bréchet *et al.*, 1981).

Les virus jouent un rôle essentiel dans les infections, les virus de l'hépatite A, l'hépatite B, l'hépatite C, l'hépatite D, ainsi que le virus de l'hépatite E sont concernés. En général les hépatites A et E sont causées par l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés. Les hépatites B, C et D surviennent habituellement après un contact parentéral avec des liquides biologiques contaminés. Les infections causées par les hépatites B et C peuvent devenir chroniques et entraîner une cirrhose du foie ou un cancer primitif du foie. On estime que 1,4 million de personnes décèdent chaque année des différentes formes des hépatites (OMS, 2013).

#### **1-6-1-1-1. Virus de l'hépatite A**

L'hépatite aiguë est souvent causée par une infection par le VHA. Elle se propage par voie féco-orale, généralement par l'eau contaminée. Il y a une importante réserve dans les pays en développement. L'hépatite A se manifeste généralement pendant l'enfance ou chez les jeunes adultes. Il arrive parfois que des épidémies se produisent dans des communautés. La population des pays développés est moins exposée au virus en raison de l'amélioration de l'hygiène. Les relations sexuelles entre hommes favorisent également le risque d'infection par le VHA (Elsevier-M, 2015).

#### **1-6-1-1-1-1. Caractéristique de l'hépatite virale A**

Le virus de l'hépatite A fait partie des picornavirus, eux-mêmes inclus parmi les entérovirus. Il s'agit d'un virus non enveloppé, détruit par le chauffage (autoclavage 20 min à 120°C). Il résiste à moins 20°C pendant 1 an. C'est un virus à ARN qui n'est pas directement cytopathogène pour le foie ; les lésions histologiques hépatiques semblent être dues à la réponse immunitaire cellulaire (lymphocytes T cytotoxiques) vis-à-vis des cellules hépatiques infectées (Gimenez *et al.*, 2000).

#### **1-6-1-1-1-2. Identification du virus de l'hépatite A**

Bien que le virus soit excrété dans les selles seulement à la fin de la période d'incubation, le diagnostic précis peut être fait avant cette date par la détection dans le sang des anticorps IgM spécifiques du virus de l'hépatite A (Tableau I). Les anticorps IgM sont présents dans le sang seulement à la suite de l'infection aiguë par le virus de l'hépatite A. Il est décelable une à deux semaines après l'infection initiale et persiste jusqu'à 14 semaines. La présence d'anticorps IgG dans le sang signifie que la phase aiguë de la maladie est terminée et que la personne est à

l'abri d'une nouvelle infection. Les anticorps IgG contre le VHA sont également retrouvés dans le sang après vaccination et les tests d'immunité contre le virus sont fondés sur la détection et le dosage de cet anticorps (Stapledon., 1995).

Pendant la phase aiguë de l'infection, les enzymes hépatiques dont l'alanine aminotransférase (ALAT) sont présents dans le sang à des niveaux beaucoup plus élevés que la normale. Les enzymes proviennent des cellules hépatiques qui ont été endommagées par le virus (Musana *et al.*, 2004).

**Tableau I :** Evolution sérologique des marqueurs du VHA au cours d'hépatite A (Doumbia, M., 2005)

| IgM anti VHA | IgG anti VHA |   |
|--------------|--------------|---|
| -            | -            | Sujet non immunisé contre l'hépatite A      |
| +            | +            | Phase aiguë de l'hépatite A (sujet infecté) |
| -            | +            | Phase de guérison Sujet immunisé            |

### 1-6-1-1-3. Prévention de l'hépatite virale A

Un meilleur assainissement, la sécurité sanitaire des aliments et la vaccination sont les moyens les plus efficaces de combattre la maladie. On peut limiter la propagation de l'hépatite A par les moyens suivants :

- Un approvisionnement suffisant en eau potable ;
- L'élimination des eaux usées dans de bonnes conditions au sein des communautés ;
- Une bonne hygiène personnelle, notamment le fait de se laver régulièrement les mains avec de l'eau propre.

La vaccination contre l'hépatite A doit faire partie d'un plan complet de lutte contre cette maladie (Doumbia, M., 2005)

### 1-6-1-1-4. Traitement

Il n'y a pas de traitement spécifique de l'hépatite A aiguë. On doit recommander :

- le repos ;
- éviter l'alcool et tous les médicaments non indispensables jusqu'à la guérison. Aucun régime alimentaire n'a fait la preuve d'une quelconque efficacité (Jean-P., 2008).

### **1-6-1-1-2. Virus de l'hépatite B**

L'hépatite B est l'un des problèmes majeurs de santé à l'échelle mondiale. Environ 2 milliards d'individus (représentant un tiers de la population mondiale) présentent des signes sérologiques qui indiquent une infection résolue ou non par le virus de l'hépatite B (VHB). Environ 350 millions de personnes souffrent d'une infection chronique par le VHB. L'hépatite B est associée à un risque accru de cirrhose (25%) et à des complications telles que l'insuffisance hépatique terminale ou le carcinome hépato-cellulaire, qui entraînent plus d'un million de décès par an à travers le monde. Le VHB est responsable de 75 % des carcinomes hépato-cellulaires dans le monde. Le VHB entraîne parfois des manifestations extra hépatiques comme des atteintes cutanées, une périartérite noueuse ou une glomérulonéphrite.

On distingue quatre principales façons de contaminer le VHB :

- la transmission périnatale ; il s'agit du principal moyen de contamination dans les régions où la prévalence est élevée (séroprévalence supérieure à 8 %). Orient méridional, Afrique subsaharienne, Chine et Amazonie). Il s'agit soit d'une transmission verticale de la mère à l'enfant lors de l'accouchement ou transplacentaire lorsque les femmes enceintes ont un haut niveau de répllication du VHB, soit d'une transmission horizontale périnatale entre enfants lorsque ceux-ci sont élevés ensemble ;
- la transmission sexuelle ;
- les contacts avec le sang ou des substances provenant du sang lors de procédures médicales (transfusion sanguine, chirurgie, hémodialyse, interventions invasives, acupuncture, soins dentaires, utilisation de matériel recyclé dans les pays en développement) ou de toxicomanie intraveineuse (échange de seringues), ou de tatouage ou de piercing (défaut de stérilisation du matériel) par exemple.
- les échanges au sein de la famille ou de la communauté. Le partage d'objets de toilette ou les lésions cutanées sont les moyens les plus courants de transmission (Elsevier-M., 2015).

#### **1-6-1-1-2-1. Caractéristique du virus de l'hépatite B**

Le virus de l'hépatite B appartient à la famille des Hépadnaviridæ. La particule virale ou particule de Dane est composée d'une enveloppe lipoprotéique portant l'antigène HBs et d'une nucléocapside centrale ou core qui renferme l'ADN viral et l'ADN polymérase. C'est donc un virus à ADN dont le génome comporte 4 gènes S, C, P et X. Le gène S code pour 3 protéines qui portent l'antigénicité HBs. La région P code pour l'enzyme ADN-polymérase nécessaire à la répllication virale. Les produits du gène X semblent posséder des propriétés transactivatrices sur le génome viral et avoir un potentiel oncogénique qui interviendrait dans la genèse du

carcinome hépato-cellulaire (CHC). La région C code pour un polypeptide porteur de deux déterminants antigéniques HBc et HBe. L'antigène HBe est détecté dans le sérum lors de la multiplication virale. L'importance de la multiplication virale avant traitement est un facteur important de réponse au traitement. Le meilleur marqueur de la multiplication virale est la détection de l'ADN viral dans le sérum (Gimenez *et al.*, 2000).

### 1-6-1-1-2-2. Diagnostique de l'Hépatite virale B

Sur le plan clinique, l'hépatite B ne peut être distinguée des hépatites causées par d'autres agents viraux, et il est donc nécessaire de confirmer le diagnostic en laboratoire.

Différents tests sanguins peuvent être utilisés pour le diagnostic et la surveillance des patients atteints d'hépatite B. Ils peuvent également être utilisés afin de distinguer les infections aiguës des infections persistantes. La détection des antigènes de surface (AgHBs) de l'hépatite B est essentielle pour diagnostiquer l'infection par le virus de l'hépatite B en laboratoire. Un test positif pour les antigènes de surface de l'hépatite B indique que le sujet présente une infection active (aiguë ou chronique). L'OMS recommande de rechercher ce marqueur dans tous dons de sang pour éviter la transmission de l'hépatite B aux receveurs de transfusions. On observe l'infection aiguë par le VHB par la présence de l'antigène HBs et de l'immunoglobine (IgM) dirigée contre l'antigène de la nucléocapside (anticorps anti-HBc) (Tableau II). À l'origine de l'infection, les patients sont aussi positifs à l'antigène HBe. Dans la plupart des cas, cet antigène est un indicateur de réplication virale à grande échelle. La présence de cette marque suggère que le sang et les liquides corporels de l'individu infecté présentent une forte infection. L'infection chronique est marquée par la présence de l'antigène HBs pendant une période d'au moins 6 mois. L'antigène HBs persiste comme le principal indicateur du risque de développer une maladie chronique du foie et, plus tard, un carcinome hépatocellulaire.

**Tableau II** : Sérologie de l'hépatite B (Jean-P., 2008).

|                    | AgHBs | Ac anti HBs | IgG anti HBc | IgM anti HBc | Ag HBe | Ac anti HBe | ADN |
|--------------------|-------|-------------|--------------|--------------|--------|-------------|-----|
| Hépatite aiguë     | +     | -           | +            | +            | +      | -           | +   |
| Hépatite Chronique | +     | -           | +            | -            | +/-    | +/-         | +   |
| Hépatite Guérie    | -     | +           | +            | -            | -      | +/-         | -   |
| Vacciné            | -     | +           | -            | -            | -      | -           | -   |

Légende : (-) : effet négative ; (+) : effet positif

### **1-6-1-1-2-3. Prévention de l'hépatite virale B**

Le vaccin contre l'hépatite B a fait la preuve historiquement d'une innocuité et d'une efficacité remarquables. En adoptant des méthodes d'injection sécurisées, en éliminant les injections superflues ou dangereuses, il est possible de prévenir efficacement la propagation du VHB. La fréquence des injections à risque a été ramenée de 39 % en 2000 à 5 % en 2010 à l'échelle mondiale. En outre, des pratiques sexuelles à moindre risque consistant notamment à limiter le nombre de partenaire et à utiliser des mesures de protection mécaniques (préservatif), protègent aussi de la transmission (OMS, 2018).

### **1-6-1-1-2-4. Traitement**

Le traitement de l'hépatite B aiguë n'est pas spécifique. L'objectif des soins prodigués est de maintenir le bien-être du patient et l'équilibre nutritionnel. On peut utiliser des médicaments antiviraux oraux pour traiter l'hépatite B chronique afin de ralentir la progression de la cirrhose, les complications et améliorer la survie à long terme. Selon l'OMS, les traitements par voie orale tels que le ténofovir ou l'entécavir sont les plus efficaces pour éliminer le virus de l'hépatite B. Comparés à d'autres médicaments, ils entraînent rarement une résistance à la prescription, sont faciles à prendre (un comprimé par jour) et n'ont que peu d'effets secondaires, ce qui signifie qu'ils nécessitent un suivi limité (OMS, 2017). Le vaccin anti-hépatite B joue un rôle essentiel dans la prévention de cette maladie. Selon l'OMS (2017), il est recommandé de donner ce vaccin à tous les bébés dès que possible après leur naissance, et de préférence dans les 24 heures qui suivent. Les marqueurs peuvent être suivis dans le cas de l'hépatite aiguë, chronique et jusqu'à la guérison du patient.

### **1-6-1-1-3. Virus de l'hépatite C**

Le virus de l'hépatite C est strictement humain. Selon les estimations, environ 3 % de la population mondiale est atteinte d'une infection chronique par le VHC. En France, il y aurait environ 150 000 000 individus qui souffrent du VHC. La progression silencieuse de la maladie et la fréquence élevée de l'évolution vers la chronicité expliquent la présence d'un grand stock de personnes infectées.

Le mode de contamination est principalement parentéral. Les facteurs de risque sont les transfusions avant 1992, la consommation de drogue par voie intraveineuse ou par voie nasale, les antécédents de tatouage ou d'acupuncture, les antécédents de soins hospitaliers « lourds » (dialyse, transplantation...), les personnes exposées au sang, le fait d'avoir un proche porteur du VHC, les rapports sexuels sanglants, l'utilisation de matériel médical recyclable (principal

mode de contamination dans les pays du Sud). L'hépatite chronique C évolue vers la cirrhose dans 20 % des cas en 20 ans ; l'incidence du carcinome hépato-cellulaire est de l'ordre de 13 % tous les ans au stade de cirrhose. La probabilité de survie après une première décompensation est de l'ordre de 50 % à 5 ans (Elsevier-M., 2015).

#### **1-6-1-1-3-1. Caractéristique du virus de l'hépatite C**

Le virus de l'hépatite C s'apparente aux pestivirus animaux et est proche de la famille des Flaviviridæ humains. Le virus dont la taille est de 50 à 60 nm de diamètre est constitué d'une enveloppe lipidique et d'un ARN monocaténaire de 10 000 nucléotides avec un cadre de lecture unique. La grande variabilité du génome du VHC a conduit au concept de génotypes du virus. Six génotypes différents apparaissent selon le degré d'homologie de leur ARN. La grande variabilité du VHC pourrait lui permettre d'échapper à la réponse immunitaire et ainsi favoriser le passage à la chronicité de l'infection et sa résistance au traitement. Il existe également des différences géographiques de répartition des génotypes du virus de l'hépatite C. D'autre part chez un même malade, différentes populations virales peuvent coexister mais, en général, un génotype est dominant. Cette hétérogénéité génétique chez un même individu a conduit à la notion de quasi-espèces. En France, les génotypes les plus fréquents sont les types 1, 2 et 3 (Gimenez *et al.*, 2000).

#### **1-6-1-1-3-2. Diagnostique de l'hépatite virale C**

Les étapes du diagnostic de l'infection par le virus de l'hépatite C sont les suivantes :  
-un test sérologique permet de détecter les anticorps de l'hépatite C afin d'identifier les individus infectés par le virus ;

-si le test est positif, il est nécessaire de réaliser un test d'amplification de l'acide ribonucléique (ARN) du VHC afin de confirmer l'infection persistante.

Effectivement, 30 % des personnes infectées par le VHC se traitent spontanément de l'infection grâce à une réponse immunitaire puissante, sans avoir besoin de traitement. Malgré l'absence d'infection, ces individus restent positifs aux tests d'anticorps anti-VHC.

#### **1-6-1-1-4. Virus de l'hépatite D**

La recherche de l'hépatite D est toujours nécessaire dans le bilan initial chez les patients atteints du VHB. La vaccination contre le VHB a réduit la prévalence de l'hépatite D. Le virus de l'hépatite D est relativement répandu dans le bassin méditerranéen, en Europe de l'Est, dans

certains pays d'Afrique noire et d'Amérique au Sud. En France, il est fréquent que les utilisateurs de drogues intraveineuses soient infectés par le VHD (Elsevier-M., 2015).

#### **1-6-1-1-4-1. Diagnostique de l'hépatite virale D**

La présence d'immunoglobulines G (IgG) et d'immunoglobulines M (IgM) anti-VHD est diagnostiquée pour l'infection par le VHD. La détection de l'ARN du VHD dans le sang confirme le diagnostic. Cependant, les diagnostics du VHD ne sont pas facilement accessibles et les essais sur l'ARN de ce virus ne sont pas standardisés, mais sont utilisés pour contrôler la réaction au traitement antiviral. Le titrage de l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs) est utile pour contrôler la réponse au traitement lorsque le dosage quantitatif de l'ARN du VHD n'est pas disponible.

#### **1-6-1-1-4-2. Prévention**

La lutte contre l'infection par le VHD implique la prévention de la transmission du VHB en adoptant des mesures telles que la vaccination contre l'hépatite B, la sécurité transfusionnelle, la sécurité des injections et des services de réduction des effets néfastes. D'autre part, la vaccination contre l'hépatite B n'assure aucune immunité contre le VHD chez les personnes déjà infectées par le virus.

#### **1-6-1-1-4-3. Traitement**

Les lignes directrices actuelles recommandent en général l'interféron alpha pégylé pendant au moins 48 semaines. Les taux moyens de réponse virologique durable sont faibles, mais ce traitement est un facteur indépendant s'associant à une faible probabilité d'évolution de la maladie. On pourra envisager une transplantation hépatique dans les cas d'hépatite fulminante ou d'affection hépatique au stade terminal. Il faut de nouveaux principes actifs et stratégies thérapeutiques.

#### **1-6-1-1-5. Virus de l'hépatite E**

Le VHE est excrété dans les selles. Il est transmis par voie féco-orale, habituellement par l'eau contaminée dans les pays en voie de développement. Il est transmis principalement par ingestion de viande contaminée (zoonose) dans les pays industrialisés. Le virus peut être présent dans l'environnement pendant les périodes non épidémiques, chez les personnes porteuses asymptomatiques du virus et/ou chez les animaux infectés par le VHE (tels que les élevages de porcs, de sangliers, de cervidés...). L'hépatite E est un virus qui provoque des hépatites aiguës

épidémiques ou sporadiques et d'hépatite chronique chez les immunodéprimés (Elsevier-M., 2015).

#### **1-6-1-1-5-1. Caractéristiques virologiques de l'hépatite E**

Le virus de l'hépatite E fait partie de la famille des Calciviridæ ou Togaviridæ. Il s'agit d'un virus sphérique, ne présentant pas d'enveloppe, dont la taille est comprise entre 32 et 34 nm. Le génome contient un ARN simple brin avec 7194 nucléotides. Le virus n'agit pas par un mécanisme cytopathogène et les lésions hépatiques sont probablement liées à la réponse immunitaire de l'hôte.

Les particules virales, avec une morphologie de Calcivirus, ont été mises en évidence en microscopie électronique dans les selles des malades. En France, les rares cas observés concernent habituellement des voyageurs revenant d'un pays d'endémie (Molinie & Bronstein., 1998).

#### **1-6-1-1-5-2. Diagnostique de l'hépatite virale E**

Le diagnostic final de l'hépatite E repose généralement sur la présence d'anticorps IgM spécifiques dans le sang d'une personne, ce qui est généralement suffisant dans les régions où cette maladie est fréquente.

#### **1-6-1-1-5-3. Prévention**

- Au niveau de la population, on peut réduire la transmission du VHE et le nombre des cas d'hépatite E en : maintenant des normes de qualité pour les approvisionnements publics en eau ; mettant en place les systèmes d'élimination adéquats des selles.

- Au niveau individuel, le risque infectieux peut être réduit en respectant des pratiques d'hygiène telles que : le lavage des mains avec de l'eau propre en particulier avant de manipuler en limitant la consommation d'eau et de glace de qualité inconnue, il est important de respecter les règles d'hygiène de l'OMS pour garantir la sécurité sanitaire des aliments.

#### **1-6-1-1-5-4. Traitement**

Le traitement de l'hépatite E aiguë n'est pas spécifique et ne peut pas ralentir l'évolution. Étant donné que la maladie se régresse généralement par elle-même, l'hospitalisation n'est pas nécessaire le plus souvent. Néanmoins, elle est nécessaire dans les cas d'hépatite fulminante et doit être prise en compte pour les femmes enceintes qui présentent des signes de maladie. Un

médicament antiviral, la ribavirine, est bénéfique pour les patients immunodéprimés souffrant d'hépatite E chronique.

### **1-6-1-2. Hépatites non virales**

La principale cause des hépatites non virales est l'ingestion de substances toxiques pour le foie (alcool, produits chimiques toxiques, etc.). Elles peuvent également résulter de maladies qui affectent le foie, telles que la stéatose hépatique (foie gras) et l'hépatite auto-immune (une hépatite inflammatoire chronique, caractérisée par la production d'auto-anticorps).

### **1-6-1-3. Hépatite chronique due à l'inflammation**

La réponse du tissu hépatique face à une agression fait intervenir des phénomènes d'immunité. L'agression initiale des hépatocytes entraîne la production de cytokines et de médiateurs pro-inflammatoires qui activent les cellules inflammatoires, notamment les cellules de Kupffer et les neutrophiles. (Twedt, 2001).

Des mécanismes immuns peuvent se développer secondairement à une lésion hépatique ou être directement à l'origine des lésions, entraînant la libération d'antigènes hépatiques et la formation d'anticorps (Rutgers & Biourge, 2006).

Ainsi, à partir d'une lésion initiale, différents mécanismes pathogéniques, notamment à médiation immune, s'associent pour entretenir l'inflammation (Boisclair *et al.*, 2001 ; Center, 1999).

### **1-6-1-4. Hépatite chronique due à la fibrose**

La fibrose hépatique est caractérisée par une accumulation excessive de collagène, constituant majeur de la matrice extracellulaire hépatique, ainsi que d'autres composés tels que les protéoglycanes, l'élastine et les glycoprotéines. Elle apparaît généralement comme une conséquence de l'inflammation dans les hépatites chroniques et des dégâts hépatiques dus en partie à la production incontrôlée de radicaux libres (Poli & Parol, 1997 ; Center, 1999).

La fibrose aboutit éventuellement à la cirrhose, un état extrême et irréversible, caractérisé par une fibrose lobulaire diffuse et le remplacement de l'architecture hépatique normale par des nodules structurellement et fonctionnellement anormaux, ce qui détruit la structure et diminue la capacité fonctionnelle du foie (De Novo, 2006).

Les agents agresseurs orchestrent la mort des hépatocytes et engendrent une réaction inflammatoire, ce qui entraîne une inflammation du foie, une hépatite aigüe. Si ces agents sont totalement éliminés, il y a une régénération du foie avec un retour à l'état normal. Mais s'ils

persistent, il survient une hépatite chronique avec la formation d'une cirrhose qui à terme entraîne une insuffisance hépatocellulaire.



**Figure 6 :** Cirrhose atropho-hypertrophique mixte.

### 1-6-2. Traitements conventionnels des hépatites

Les molécules synthétiques sont utilisées dans le traitement des affections hépatiques. Cependant, de nombreuses études ont montré l'absence d'effets bénéfiques voire leur toxicité (Largeron *et al.*, 1999 ; Gournay & Richou, 2002). En effet, ces molécules provoquent des effets secondaires potentiellement graves, ce qui complique le traitement et accroît la souffrance des malades. Ainsi, à cause de leurs effets indésirables, la plupart d'entre elles ont été éliminées du marché. Certains vitamines et oligoéléments qui ont un rôle antioxydant peuvent être utilisés contre le stress oxydant lors des pathologies hépatiques (Flatland, 2003). Parmi ces antioxydants, on peut citer :

- La vitamine E pour laquelle des études réalisées *in vitro* et chez l'homme ont démontré le rôle important dans la diminution des dommages oxydatifs dans de nombreuses affections hépatiques (Andreone *et al.*, 2001) ;
- Les  $\beta$ -carotènes qui diminuent la susceptibilité des lipoprotéines à l'oxydation, et améliorent le taux de glutathion et l'activité des glutathion peroxydases ;
- Le zinc et le sélénium qui font augmenter l'activité des enzymes antioxydantes et le taux de glutathion dans le foie.

### 1-6-3. Utilisation des plantes

Les plantes ont longtemps été utilisées dans le traitement traditionnel des maladies du foie. Elles constituent une alternative pour la recherche de nouvelles substances hépatoprotectrices

avec effets antioxydants pour remplacer les molécules synthétiques. Des études faites sur un certain nombre de plantes médicinales ont révélé leur effet hépatoprotecteur accompagné de leur potentiel antioxydant, ce qui donne plus d'espoir pour prévenir et/ou guérir les affections hépatiques (Sangaré *et al.*, 2012).

### **1-7. Substances hépatotoxiques**

Un grand nombre de substances chimiques ou médicamenteuses exercent un effet toxique sur le foie. Lors du passage du médicament dans le foie, le produit peut avoir son activité augmentée ou bien l'utilisation abusive de médicament peut induire une dégradation (Liozon, 2010). Les plus couramment utilisées dans l'évaluation des propriétés hépatotoxicités des médicaments sont le tétrachlorure de carbone, le paracétamol, l'éthanol, l'isoniazide, la rifampicine, la D-galactosamine etc. En effet, d'autres médicaments comme les antidépresseurs et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) peuvent aussi déclencher une insuffisance hépatique aigüe par un mécanisme immuno-allergique (Clément *et al.*, 2010).

#### **1-7-1. Paracétamol**

Le paracétamol ou acétaminophène est métabolisé, majoritairement au niveau hépatique, en dérivés glucuro et sulfoconjugués via des glucuronyltransférases et des sulfotransférases. Il est présenté sous diverses formulations : comprimés, capsules, suspensions, suppositoires rectaux, et pour utilisation intraveineuse à la fois comme médicament à ingrédient unique ou combiné, à libération immédiate ou prolongée (Bunchorntavakul & Reddy, 2018). Seule une faible fraction est transformée par le cytochrome P450 en une quinone imine très réactive. Celle-ci est normalement complexée au glutathion qui la détoxifie et facilite son élimination. Cependant, en cas de surdosage en paracétamol, la quantité de quinone imine formée devient importante, ce qui conduit à un épuisement du stock de glutathion. Dès lors, ce métabolite se lie à certains constituants des hépatocytes et une cytolysse hépatique débute aussitôt (James *et al.*, 2003 ; Jaeschke & Bajt, 2006).

#### **1-7-2. Tétrachlorure de carbone**

Le tétrachlorure de carbone (CCl<sub>4</sub>) est un liquide incolore, inflammable et volatil, avec une odeur distincte. Au 19<sup>ème</sup> siècle, il a été utilisé comme anesthésique. Dans les 25 premières années du 20<sup>ème</sup> siècle sa toxicité était fermement établie (Pan *et al.*, 2007). Par ailleurs, le CCl<sub>4</sub> a démontré son utilité en tant que modèle expérimental pour l'étude des lésions hépatiques chez l'homme (Li *et al.*, 2016). Il est couramment utilisé pour le criblage de l'activité

antihépatotoxique/hépatoprotectrice des médicaments et des agents hépatoprotecteurs (Pavanato *et al*, 2007, Fu *et al*, 2010). Ce modèle expérimental a été appliqué dans le monde entier dans plus de 50 000 études jusqu'à présent (Scholten *et al*, 2015). En principe, l'administration du CCl4 chez les rongeurs en laboratoire peut être par injection, inhalation ou gavage. La majorité des chercheurs préfèrent l'application par injection (IP) pour raisons de bonne espérance de vie, de performance et de sécurité (Scholten *et al*, 2015).

### **1-7- 3. Ethanol**

L'éthanol est oxydé au niveau du foie, en acétaldéhyde puis en acétate, selon différentes voies enzymatiques. Lors d'une alcoolisation chronique ou en cas d'intoxication aiguë à l'alcool, il y a induction du cytochrome P450 2E1, favorisant ainsi la production intense de radicaux libres. Ces espèces réactives se lient aux lipides membranaires et engendrent une réaction en chaîne qui altère l'architecture des membranes hépatocytaires (Paille *et al.*, 1993). L'acétaldéhyde semble aussi jouer un rôle dans la pathogénie de l'atteinte hépatique d'origine éthylique par son action directe sur les hépatocytes.

### **1-7-4. Isoniazide**

La toxicité hépatique de l'isoniazide, indépendante de son taux sanguin, est due à sa conversion en acétylhydrazine puis en N-hydroxy-acétylhydrazine par le cytochrome P450. Ce métabolite toxique et instable se fixe irréversiblement sur les protéines hépatiques, les empêchant d'exercer leur fonction et provoquant ainsi une nécrose des hépatocytes (Biour *et al.*, 1998).

### **1-7-5. Rifampicine**

L'hépatotoxicité induite par la rifampicine est directe. Elle provoque une augmentation des paramètres biochimiques tels que les transaminases, la phosphatase alcaline, la bilirubine directe, avec apparition d'ictère (Biour *et al.*, 1998).

### **1-7-6. D-galactosamine**

Elle altère la synthèse de l'ARN et inhibe ainsi la synthèse protéique en induisant une nécrose en traitement aiguë (Kiso *et al.*, 1983).

### **1-7-7. Antidote : N-acétylcystéine**

Il est possible d'éviter ou de réduire l'hépatotoxicité causée par un surdosage de paracétamol en administrant du NAC. Il est important de noter que les individus qui se sont

guéris de l'hépatotoxicité causée par le paracétamol retrouvent habituellement une santé normale, sans aucun signe de lésion hépatique persistante. Pendant plusieurs décennies, le NAC a été employé comme l'antidote privilégié pour traiter l'hépatotoxicité du paracétamol. Des études cliniques concrètes démontrent que le NAC, à la fois par voie orale et intraveineuse, peut également prévenir l'hépatotoxicité (Polson *et al.*, 2005 ; Megarbane *et al.*, 2006).

**DEUXIEME PARTIE :**  
**MATERIEL ET METHODES**

## 2-Matériel et Méthodes

### 2-1. Matériel

#### 2-1-1. Matériel biologique

##### 2-1-1-1. Matériel végétal

Le matériel végétal est une décoction de plantes médicinales, buvable avec une coloration brunâtre contenu dans une bouteille portant le numéro du lot (212). Aussi le numéro du tradipraticien au Programme National de la Promotion de la Médecine Traditionnelle (2084). Il est utilisé pour soigner des affections hépatiques chez les patients. (Figure 7)



**Figure 7** : Médicament Traditionnel Amélioré nommé « ABRAHAM »

##### 2-1-1-2. Matériel animal

Les rats de l'espèce *Rattus norvegicus* de la souche Wistar (Figure 8) et d'une masse compris entre 100 et 200 g ont été employés pour cette étude. Les rats ont été fournis par l'animalerie de UFR Biosciences de l'Université Félix Houphouët Boigny d'Abidjan Cocody, un total de cinquante-un rats (51).



**Figure 8 :** Rat albinos blanc (*Rattus norvegicus*) de souche Wistar

### **2-1-1-3. Matériel de laboratoire**

Les tubes EDTA et les tubes secs, la balance électrique de précision Ohaus™, une seringue à sonde, les dépôts de solvants sur la plaque chromatographique, une pipette Pasteur, un spectrophotomètre semi-automatique URIT-2900, un automate URIT-2900 et une centrifugeuse LEMFIELD model 80.2.

### **2-1-2. Produits chimiques et consommables**

L'éther Cooper et le paracétamol (Doliprane® (SANOFI)), N-acétylcystéine, un kit Créatinine / Alkaline picrate (BIOLABO), un kit Cholestérol oxidase /peroxidase, l'enzyme colorimétrique, un kit AST/TGO IFCC (BIOLABO) et un kit ALT/TGP IFCC (BIOLABO) Une solution alcoolique de chlorure ferrique à 2 %, l'acétate de sodium, le trichlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>), l'ammoniaque, le HCl et le réactif de Dragendorff.

## **2-2. Méthodes**

### **2-2-1. Criblage Phytochimique**

Les divers groupes chimiques présents dans la solution du MTA ont été caractérisés en utilisant les méthodes mentionnées.

### 2-2-1-1. Recherche des stérols et les polyterpènes

#### Principe :

L'apport de l'anhydride acétique acidifie l'homogénat de l'extrait végétal. Les stérols et les terpènes sont mis en évidence par l'addition de l'acide sulfurique. L'apparition d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive. La lecture est faite comparativement à un essai témoin avec le cholestérol ou le sitostérol.

La réaction de Liebermann a été utilisée pour chercher les stérols et les polyterpènes. Ainsi 5 mL de MTA ont été évaporés dans un bain de sable. Le résidu a été dissout à chaud dans 1 mL d'anhydride acétique et 0,5 mL d'acide sulfurique concentré a été ajouté à cette solution. L'apparition d'un anneau pourpre ou violet à l'interphase, qui se transforme ensuite en bleu puis en vert, a révélé une bonne réaction.

### 2-2-1-2. Recherche des polyphénols

#### Principe :

La colorimétrie des phénols met à profit la formation de précipité coloré avec une solution de chlorure ferrique ( $FeCl_3$ ). L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte, indique la présence de composés polyphénoliques. L'appréciation de cette coloration est faite par rapport à un essai témoin qui est une solution de phénol.

La recherche des polyphénols a été effectuée en utilisant le chlorure ferrique ( $FeCl_3$ ). À 2mL de MTA, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique 10 % a été ajouté. L'apparition d'une teinte bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée indique la présence de polyphénols (Bekro *et al.*, 2007).

### 2-2-1-3. Recherche des flavonoïdes

#### Principe :

Les flavonoïdes sont caractérisés par la réaction à la cyanidine dont le principe est que les hétérosides flavoniques en solution alcoolique et en présence d'hydrogène naissant donnent des dérivés diversement colorés en fonction de la structure chimique du flavonoïde. Ainsi,

Les flavones vont donner une coloration orange ;

Les flavonols donnent une coloration rouge ;

Les flavonones sont mises en évidence par une coloration rouge-violacée.

La réaction à la cyanidine a été utilisée pour rechercher les flavonoïdes. Ainsi 2 mL de MTA ont été évaporé au résidu, 5 mL d'alcool chlorhydrique doublement dilué ont été ajoutés. Une libération de chaleur, suivie d'une coloration rose-orangé ou violette observée après ajout

de 2 à 3 copeaux de magnésium. Puis 3 gouttes d'alcool isoamylique y ont été ajoutés. La coloration s'est intensifiée, confirme ainsi la présence de flavonoïdes.

#### **2-2-1-4. Recherche des tanins**

##### **Principe :**

En outre, en solution aqueuse, les tanins sont précipités par les sels de métaux lourds (Cu, Zn, Sn, Pb, Hg). La réaction au formol chlorhydrique (réactif de STIASNY) nous permet de distinguer les tanins catéchiques des tanins galliques par saturation à l'acétate de sodium. Les tanins galliques qui sont sous forme d'hétérosides hydrolysables sont hydrolysés après addition d'acétate de sodium. L'addition de quelques gouttes de perchlorure de fer, va donner une coloration spécifique aux polyphénols indiquant la présence des tanins galliques.

Le réactif de Stiasny a été utilisé pour rechercher les tanins catéchiques. A la suite d'une évaporation à sec de 5 mL du MTA et 15 mL du réactif de Stiasny ont été ajoutés au résidu. Le mélange est porté au bain-marie à la température de 80 °C pendant 30 minutes. Les tanins catéchiques ont été caractérisés par l'observation une partie de la solution précédente est utilisée pour la mise en évidence des tanins galliques. Elle a été filtrée et 5 mL de l'acétate de sodium a été ajouté au filtrat, puis 3 gouttes de FeCl<sub>3</sub> ont révélés une teinte bleu-noir intense, indiquant la présence de tanins galliques.

#### **2-2-1-5. Recherche des quinones libres ou combinées**

##### **Principe :**

La caractérisation des quinones est fondée sur le fait qu'ils donnent sous l'action d'une lessive alcaline ajoutée en faible quantité (ammoniacale, soude, eau de chaux) une coloration rouge cerise.

Le réactif de Bornstraëgen a été utilisé pour la recherche de substances quinoniques. Ainsi 2 mL de MTA ont été évaporés à sec. Le résidu a été mélangé avec 5 mL d'acide chlorhydrique à l'échelle de 1/5 est mis au bain-marie pendant 30 minutes. Après refroidi, il a été extrait par 20 ml de chloroforme. Puis la solution chloroformique a été diluée deux fois (0,5 mL) avec de l'ammoniacale. Le signe de la présence de quinones était une teinte rouge ou violette (Bekro *et al.*, 2007).

### 2-2-1-6. Recherche des alcaloïdes

#### Principe :

Les alcaloïdes sont caractérisés par le fait qu'ils ont la propriété de se combiner avec les métaux lourds (bismuth, iode, mercure, tungstène...) et de précipiter sous forme de sels. Ainsi les métaux lourds utilisés dans les réactifs servant pour leur détermination sont :

- Réactif de Bouchardat (Iode) qui entraîne la formation de précipité brunâtre ;
- Réactif de Dragendorff (iode, Bismuth) qui engendre la formation de précipité orangé ;
- Réactif de Valser-mayer (Iode, Mercure) qui forme un précipité blanc laiteux.

Les alcaloïdes ont été identifiés en utilisant les réactifs de Buchard (réactif iodo-ioduré) et de Dragendorff (réactif à l'iodo-bismuthate de potassium). Six (6) mL de MTA ont été évaporés à sec. Puis le résidu a été repris dans 6 mL d'alcool à 60°. Par la suite 2 gouttes du réactif de Dragendorff ont ajouté à cette solution alcoolique. Ceci a entraîné une coloration orange. Alors une réaction positive est observée lorsque 2 gouttes du réactif de Buchard ont été ajoutées à la solution alcoolique, d'où l'apparition d'un précipité de couleur brun-rougeâtre prouve la présence des alcaloïdes.

### 2-2-1-7. Recherche des saponosides

#### Principe :

En solution aqueuse les saponosides ont un indice de mousse très élevé. Cette propriété est donc mise à profit dans ce test, par agitation d'un échantillon de volume d'extrait. La hauteur de la mousse formée est mesurée et doit être supérieure à 1 cm. Cela indique la présence de saponine.

Afin de révéler la présence des saponosides, 10 mL de la solution du MTA ont été mis dans un tube à essais. Le tube a été agité durant 2 minutes, puis laissé au repos pendant 15 minutes. Lorsque cette mousse persistante est supérieure à 1 cm cela indique la présence des saponosides.

### 2-3. Essais chromatographiques

La méthodologie chromatographique employée est la chromatographie sur couche mince (CCM), qui offre une séparation rapide et facile à réaliser.

#### 2-3-1. Principe

La chromatographie est une technique d'analyse qui permet de séparer deux ou plusieurs composés présents dans une même combinaison.

Son fondement est basé sur l'affinité préférée des substances à séparer en utilisant une phase stationnaire (fixe) et une phase mobile (Tableau III).

Deux composés seront dissociés si l'un d'eux est plus fortement retenu dans la phase stationnaire et l'autre a une tendance à se déplacer plus rapidement dans la phase mobile. En CCM, l'adsorption joue un rôle physico-chimique. La phase stationnaire est composée d'un adsorbant, qui peut être un gel de silice, d'alumine ou de cellulose. La phase mobile se présente sous forme d'un liquide (eau ou autres solvants organiques) ou d'un mélange de liquides. Elle est également connue sous le nom de solvant de développement ou de migration ou de l'éluant.

**Tableau III :** Récapitulatif de l'identification des métabolites secondaires sur plaque CCM

| Composés<br>Recherches        | Support             | Solvant de<br>de développement                       | Réactif de<br>révolution   | Coloration de<br>révélation     |
|-------------------------------|---------------------|--|----------------------------|---------------------------------|
| Flavonoïdes et<br>Polyphénols |                     |  | Acide<br>Chloridrique      | Tache, coloro-<br>tion jaunatre |
| Tanins                        |                     |  | Chlorure<br>Férrique 3%    | Tache, coloro-<br>bleu-noiratre |
| Quinones                      | Plaque<br>De silice | Dichlorométhane 6<br>Acétate d'éthyle 3<br>Ethanol 1 | Potasse alcali-<br>que 5%  | Taches<br>marons                |
| Stérols et<br>Polyterpènes    |                     |  | Alcool sulfu-<br>rique 50% | Taches<br>marons                |
| Alcaloïdes                    |                     |  | Dragendorff                | Taches orangée                  |

## 2-3-2. Mode opératoire

### 2-3-2-1. Préparation de la cuve

Au fond d'une cuve de migration, 100 mL de solvant de migration ont été versés dans les proportions indiquées dans le tableau III, après un quart d'heure une saturation de la cuve a été observée.

### 2-3-2-2. Dépôt des solutions à analyser

A l'aide d'une micropipette, il a été réalisé des dépôts de 20 µL sur une ligne horizontale à 2 cm de la base de la plaque (deux dépôts consécutifs étant séparés de 2 cm).

### 2-3-2-3. Développement et séchage du chromatogramme

La plaque a été mise dans une cuve contenant le solvant puis fermé hermétiquement. Ensuite l'expérience a été arrêtée lorsque le front de solvant se déplace de 8 à 10 cm. Ainsi la plaque a été retirée et séchée jusqu'à l'élimination complète du solvant.

### 2-3-2-4. Révélation

A l'aide du détecteur à UV a été réperé les taches fluorescentes puis les réactifs de révélateurs appropriés ont été pulvérisés.

## 2-4. Détermination de la concentration de la solution médicamenteuse

Pour déterminer la concentration de la solution médicamenteuse, le bidon a été bien agité, puis transvasé dans une cuvette en porcelaine. L'extrait a été évaporé à l'étuve à la température de 50 °C. L'extrait sec obtenu a été pesé sur une balance électronique afin de déterminer sa masse. La masse de l'extrait sec obtenue permet de calculer la concentration de l'extrait dans un bidon. La concentration est obtenue suivant la formule suivante :

$$C = \frac{m}{V}$$

Avec :

*m* : masse de l'extrait (mg) ;

*C* : concentration massique de l'extrait (mg/mL) ;

*V* : volume de l'extrait (mL).

## 2-5. Etude de la toxicité du Médicament Traditionnel Amélioré

L'étude de la toxicité aiguë du MTA par voie orale a été réalisée selon les directives de l'OCDE 423 sur les rates l'OCDE (2001).

### 2-5-1. Conduite de l'expérimentation

La toxicité aiguë a été évaluée en respectant la ligne directrice n°423 de l'OCDE (2001). Les rates ont été nourries pendant 24 heures avant l'administration du paracétamol par voie orale. Ainsi cinq lots de trois rats ont été constitués et traités comme suit le lot 1 traité a été avec de l'eau distillée (2 mL/100g), ensuite les lots 2, 3, 4 et 5 ont été traités avec l'extrait médicamenteux aux doses respectives 500, 1000, 2000 et 5000 mg/kg. Par ailleurs une observation a été faite toutes les 30 minutes durant les 4 premières heures puis chaque matin entre 9 et 10 heures sur 14 jours. Ces observations ont été portées sur la pilosité, l'agressivité, la mobilité, le vomissement, la diarrhée, le vomissement et la mortalité.

-Calcul du volume de solution à administrer aux rats

$$V \text{ (mL)} = \frac{D \text{ (mg/g)} \times m \text{ (g)}}{C \text{ (mg/mL)}}$$

Avec :

*m* : la masse du sujet (mg)

*D* : la dose utilisée (mg/g de poids corporel) ;

*C* : la concentration de l'extrait (g/mL) et

*V* : le volume de l'extrait (mL).

## 2-6. Induction de l'hépatotoxicité et évaluation des paramètres hématologiques et biochimiques

### 2-6-1. Induction de l'hépatotoxicité

#### 2-6-1-1. Préparation de la solution de paracétamol

Des études préliminaires ont été réalisées pour obtenir la dose toxique du paracétamol. Les comprimés de paracétamol ont été rendus en poudre et a été dissout dans l'eau distillée. Cette solution est administrée aux rats par gavage pour rechercher la DL<sub>50</sub>. La dose de 200 mg /kg p.c. a été retenue pour induire l'hépatotoxicité chez les rats (Dougnon *et al*, 2009).

### **2-6-1-2. Préparation de la solution de N-acétylcystéine**

Cette solution a été obtenue selon la méthode utilisée par Banshandy *et al.* (2011). Ces auteurs ont montré que la N-acétylcystéine à la dose de 100 mg/kg p.c. avait un effet hépatoprotecteur chez le rat.

### **2-6-1-3. Méthode d'induction de l'hépatite avec le paracétamol**

Les études ont été réalisées selon les méthodes de Dougnon *et al.* (2009).

Trente-six (36) rats sont répartis en six (6) lots comprenant des mâles et des femelles ayant reçu les solutions par voie orale avec la sonde à gavage :

-Lot 1 : Constitue le lot témoin, ces animaux n'ont reçu aucun traitement,

-Lot 2 : Ces rats ont reçu 2 mL d'une solution de 200 mg/kg de p.c. de paracétamol pendant deux semaines.

-Lot 3 : Ces animaux ont reçu 2 mL d'une solution de 200 mg/kg de p.c. de paracétamol pendant deux semaines, puis 2 mL d'une solution de 100 mg/kg de p.c. de N-acétylcystéine pendant deux semaines.

-Lot 4 : Ces rats ont reçu 2 mL de la solution de 200 mg/kg de p.c. de paracétamol pendant deux semaines, puis 2 mL de la solution de 100 mg/kg de p.c. du MTA pendant deux semaines,

-Lot 5 : Ces rats ont reçu 2 mL d'une solution de 200 mg/kg de p.c. de paracétamol pendant deux semaines, puis 2 mL d'une solution de 200 mg/kg de p.c. du MTA pendant deux semaines,

-Lot 6 : Ces rats ont reçu 2 mL d'une solution de 200 mg/kg de p.c. de paracétamol pendant deux semaines puis avec 2 mL d'une solution de 400 mg/kg de p.c. du MTA pendant deux semaines.

Chaque jour, de nouvelles solutions ont été préparées en prenant en considération la masse par animal de chaque lot, jusqu'à la fin de l'expérimentation. Les prélèvements sanguins ont été réalisés au jour 0 (J0) avant l'induction de l'hépatite. Puis au jour 14 (J14) après induction des lots 2, 3, 4, 5 et 6. Et enfin au jour 28 (J28) après traitement au N-acétylcystéine et au MTA dans les lots 3, 4, 5 et 6

### **2-6-2. Evaluation des paramètres hématologiques et biochimiques**

Au jour 28, à la fin du traitement et après un jeun de 12h, les animaux ont été anesthésiés avec de l'éther. Le sang a été prélevé au niveau du sinus retro-orbital à l'aide de seringues stériles pour le dosage des paramètres hématologiques et biochimiques. Le sang de chaque rat a été recueilli immédiatement dans deux types de tube de prélèvement :

Le tube sec a servi à recueillir le sang pour le dosage des paramètres biochimiques.

Le recueil du sang total a été effectué à l'aide du tube EDTA pour établir la numération des cellules sanguines.

### **2-6-2-1. Etudes hématologiques**

La numération a été effectuée après les prélèvements dans des tubes EDTA par l'analyseur automatique URIT- 2900®.

#### **Principe :**

Le mécanisme de comptage cellulaire de l'automate URIT-2900 repose sur la fluctuation de l'impédance. Donc, lorsque 10 µL du sang total est aspiré, les cellules traversent un orifice mesuré. On applique un champ de courant continu à chaque extrémité de cet orifice. Étant donné que la conductivité de la cellule est différente de celle du milieu qui l'entoure, son passage à travers l'orifice modifie le courant établi entre les deux électrodes. Cette variation de courant a été mesurée à chaque passage de cellule. En outre, étant donné que la variation de courant est proportionnelle au volume de la particule, celle-ci est évaluée simultanément avec le comptage. L'échantillon est placé dans la chambre des mesures des globules blancs pendant une durée de 10 secondes, puis la taille et le nombre des leucocytes sont mesurés à l'aide d'une impédancemétrie. La même méthode a été utilisée pour mesurer la taille et le nombre d'érythrocytes et de thrombocytes dans la chambre de mesure des globules rouges. En se basant sur les mesures, les autres paramètres sont élaborés dans le microprocesseur de l'automate. Durant l'incubation, les érythrocytes sont dissous par lyse et l'hémoglobine est libérée, puis convertie en méthémoglobine. Une partie de l'échantillon de cette chambre est placée dans la cuvette d'écoulement d'hémoglobine. On mesure la concentration d'hémoglobine à l'aide de la spectrophotométrie.

#### **Protocole expérimental :**

Avant la réalisation de la numération, les échantillons de sang sont bien homogénéisés par retournement successif et délicatement afin d'éviter la formation de microcaillots. Manuellement, les tubes d'échantillon sont présentés verticalement à l'aiguille de l'automate et l'on l'actionne sur le bouton d'aspiration. Le tube d'échantillon est ensuite retiré verticalement une fois l'aiguille d'aspiration sortie du prélèvement. L'automate réalise l'analyse complète des paramètres hématologiques d'un échantillon au bout d'une minute. L'appareil URIT-2900 est connecté à une imprimante graphique qui transcrit les résultats sur papier.

### **2-6-2-2. Etude biochimique**

Le sérum sanguin prélevé dans les tubes secs sert à mesurer les marqueurs biochimiques de certains organes essentiels (foie, reins et cœur). Les paramètres biochimiques ont été mesurés à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire en utilisant l'automate Cobas Integra 400 Plus en respectant les principes.

#### **2-6-2-2-1. Dosage de la bilirubine totale**

##### **Principe :**

Le taux de bilirubine est mesuré par diazotation. La bilirubine dérive de la dégradation de la biliverdine, composée de l'hémoglobine après la destruction des globules rouges. La bilirubine est liposoluble et présente une toxicité pour les neurones. Puis elle est absorbée par le foie qui la transforme en bilirubine conjuguée hydrosoluble non toxique, qui est éliminée par la bile. La bilirubine est un produit de l'hémoglobine détruite et se trouve en faible quantité dans l'hémoglobine des globules rouges et surtout dans l'hémoglobine de la rate. Le taux de bilirubine a été également augmenté dans les cancers et les maladies de la rate.

##### **Protocole expérimental :**

Le taux de bilirubine a été mesuré à jeûn depuis environ 10 heures. On procède au prélèvement du sérum prélevé sur héparinate de lithium. Les échantillons de sang, contaminés ou ayant subi plus d'une décongélation ne doivent pas être traités. Il est essentiel de séparer le sérum du culot globulaire dès que possible (dans les 2 heures qui suivent le prélèvement). Il est important de protéger le prélèvement de la lumière. Il peut être maintenu à température ambiante pendant 8 heures à l'abri de la lumière.

#### **2-6-2-2-2. Dosage des protéines totales**

##### **Principe :**

Les protéines totales dans le sérum ont été mesurées par la méthode de biuret. Dans un milieu alcalin, les protéines s'associent aux ions cuivre II qui forment un complexe bleu-violet. Cette coloration, qui est liée à la concentration en protéines, peut être mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 550 nm.

##### **Protocole expérimental :**

Dans 1 mL du milieu réactionnel contenant du chlorure de sodium (0,15 mol/L), de l'hydroxyde de sodium (0,75 mol/L), du tartrate de sodium et de potassium (6 mmol/L), de l'iodure de potassium (6 mmol/L) et du sulfate de cuivre (6 mmol/L), 0,02 uL de sérum a été ajouté. Après

l'agitation automatique, le tube a été incubée à la température ambiante pendant 10 minutes l'absorbance au spectrophotomètre à 550 nm.

### 2-6-2-2-3. Activités des transaminases (ASAT /ALAT)

#### Principe :

Cette approche respecte les directives de l'IFCC (Bergmeyer, 1986) et repose sur le principe selon le schéma réactionnel suivant :

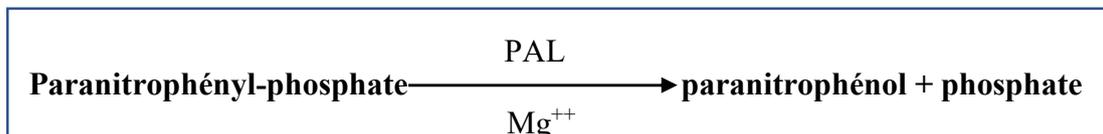
#### Protocole expérimental :

La quantité de 0,5 mL de milieu réactionnel préchauffé (3 minutes à 37 °C) contenant le tampon Tris HCl à pH 7,8, le L-aspartate (240 mM),  $\alpha$ - cétooglutarate (12 mM), le NADH (0,18 mM), le MDH ( $\geq 500$  U/l), le LDH ( $\geq 1200$  U/l) et de l'azide de sodium à 0,9 % est ajoutée pour mesurer le sérum. Les densités optiques quatre fois toutes les minutes au spectrophotomètre à une longueur d'onde  $\lambda$  de 340 nm, ont été utilisées pour évaluer l'activité enzymatique sérique après agitation.

### 2-6-2-2-4. Activité de la phosphatase alcaline (PAL)

#### Principe :

En milieu alcalin et sous l'action des PAL, le paranitrophényl-phosphate est hydrolysé en paranitrophénol et en phosphate.



La vitesse d'apparition du paranitrophénol proportionnelle à l'activité enzymatique de la PAL est mesurée au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 405 nm.

#### Protocole expérimental :

Un échantillon de 1 mL de milieu réactionnel avec un tampon DEA (Diéthanolamine) (1 mM ; pH 9,8), le paranitrophénylphosphate (10 mM) et le chlorure de magnésium (0,5 mM) ont été incubés au préalable au bain-marie à 37°C pendant 3 min. Puis (0,015 uL) de sérum a été ajouté à cette préparation. Après agitation, la densité optique a été mesurée toutes les minutes pendant 3 min au spectrophotomètre à 405 nm.

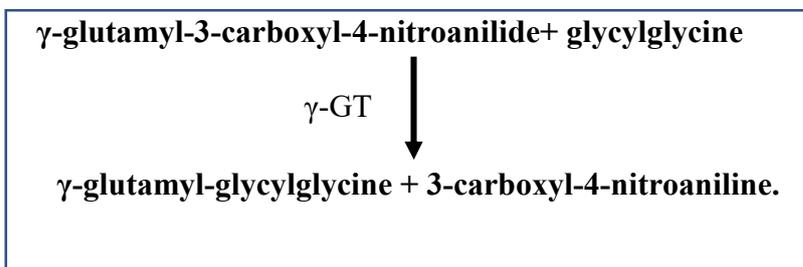
L'activité enzymatique de la PAL ( $F_X = 3660$ ) exprimée en UI/L est déterminée suivant la formule :

$$\text{AE PAL} = \frac{\Delta\text{DO}}{t \text{ (min)}} \times 3660$$

#### 2-6-2-2-5. Activité de la gamma-glutamyl transférase ( $\gamma$ -GT)

##### Principe :

La  $\gamma$ -GT catalyse le transfert du groupe  $\gamma$ -glutamyl de la  $\gamma$ -glutamyl-3-carboxyl-4-nitroanilide à la glycylglycine, libérant le 3-carboxyl-4-nitroaniline.



##### Protocole expérimental :

Un mL de milieu réactionnel contenant de la glycylglycine (164,8 mM), de l'hydroxyde de sodium (104 mM) et la  $\gamma$ -glutamyl-3-carboxyl-4-nitroanilide (6,5 mM) a été incubé au préalable au bain-marie à 37°C pendant 2 à 3 min. Puis 0,05 uL de sérum a été ajouté à ce milieu. Après agitation, la densité optique a été mesurée toutes les minutes pendant 3 min au spectrophotomètre à 405 nm.

L'activité enzymatique de la  $\gamma$ -GT ( $F_x = 1111$ ) exprimée en UI/L a été déterminée suivant la formule :

$$\text{AE } \gamma\text{-GT} = \frac{\Delta\text{DO}}{T(\text{min})} \times 1111$$

#### 2-6-2-2-6. Dosage de la créatinine

##### Principe :

La créatinine a été mesurée à l'aide de la méthode colorimétrique ou de la réaction de Jaffé. En effet, dans des conditions alcalines, la créatinine forme un complexe coloré rouge orangé avec l'acide picrique. La concentration de la créatinine est liée à la vitesse de développement

de la coloration, qui peut être mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde  $\lambda$  de 500 nm.

**Protocole expérimental :**

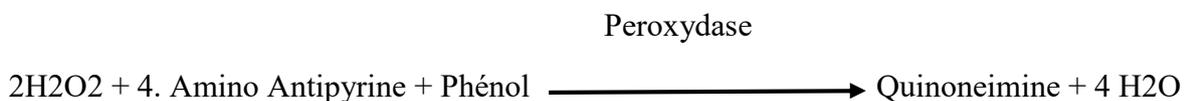
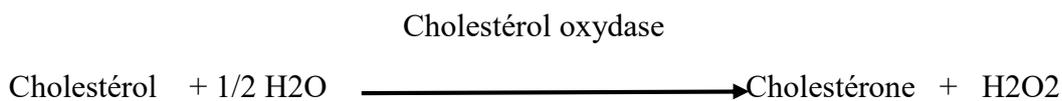
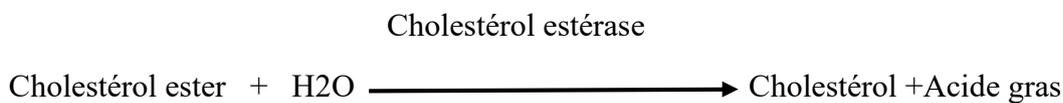
Pendant, une durée de 10 minutes, le milieu réactionnel ou contenant 0,5 mL d'acide picrique (17,5 mmol / L) et 0,5 mL d'hydroxyde de sodium (0,29 mol/L) à une température de 37°C. Par la suite, 0,10 uL du serum à doser a été ajouté. Le mélange a été agité pendant 90 secondes, puis les absorbances A1 et A2 de l'ensemble du milieu ont été obtenues selon la densité optique au spectrophotomètre à une longueur d'onde  $\lambda$  de 500 nm.

|   |
|---|
| $\text{Concentration de la créatinine en mg/l} = \frac{(A2 - A1) \text{ Echantillon}}{(A2 - A1) \text{ Etalon}} \times \text{Concentration étalon}$ |
|---|

Concentration étalon de créatinine = 20 mg/L

**2-6-2-2-7. Dosage du cholestérol total**

Les réactions combinées entre le cholestérol libre et le cholestérol estérifié dans un échantillon produisent un complexe coloré qui peut être mesuré au spectrophotomètre à une longueur d'onde  $\lambda$  de 500 nm.



**• Protocole expérimental**

Dans un milieu réactionnel de 1 mL contenant du PIPES (acide pipérazine-1,4-bis (éthane-2 sulfonique)) à 35 mmol/L, du cholate de sodium (0,5 mmol/L), du phénol (>28 mmol/L), du cholestérol estérase (>0,2 UI/mL), du cholestérol oxydase (>0,1 UI/mL), peroxydase (>0,8 UI/L), 4-Amino antipyrine (0,5 mmol/L), à un pH de 7,0 ; 0,01 uL du serum à doser. Après agitation automatique, l'ensemble a été incubé à température ambiante (37°C) pendant 10

minutes, la densité optique permet d'évaluer l'absorbance (Abs) du serum à doser en comparant avec le blanc réactif au spectrophotomètre à une longueur d'onde  $\lambda$  se situant à 500 nm selon la formule :

$$\text{Concentration du cholestérol en G/L} = \frac{\text{Abs Echantillon}}{\text{Abs étalon}} \times \text{Concentration Etalon}$$

Concentration étalon de cholestérol = 0,50 g/L      Abs : Absorbance

## 2-7. Prélèvement du foie

Après le prélèvement du sang au 28 jours, les foies ont été isolés puis lavés avec du liquide physiologique NaCl 0,9%. Les foies sont par la suite observés, photographiés puis pesés et les valeurs obtenues ont été notées.

### 2-7-1. Calcul du poids relatif du foie

Le foie est prélevé, pesé et photographié au jour 28. Ainsi ils ont été conservés dans du formol à 10 %. Le poids relatif (PR) du foie est calculé par rapport au poids corporel selon la formule :

$$\text{PR} = \text{Poids du foie (PF)} / \text{Poids corporel (PC)} \times 100$$

PR = Poids relatif, PF = Poids du foie, PC = Poids de l'animal

### 2-7-2. Examen macroscopique

D'ordre qualitatif, cet examen se limite à l'observation macroscopique de la structure externe du foie entier prélevé. Il prend en compte la couleur, la consistance et la texture

#### 2-7-2-1. Couleur

La couleur est un paramètre important dans le diagnostic des affections hépatiques. A l'état normal, le foie est de couleur marron vif. Un changement de couleur indique un état pathologique du foie

#### 2-7-2-2. Consistance

Le foie normal est ferme et mou au toucher. Une altération de ces aspects révèle une intoxication.

### **2-7-2-3. Texture**

Le foie normal a une texture lisse. Un changement de texture indique un état pathologique.

Après l'observation macroscopique des foies des animaux de chaque lot expérimental, ces foies ont été photographiés à l'aide d'un appareil photographique Kodak.

### **2-8. Analyse statistique**

Le traitement statistique des données et des représentations ont été effectués avec le logiciel GraphPad Prism® version 7.00 et Microsoft Excel Office version 2007. Les valeurs sont exprimées sous formes de moyennes plus l'erreur standard sur la moyenne (Moy±ESM). Les moyennes ont été déterminées avec les répétitions (n=4 ou 6). L'analyse de la variance (One-way ANOVA) suivi du texte de comparaison multiple de Newman-Keul ont été utilisées pour apprécier la significativité des différences observés. Le seuil de significativité a été fixé à 5% ( $p < 0,05$ ) dans le texte lorsque :

P > 0,05, la différence observée est non significative (ns)

\*\* P < 0,01, la différence observée est significative

\*\*\* P < 0,001, la différence observée est très significative

\*\*\*\* P < 0,001, la différence observée est hautement significative

**TROISIEME PARTIE :**  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

## **OJECTIF 1 : TRIPHYTOCHIMIE DU MEDICAMENT TRADITIONNEL AMELIORE (MTA)**

### **1-1. Introduction**

Les composés phytochimiques pharmacologiquement actifs sont des molécules issues du métabolisme des végétaux (métabolites).

Les substances actives d'une plante médicinale sont les éléments naturels qui la composent et lui confèrent son pouvoir thérapeutique. Ces grands groupes chimiques sont mis en évidence grâce à des réactions de coloration/précipitation, des techniques de chromatographies sur couches minces (CCM). La détection de ces composés repose sur le fait qu'ils provoquent des réactions chimiques en présence de réactifs adéquats.

### **1-2. Détermination de la composition phytochimique du MTA.**

Le triphytochimique a révélé la présence de diverses familles de composés chimiques dans notre MTA (Figures 9 et 10). Il a été noté la présence moyenne de tous les groupes de composés chimiques étudiés excepté les Tanins galliques.

Ce test qualitatif a montré une présence abondante de flavonoïdes, tanins catéchiques et de saponosides dans le MTA. Quant aux polyterpènes et stérols, de quinones et alcaloïdes, ils sont d'une présence moyenne, on note également une absence de tanins galliques.

L'analyse par la chromatographie sur couche mince a permis d'identifier plusieurs composés chimiques tels que de Polyterpènes et stérols, de quinones, d'alcaloïdes de flavonoïdes, de tanins (Figure 10).

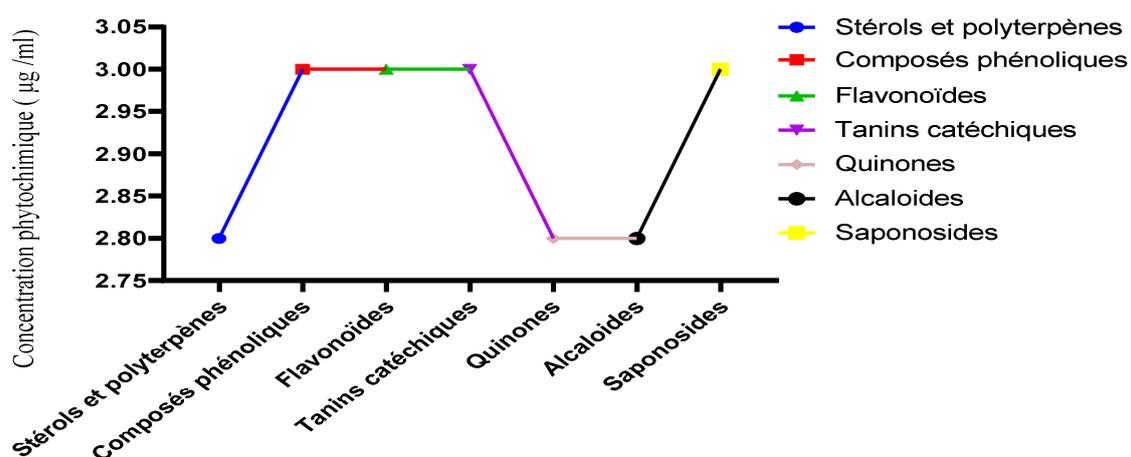


Figure 9 : Caractérisation Phytochimique du MTA (Colorimétrique)

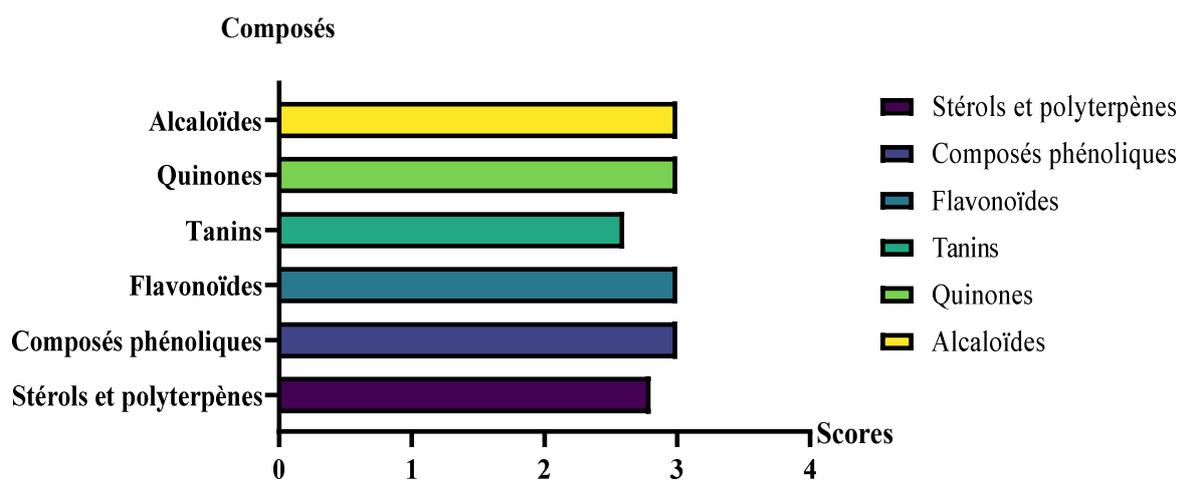


Figure 10 : Caractérisation Phytochimique du MTA (CCM)

### 1-3. Discussion partielle

L'analyse des résultats montre que le MTA contient les groupes chimiques recherchés à savoir les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins catéchiques, les quinones, les stérols et polyterpènes, les alcaloïdes et les saponosides dans la solution de MTA. D'une part nos résultats sont conformes à ceux de Lin *et al.*, (1997) et de Chen *et al.*, (2006) qui ont trouvé dans les feuilles de *Terminalia catappa* des flavonoïdes notamment la punicaline et la punicalagine. Les travaux de Chen *et al.*, (2000) ont également révélé dans les feuilles de *Terminalia catappa* la présence d'acide éllagique qui est un tanin. Ces différents auteurs ont démontré que ces composés chimiques ont une action protectrice sur le foie grâce à leurs propriétés antioxydantes. Celles-ci ont la capacité à piéger les radicaux libres et les réactives de l'oxygène et du stress oxydant. Ces antioxydants peuvent aider à protéger les dommages cellulaires causés par le stress oxydatif et aussi réduire le risque des maladies chroniques générées (Halliwell *et al.*, 1995 ; Cillard & Cillard 2006).

D'autre part les travaux de Lei *et al.*, (2022) ont montré que les feuilles de *Combretum micranthum* contiennent les flavonoïdes plus particulièrement la vitexine qui est un bioflavonoïde. En effet Leur étude a révélé les effets hépatoprotecteurs et le mécanisme d'action de la vitexine à la fois dans un modèle murin expérimental d'hépatite auto-immune (EAH) et dans les lésions hépatocytaires induites par la D galactosamine/lipopolysaccharide (D-GalN/LPS).

Leurs travaux ont montré que le traitement par la vitexine a significativement diminué l'infiltration des lymphocytes T inflammatoires et CD4<sup>+</sup> dans le foie, réduit les taux d'ALAT et d'ASAT dans le sérum et atténué les lésions hépatiques dues au stress oxydatif. De plus, la vitexine a inhibé l'apoptose et la surexpression des cytokines inflammatoires dans les cellules hépatiques traitées au D-GalN/LPS.

### 1-4. Conclusion partielle

Le triphytochimique basé sur des analyses particulières a révélé l'existence de polyphénols, de flavonoïdes, de saponines, d'alcaloïdes, de quinones, de polyterpènes et de stérols dans le MTA. Quant aux tanins, seule la présence de tanins catechique a été révélé.

Au regard de ces résultats, la suite de l'étude, a été consacrée à l'évaluation des activités hépatoprotectrice du MTA.

## OBJECTIF 2 : ETUDE DE LA TOXICITE DU MEDICAMENT TRADITIONNEL AMELIORE (MTA)

### 2-1. Introduction

La toxicité désigne la caractéristique des substances chimiques qui, en contact ou après leur entrée dans un organisme, ont la capacité de perturber le fonctionnement à l'échelle moléculaire, cellulaire ou organique. Par ailleurs, la toxicité hépatique causée par des médicaments peut prendre en compte tous les aspects de la maladie hépatique aiguë et chronique.

La toxicité aiguë concerne l'exposition rapide à une seule dose d'une ou de plusieurs substances sur une période n'excédant pas 24 heures (exposition de courte durée). Durant cette intoxication a été observée les signes cliniques, tel que la mort ou la guérison sur une période de 24 heures (1 jour). Puis les paramètres hématologiques et biochimiques ont été évalués.

### 2-2. Evaluation de la toxicité aiguë du MTA au jour 14

Les observations ont permis de mettre en évidence plusieurs signes cliniques de toxicité en comparaison aux témoins (Tableau IV).

L'administration par gavage des différentes doses allant de 500 à 5000 mg/kg de PC du MTA n'a entraîné aucun mort au niveau des différents lots de rats pendant les 14 jours d'expérimentation. L'extrait du MTA a une dose létale 50 (DL 50) supérieure à 5000 mg/kg PC (Tableau V).

**Tableau IV** : Signes cliniques de toxicité aiguë enregistrés après administration du MTA

| Signes cliniques | Lots          |              |               |               |               |
|------------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|
|                  | Eau distillée | 500 mg/kg PC | 1000 mg/kg PC | 2000 mg/kg PC | 5000 mg/kg PC |
| Pilosité         | -             | -            | -             | -             | -             |
| Vomissement      | -             | -            | -             | -             | -             |
| Sommeil          | -             | -            | -             | -             | -             |
| Diarrhée         | -             | -            | -             | -             | -             |
| Agressivité      | -             | -            | -             | -             | -             |
| Suffoquement     | -             | -            | -             | -             | -             |

Légende : (-) : effet négative ; (+) : effet positif

**Tableau V** : Mortalité des rates en fonction de la dose de l'extrait du MTA administrée par voie orale

| <b>Lots</b> | <b>Dose du MTA<br/>(<math>\mu</math>l / kg Pc)</b> | <b>Nombre de<br/>rates testées</b> | <b>Nombre de<br/>rates mortes</b> | <b>Mortalité (%)</b> |
|-------------|--|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------|
| <b>1</b>    | <b>eau distillé</b>                                | <b>3</b>                           | <b>0</b>                          | <b>0</b>             |
| <b>2</b>    | <b>500</b>   | <b>3</b>                           | <b>0</b>                          | <b>0</b>             |
| <b>3</b>    | <b>1000</b>  | <b>3</b>                           | <b>0</b>                          | <b>0</b>             |
| <b>4</b>    | <b>2000</b>  | <b>3</b>                           | <b>0</b>                          | <b>0</b>             |
| <b>5</b>    | <b>5000</b>  | <b>3</b>                           | <b>0</b>                          | <b>0</b>             |

### 2-3. Effet du MTA sur les paramètres hématologiques

Les variations des valeurs des paramètres hématologiques des rats après administration de l'extrait du MTA ont été inscrits dans le tableau VI montre que l'extrait médicamenteux a augmenté légèrement les taux des globules blancs (11 à 12 cellules / $\mu$ L), aux globules rouges (5 à 7,5 cellules/ $\mu$ L) aux doses de (500 ; 1000 ; 2000 ; 5000 mg/kg pc) par rapport aux lots (eau distillée) témoins. Il en est de même pour le taux d'hémoglobine (9,5 à 12,3) (tableau VI). S'agissant des plaquettes, une augmentation significative a été observée (505 à 707). Les meilleurs paramètres hématologiques sont observés à la dose de 5000 mg/kg pc. En outre, on remarque une baisse de la concentration de ces paramètres hématologiques à la dose de 5000 mg/kg pc par rapport au lot témoin ayant reçu que l'eau distillée (tableau VI).

**Tableau VI :** Valeurs des paramètres hématologiques des rats après l'administration de l'extrait du MTA

| Paramètres hématologiques             | Lots          |                 |                  |                  |                 |
|---------------------------------------|---------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|
|                                       | Eau distillée | 500 mg/kg<br>PC | 1000 mg/kg<br>PC | 2000 mg/kg<br>PC | 5000mg/kg<br>PC |
| Globules Blancs<br>(cellules/UL)      | 8,91 ± 0,110  | 11,23 ± 0,567   | 10,46 ± 0,42     | 12,6 ± 0,670     | 9,73 ± 0,12     |
| Globules Rouges<br>(cellules/UL)      | 5,03 ± 0,099  | 7,46 ± 0,443    | 7,62 ± 0,012     | 7,5 ± 0,011      | 5,63 ± 0,1      |
| Hémoglobines<br>(g/DL)                | 9,53 ± 0,145  | 12,76 ± 0,76    | 12,43 ± 0,23     | 12,36 ± 0,20     | 9,53 ± 0,145    |
| Plaquettes sanguines<br>(cellules/UL) | 505 ± 18,01   | 657 ± 20,90     | 633,33±19,1      | 707±21,4         | 449 ± 16,01     |

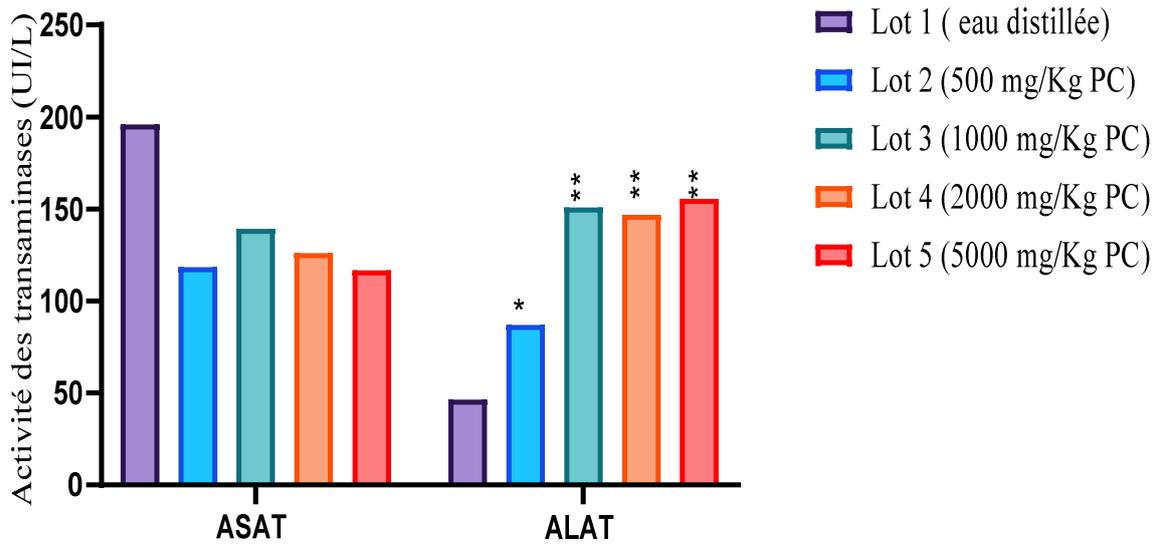
## 2-4. Effet du MTA sur les paramètres biochimiques

### 2-4-1. Effet du MTA sur les transaminases

Le traitement avec l'extrait du MTA a modifié les teneurs des transaminases chez les rats (Figure 11).

Le traitement préventif des lots (2, 3, 4 et 5) de rats par l'extrait du MTA aux doses de 500, 1000, 2000, 5 000 mg/kg de Pc), a révélé une diminution des teneurs de ASAT (118,90 à 117,01 mg/L) par rapport au lot témoin (196,23 mg/L).

Au niveau de ALAT, les teneurs sont passées de 46,80 (lot témoin) (lot 2) avec une différence de significativité ( $P < 0,05$ ) ; 151,30 ; 147,20 et 156,1 mg/L respectivement pour l'extrait de MTA qui présente le meilleur effet est à la dose de 2000 mg/kg de Pc des lots (3,4 et 5) avec un taux de significativité très élevé ( $p < 0,01$ ). (Figure 11)



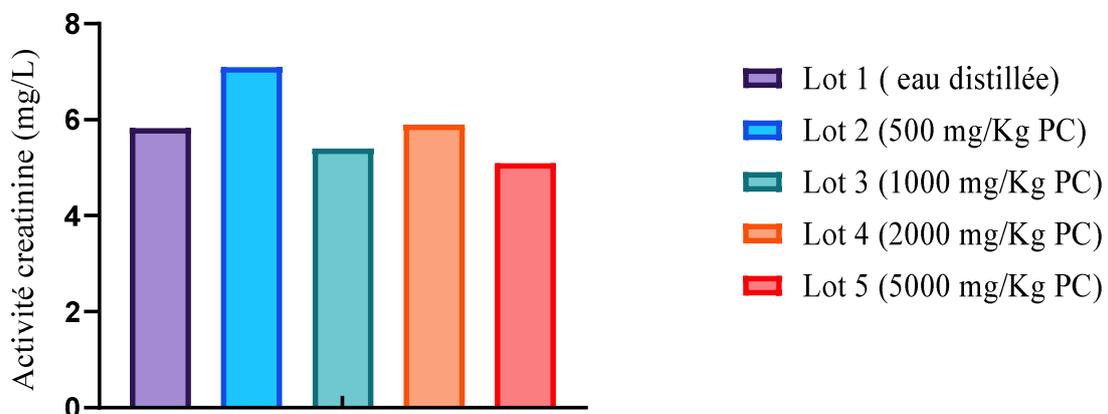
**Figure 11 :** Variation de l'activité des Transaminases

Les valeurs exprimées représentent la moyenne  $\pm$  ESM, avec  $n=4$  ; \*  $p < 0,05$  ; \*\*  $P < 0,01$ . ESM : Erreur Standard sur la Moyenne.

#### 2-4-2. Effet du MTA sur la créatinine

Le traitement avec l'extrait du MTA a modifié la teneur en créatinine des rats en baisse (Figure 12).

Le taux de créatinine des rats traités avec les différentes doses de l'extrait du MTA 500, 1000, 2000 et 5000 mg/kg de Pc passe de 7,1 à 5,10 mg/L, ces taux sont pratiquement similaires à celui du lot témoin (5,83 mg/L) (figure 12). Le meilleur effet est observé à la dose de 5000 mg/kg de Pc.



**Figure 12 :** Variation de l'activité en créatinine

### 2-4-3. Effet du MTA sur les triglycérides

Le traitement avec l'extrait du MTA a modifié la teneur en triglycérides des rats de 0,64 à 0,57 (Figure 13) comparativement au lot témoin (0,64 g/L). L'extrait médicamenteux (MTA) a eu un effet à la dose de 500 mg/Kg PC.

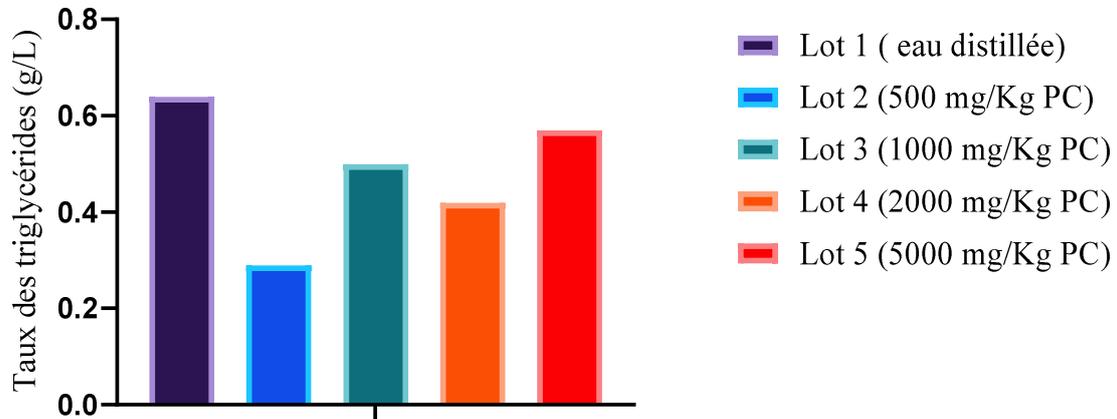


Figure 13 : Variation de l'activité des triglycérides

### 2-4-4. Effet du MTA sur le cholestérol total et HDL

Le traitement avec l'extrait aqueux du MTA a modifié le taux de cholestérol total et celui du HDL.

Ces taux augmentent en passant de la dose de 1000 à 5000 mg/Kg PC a provoqué une augmentation du taux de cholestérol total ( $0,94 \pm 0,00$  ;  $1 \pm 0,009$  ;  $0,75$  ;  $0,80 \pm 0,004$  g/L) par rapport au témoin ( $0,70 \pm 0,006$  g/L). Il en est de même pour le cholestérol HDL ( $0,35 \pm 0,002$  ;  $0,27 \pm 0,00$  ;  $0,29 \pm 0,005$  ;  $0,32 \pm 0,004$  g/L) comparativement au témoin ( $0,24 \pm 0,0043$  g/L). Par ailleurs, le MTA a révélé une bonne activité sur le taux de cholestérol total par rapport à celui du cholestérol HDL (Figure 14)

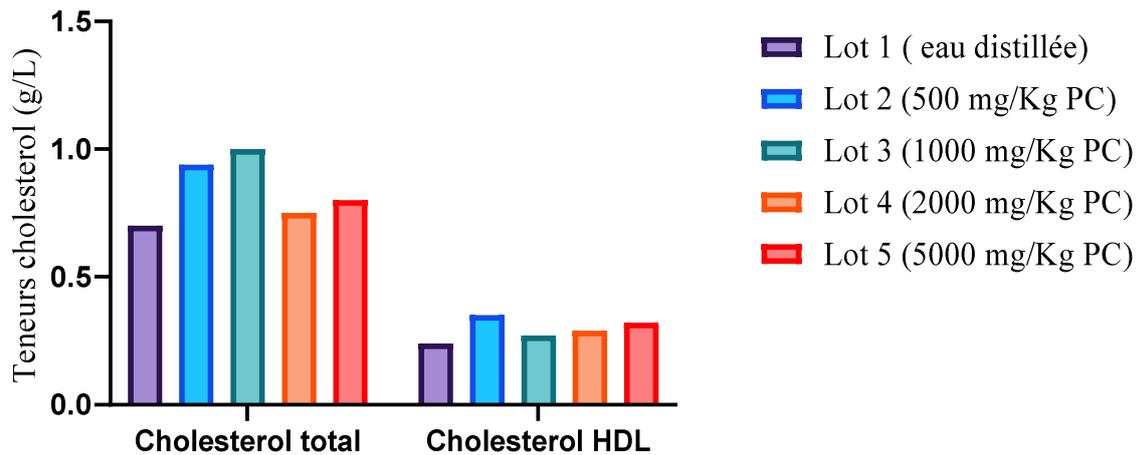


Figure 14 : Variation des teneurs en cholestérol

## 2-5. Discussion partielle

Au terme de ce travail, il ressort que l'extrait du MTA chez les rats a exercé ou pas des effets significatifs concernant les caractéristiques comportementales, physiques, hématopoïétiques et biochimiques. Les résultats des tests de toxicité aiguë ont montré que, l'extrait du MTA ne modifie pas le comportement général et ne provoque pas la mort des rats jusqu'à la dose de 5000 mg/kg. Ces résultats traduisent que l'extrait n'est pas toxique et est bien toléré chez les rats. La dose létale du MTA se situerait donc à des doses supérieures à 5000 mg/kg.

Cette importante limite de DL50 indiquerait une large marge de sécurité de cet MTA. Selon le système de classification globalement harmonisé (SGH), le MTA serait classé dans la catégorie 5 des substances à toxicité aiguë relativement faible (OCDE, 2001) et est considéré comme une substance non toxique par voie orale. Cette activité peut être attribué à l'espèce *Combretum micranthum*. En effet nos résultats corroborent à ceux obtenus par Muttaka *et al.*, (2016) qui ont mené leurs travaux avec le décocté de *Combretum micranthum* à la dose de 5000 mg/kg sans aucun décès d'animaux sur une période. Cela prouve que *Combretum micranthum* est sans danger pour le foie. Le test de toxicité aiguë a permis d'observer, à la dose maximale de 2000 mg/kg et 5000 mg/kg des augmentations significatives du poids corporel, du taux de globules blancs, des activités de la phosphatase alcaline et du taux de triglycérides.

Ainsi, il est possible que les symptômes cliniques de la maladie causés par cet extrait, tels que la salivation et le sommeil, chez les rats, seraient associés aux effets des alcaloïdes et/ou des terpenoïdes de cet extrait sur le système nerveux. Effect les travaux de Kong *et al.*, 2021 et de Min *et al.*, 2022 ont effectivement montré que ces deux types de composés chimiques sont

réputées pour être des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, une enzyme qui contrôle l'action de l'acétylcholine, des neuromédiateurs impliqués dans la cognition et les contractions musculaires lors des mouvements.

S'agissant l'examen des paramètres hématologiques de cette étude, les effets de l'extrait du MTA sur les cellules sanguines ont montré une augmentation du taux d'hémoglobine et des globules rouges chez les animaux traités aux différentes doses comparativement au témoin. Cette augmentation du nombre de globules rouges et du taux d'hémoglobine des rats traités avec l'extrait du MTA peut-être utile dans la prévention de l'anémie souvent associée à la présence du *plasmodium* chez les malades. Cela peut être attribuable à l'espèce *Terminalia catappa* ces résultats sont similaires à ceux (Ghanayem, 1996) à la dose de 100 mg/kg par jour pendant 8 jours du décocté de *terminalia catappa* qui ont montré que l'augmentation du taux de globules blancs et de plaquettes sanguines chez les rats traités avec l'extrait aqueux du MTA permettent de renforcer le système immunitaire (Hariri *et al.*, 2011). Cela suppose que le MTA renferme des substances bioactives permettant de renforcer le système immunitaire en augmentant le taux de globules blancs (Atsamo *et al.*, 2011). Ces résultats confirment ceux de Kpemissi *et al.*, 2020. De même, les travaux de Jean-Paul *et al.* (2015) ont montré que la consommation d'aliments avec une teneur élevée en alcaloïdes (5050 µg/kg d'aliment) entraîne une augmentation significative de la concentration en globules blancs, en lymphocytes et en plaquettes sanguines, traduisant ainsi une stimulation de la défense immunitaire.

Sur le plan biochimique, une variation des paramètres a été observée chez les rats traités comparativement aux rats témoins. En effet, en ce qui concerne les transaminases, l'administration du MTA aux différentes doses a entraîné respectivement une diminution ou augmentation du taux de ASAT et de ALAT comparativement au témoin. De plus, aucun décès n'a été enregistré durant la période de l'expérimentation. Cela voudrait dire que ces 2 espèces de plantes n'ont pas d'effets toxiques notoires à la dose de 5000 mg/kg. Cependant, l'analyse des différentes doses du MTA a été révélée une variation significative sur les transaminases (ASAT et ALAT) chez les rats traités comparativement aux rats témoins. Selon les recherches menées par certains auteurs Bourqui *et al.*, 2021 et Kola, 2002, cela peut être dû à l'espèce de *Combretum micranthum* qui ont prouvé des actions néphroprotectrice, anti hypertensive, hypotensive, diurétique, anti-hyperglycémique, antimicrobienne, antioxydante et inhibitrice enzymatique de cette espèce.

La créatinine est un excellent marqueur de la fonction rénale, son augmentation ou sa diminution reflète d'un dysfonctionnement rénal (Sirwal *et al.*, 2004 ; Abdel-Moneim & Ghafeer., 2007). De plus le taux en créatinine est non significatif chez les rats traités

comparativement aux rats témoins. Cela confirme que notre MTA est non toxique sur les reins et que les fonctions rénales sont intactes. Cette activité rénale stable pourrait être attribuée à l'espèce *terminalia catappa*). En effet, les résultats de notre étude concordent avec ceux de Pincemail *et al.*, (1999), au cours des études épidémiologiques avec les écorces de *terminalia catappa* ont mis en évidence que les antioxydants protègent l'organisme contre les cancers.

Le dosage des taux de cholestérol total, de cholestérol HDL et des triglycérides n'a généré une significativité chez les rats traités comparativement aux rats témoins. Selon les travaux de Brusq *et al* (2008), l'alcaloïde pouvait diminuer le taux de cholestérol et de triglycéride par l'augmentation de l'expression de récepteur hépatique des lipoprotéines de faible densité en LDL et inhibé la synthèse des lipides dans les hépatocytes humains par l'activation de l'adénosine monophosphate-activité des protéine kinase.

Etant donné la présence des alcaloïdes dans notre decoction, on pourrait dire que stimule le système uminitaire.

## 2-6. Conclusion partielle

L'évaluation de la toxicité aiguë du Médicament Traditionnel Amélioré (MTA) a révélé une bonne activité chez les rats. C'est ce qui justifierait son usage. L'extrait du MTA a une dose létale 50 (DL 50) supérieure à 5000 mg/kg PC, de ce fait permet de le classer dans la catégorie 5 des substances non toxiques par voie orale.

A la dose de 5000 mg/kg PC de l'extrait du MTA, on observe une légère diminution et augmentation des valeurs hématologiques et biochimiques.

Pour approfondir cette étude, il serait important d'envisager l'activité hépatoprotectrice du Médicament Traditionnel Amélioré.

### OBJECTIF 3 : EFFETS PHARMACOLOGIQUES DU MEDICAMENT

#### TRADITIONNEL AMELIORE (MTA) SUR L'HEPATOTOXICITE INDUITE PAR LE PARACETAMOL CHEZ LES RATS WISTAR

##### 3-1. Introduction

L'enquête ethnopharmacologique révèle que le MTA est un remède de santé qui se présente sous forme de suspension buvable préparé de façon artisanale par un tradipraticien. Il est indiqué essentiellement dans les affections du foie (douleur de l'hypocondre droit, ascite amaigrissement, asthénie, fièvre, hépatomégalie). C'est dans cette optique que nous entreprenions d'évaluer l'effet pharmacologique (MTA) sur l'hépatotoxicité induite par le paracétamol chez les rats wistar

##### 3-2. Effet du MTA sur la structure du foie des rats intoxiqués avec le paracétamol

###### 3-2-1. Etats des poids relatifs des foies

Le poids relatif du foie chez les rats qui ont reçu uniquement le paracétamol est plus élevé soit  $4,91 \pm 0,15\%$ . Ce poids diminue de façon progressive chez les rats traités avec le N-acétylcystéine. Le poids relatif chez les rats traités à 400 mg/kg PC est de  $3,15 \pm 0,42\%$ , et celui chez les rats traités avec le N-acétylcystéine est de  $2,40 \pm 0,39\%$  (Tableau IX).

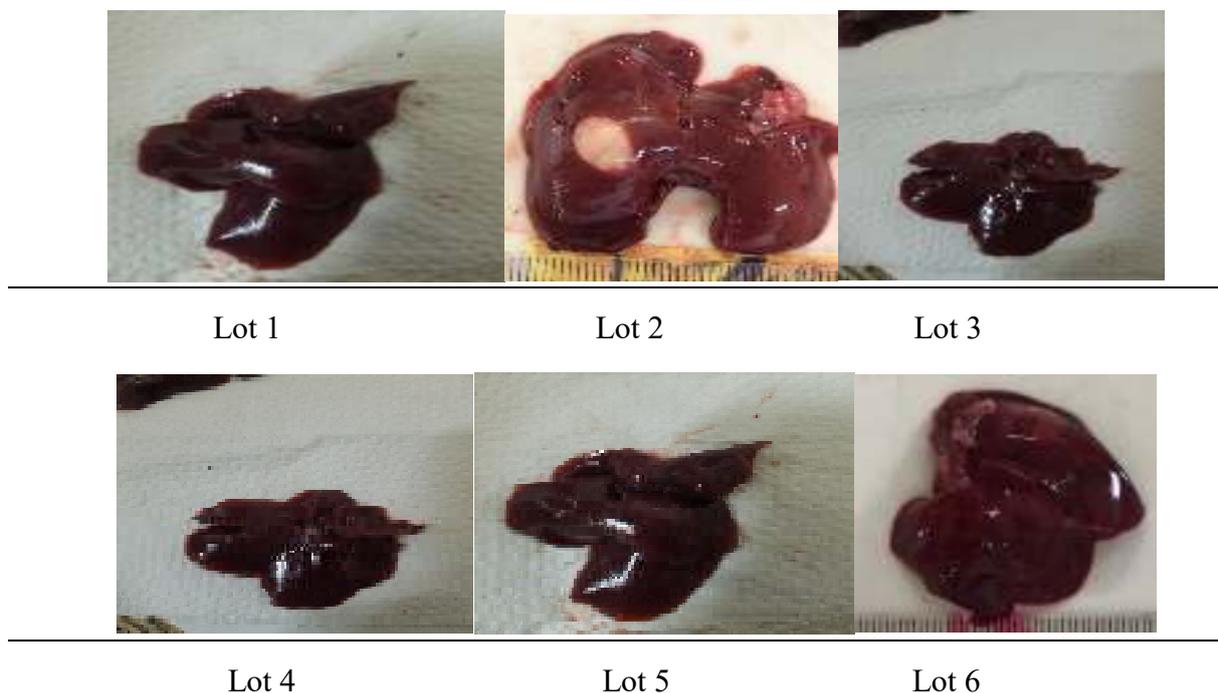
**Tableau VII : Poids relatifs du foie**

| Lot 1(eau distillée) | Lot2 (intoxiqués et non traités) | Lot 3 (100 mg/Kg PC N-acetyl) | Lot 4 (100 mg/Kg PC Extrait) | Lot 5 (200 mg/Kg PC Extrait) | Lot 6 (400 mg/Kg PC Extrait) |
|----------------------|----------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Poids relatif (%)    | Poids relatif (%)                | Poids relatif (%)             | Poids relatif (%)            | Poids relatif (%)            | Poids relatif (%)            |
| $3,58 \pm 0,46$      | $4,91 \pm 0,15$                  | $2,40 \pm 0,39$               | $3,27 \pm 0,22$              | $3,16 \pm 0,40$              | $3,15 \pm 0,42$              |

###### 3-2-2. Examen macroscopique du foie

L'observation macroscopique du foie des rats a été illustré par la (Figure 22). Il s'agit de comparer la couleur, la texture et la consistance des foies des rats qui ont reçu uniquement le paracétamol et ceux traités avec le N-acétylcystéine et les différentes doses d'extraits aqueux. Le foie (B) des rats ayant reçu uniquement le paracétamol a perdu sa consistance, sa texture et sa couleur. Les foies (C et D) intoxiqués des rats qui ont reçu le paracétamol et traités avec le

N-acétylcystéine ainsi qu'avec les différentes doses d'extraits du MTA sont semblables au foie non intoxiqué (A).



**Figure 22 :** Photographies des foies

A-Foie normal, B- Foie traité uniquement avec le paracétamol, C- Foie traité avec l'extrait 400 mg/Kg PC, D- Foie traité avec la N-acétyl cystéine

### 3-3. Paramètres hématologiques de l'hépatotoxicité induite avec le paracétamol chez les rats

Avant intoxication les valeurs normales des globules blancs, des globules rouges, de l'hémoglobine, de l'hématocrite, VGM, TCMH, CCMH et les plaquettes sanguines sont respectivement de  $11,43 \pm 1,234$  ( $10^3/U$ ) ;  $8,657 \pm 1,4992$  ( $10^6/U$ ) ;  $17,58 \pm 1,5896$  (g/dL) ;  $40,99 \pm 1,25$  (%) ;  $70,71 \pm 6,62$  (fl) ;  $27,23 \pm 1,504$ (Pg) ;  $33,48 \pm 1,123$ (g/dL) et  $335,8 \pm 63,82$  ( $10^3/UL$ ). (Tableau XII)

Après traitement, les taux de VGM ( $40,25 \pm 0,8947$  fl) et de TCMH ( $17,18 \pm 0,1641$  Pg) ont diminué comparativement aux taux de Globules rouges ( $20,89 \pm 1,1073$   $10^6/U$ ) ; Globules blancs ( $16,48 \pm 1,15$   $10^3/U$ ) ; Hématocrite ( $47,3 \pm 0,4787$  %) ; Hémoglobine ( $20,58 \pm 1,1216$  g/dL) ; CCMH ( $40,47 \pm 0,4485$  g/dL) et Plaquettes ( $650,4 \pm 50,75$   $10^3/UL$ ) (Tableau XII)

**Tableau VIII** : Paramètres hématologiques des rats avant intoxication et après traitement

| Paramètres Hématologiques    | Prélèvement avant induction | Prélèvement après induction |
|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Globules blancs ( $10^3/U$ ) | 11,43 ± 1,234               | 16,48 ± 1,15                |
| Globules rouges ( $10^6/U$ ) | 8,657 ± 1,4992              | 20,89 ± 1,1073              |
| Hémoglobine (g/dL)           | 17,58 ± 1,5896              | 20,58 ± 1,1216              |
| Hématocrite (%)              | 40,99 ± 1,25                | 47,3 ± 0,4787               |
| VGM (fl)                     | 70,71 ± 6,62                | 40,25 ± 0,8947              |
| TCMH (Pg)                    | 27,23 ± 1,504               | 17,18 ± 0,1641              |
| CCMH (g/dL)                  | 33,48 ± 1,123               | 40,47 ± 0,4485              |
| Plaquettes ( $10^3/UL$ )     | 335,8 ± 63,82               | 650,4 ± 50,75               |

### 3-4. Activité hépatoprotectrice du MTA après traitement

L'activité hépatoprotectrice du MTA a été évaluée à partir des concentrations des protéines totales, des transaminases glutamo-oxaloacétique (ASAT) et glutamo-pyruvique (ALAT), de la phosphatase alcaline (PAL), de la Gamma-Glutamyl Transférase ( $\gamma$ -GT), des bilirubines.

### 3-5. Paramètres biochimiques de l'hépatotoxicité induite avec le paracétamol chez les rats

Avant induction (Jour 0), les 6 lots de rats n'ont reçu que de l'eau distillée. L'administration par gavage à la dose 200 mg/Kg PC du paracétamol du premier au 14<sup>ème</sup> jour a modifié les valeurs des différents paramètres biochimiques des rats intoxiqués par rapport au témoin (lot 1). Ainsi au cours du traitement (du jour 1 au jour 28) du lot 3 à la dose de 100 mg/Kg PC de N-Acétyl et des lots 4 ; 5 et 6 aux doses respectives de (100,200 et 400 mg/Kg PC) de l'extrait du MTA ont présenté une bonne activité chez les rats par rapport aux rats intoxiqués non traités.

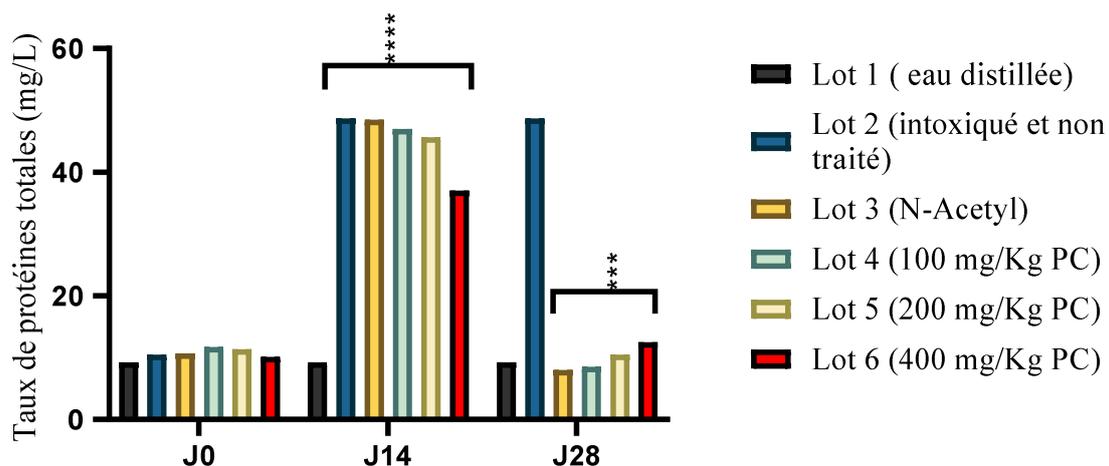
#### 3-5-1. Effet du MTA sur la concentration des protéines totales

La figure 15 présente la valeur en protéine totale après traitement des rats hépatiques avec le MTA et N-Acétylcystéine (molécules de référence).

Au jour 0, la concentration en protéine chez les rats non intoxiqués des lots n'a pas varié significativement.

Au 14<sup>ème</sup> jour, l'administration du paracétamol a entraîné une augmentation significative ( $p < 0,0001$ ) de la concentration des protéines totales des différents lots intoxiqués (lot 2, 3,4,5,6) comparativement à celle du lot 1 (eau distillée) (Figure 15).

Au 28<sup>ème</sup> jour, le traitement préventif des rats par le N-Acétylcystéine (100 mg/kg de Pc) et par l'extrait du MTA aux doses (100, 200,400 mg/kg de Pc), a généré une diminution du taux de protéines totales ( $8,000 \pm 2,828$  ;  $8,500 \pm 3,536$  ;  $10,50 \pm 0,7071$  et  $12,50 \pm 3,536$  mg/L) par rapport à celui du lot témoin intoxiqué et non traité ( $14,50 \pm 0,7071$  mg/L) avec un taux de significativité élevée ( $P < 0,001$ ). Par ailleurs, le traitement des lots statistiquement (4 ; 5 et 6) avec des différentes doses de l'extrait du MTA au 28<sup>ème</sup> a révélé des valeurs similaires à celle du lot 3 (N-acétylcystéine). Cependant les différences entre ces concentrations sont non significatives, ce qui n'est pas observé au niveau du lot 2 (témoin non traité). Ainsi, au 28<sup>ème</sup> jour le lot 3 (N-acétylcystéine) a présenté une différence significative ( $P < 0,001$ ) comparativement au du lot 1 à jour 0 (figure 15).



**Figure 15 :** Variation en protéines totales après traitement des rats intoxiqués avec le MTA et N-acétylcystéine

### 3-5-2. Effet du MTA sur l'activité enzymatique des transaminases

Les valeurs du dosage des transaminases sont représentés sur les figures 16 et 17.

Au jour 0, l'activité de ASAT des rats non intoxiqués des différents lots n'a pas varié significativement contrairement au lot 5

Au 14<sup>ème</sup> jour, l'administration du paracétamol a entraîné une augmentation significative ( $p < 0,0001$ ) de la concentration de ASAT ( $101,20 \pm 3,606$  ;  $98,50 \pm 1,364$  ;  $112,2 \pm 4,950$  ;  $96,40$

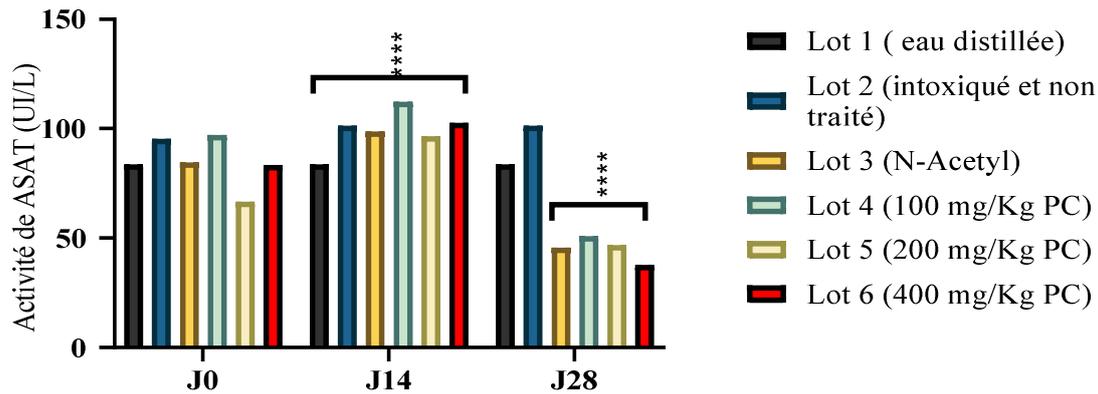
$\pm 1,155$  ;  $120,50 \pm 1,70$  UI/L) des différents lots intoxiqués (lot 2, 3,4,5,6) par rapport à celle du lot 1 ( $83,50 \pm 20,57$  UI/L) (Figure 16).

Au 28<sup>ème</sup> jour, le traitement des rats avec le N-Acétylcystéine à la dose de 100 mg/kg de Pc et l'extrait du MTA aux doses de 100, 200,400 mg/kg de Pc a généré une diminution du taux de ASAT ( $45,4 \pm 1,7071$ ,  $50,80 \pm 1,657$ ,  $46.7,00 \pm 1,02$ ,  $37,7 \pm 1,61$ UI/L) par rapport à celui du lot témoin intoxiqué et non traité ( $101,20 \pm 3,707$ UI/L) avec un taux de significativité très élevé ( $P < 0,0001$ ). Par ailleurs, le traitement des lots (4, 5 et 6) avec les différentes doses de l'extrait du MTA au 28<sup>ème</sup> a révélé des valeurs sensiblement égales à celle du lot 3 (N-acétylcystéine), on note que les différences entre ces concentrations sont non significatives. Ce qui n'est pas observé au niveau du lot 2 (témoin non traité). Aussi, au 28<sup>ème</sup> jour une différence significative ( $P < 0,0001$ ) est observée au niveau des lots ayant reçu la dose de N-Acétyl et les doses du MTA par rapport à ceux du lot 1 à jour 0.

Concernant ALAT au jour 0, la valeur des paramètres des rats non intoxiqués des lots (2 ,3,4, 5 et 6) n'a pas varié significativement contrairement au lot 1.

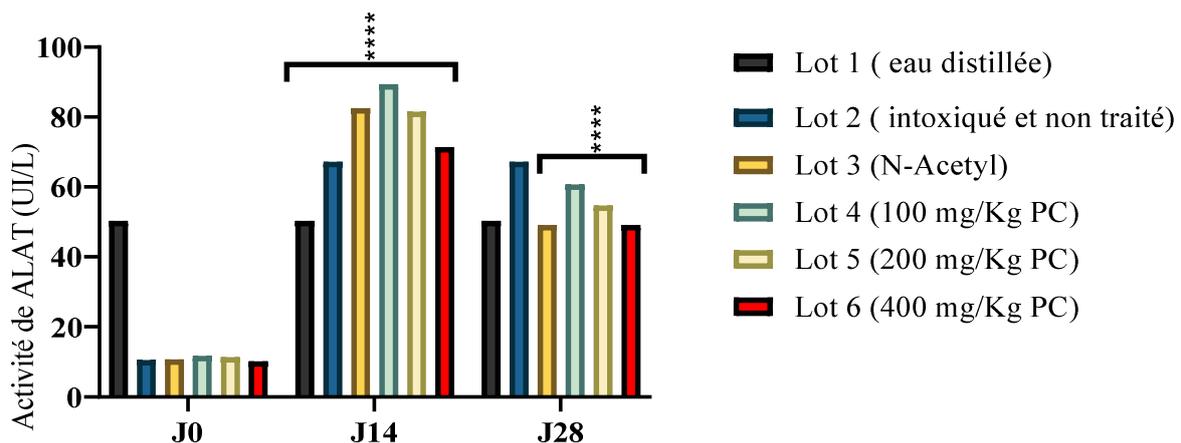
Cependant, au 14<sup>ème</sup> jour, l'administration du paracétamol a provoqué une augmentation significative ( $p < 0,0001$ ) de la concentration de ALAT ( $67,2 \pm 22,51$  ;  $82,50 \pm 34,13$  ;  $89,4 \pm 30,70$  ;  $81,50 \pm 30,58$  ;  $71,40 \pm 26,28$  UI/L) des différents lots intoxiqués (lot 2, 3,4,5,6) par rapport à celle du lot 1 ( $50,25 \pm 18,11$  UI/L) (Figure 17).

Au 28<sup>ème</sup> jour, le traitement des rats avec le N-acétylcystéine (100 mg/kg de Pc) et l'extrait du MTA aux doses de 100, 200,400 mg/kg de Pc, présente une diminution du taux de ALAT ( $49,10 \pm 18,53$  ;  $60,7 \pm 30,24$  ;  $54,7 \pm 19,65$  ;  $49,10 \pm 17,071$  UI/L) par rapport à celui du lot témoin intoxiqué et non traité ( $67,2 \pm 22,51$  UI/L) avec un taux de significativité très élevé ( $P < 0,0001$ ). Par ailleurs, le traitement des lots (4,5 et 6) avec des différentes doses de l'extrait du MTA au 28<sup>ème</sup> a révélé des valeurs sensiblement égales à celle du lot 3 (N-acétylcystéine) et à celui du lot 2 (témoin non traité), et les différences observées entre ces concentrations sont non significatives. En outre, au 28<sup>ème</sup> jour une différence significative ( $P < 0,0001$ ) est observée chez les lots ayant reçu la dose de N-Acetyl et les différentes doses du MTA comparativement à ce qui est observé chez les animaux du lot 1 à jour 0.



**Figure 16 :** Variation de l'activité de ASAT après traitement des rats intoxiqués avec le MTA et N-acétylcystéine

Les valeurs exprimées représentent la moyenne  $\pm$  ESM, avec  $n = 4$  ; \*\*\*  $P < 0,001$  ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$ .



**Figure 17 :** Variation de l'activité de ALAT après traitement des rats intoxiqués avec le MTA et N-acétylcystéine

Les valeurs exprimées représentent la moyenne  $\pm$  ESM, avec  $n = 6$  ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$

### 3-5-3. Effet du MTA sur l'activité enzymatique des Phosphatases Alcalines (PAL)

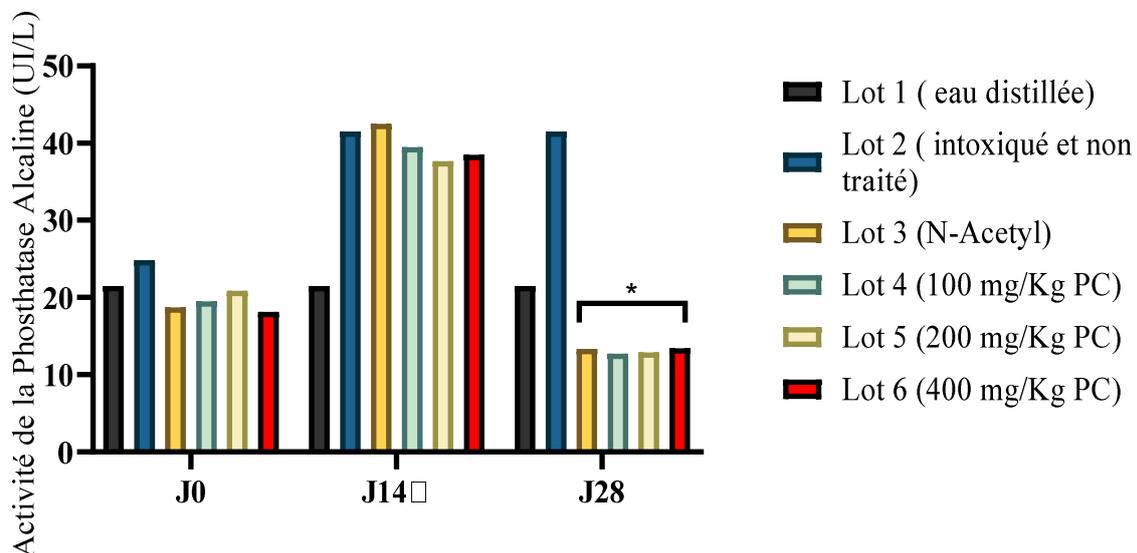
Les résultats du dosage des phosphatases alcalines sont représentés sur la figure 18.

Au jour 0, l'activité de PAL des rats non intoxiqués des lots (1, 2, 3, 4, et 6) n'a pas varié significativement

Au 14<sup>ème</sup> jour, l'administration du paracétamol a entraîné une augmentation significative ( $p < 0,0001$ ) de l'activité de PAL ( $41,5 \pm 17,23$  ;  $42, \pm 17,60$  ;  $39,50 \pm 15,78$  ;  $37,7 \pm 15,6$  ;  $38,50$

$\pm 15,76\text{UI/L}$ ) des différents lots intoxiqués (lot 2, 3,4,5,6) comparativement à celle du lot 1 ( $21,50 \pm 8,737\text{UI/L}$ ) (Figure 18).

Au 28<sup>ème</sup> jour, le traitement des rats avec le N-acétylcystéine à la dose de 100 mg/kg de Pc et l'extrait du MTA aux doses de 100, 200,400 mg/kg de Pc a généré une forte diminution du taux de PAL ( $13,38 \pm 2,11$  ;  $12,77 \pm 1,81$  ;  $12,92 \pm 2,00$  ;  $13,46 \pm 2,1\text{UI/L}$ ) par rapport à celui du lot témoin intoxiqué et non traité ( $41,50 \pm 17,23\text{UI/L}$ ). Par ailleurs, le traitement des lots (4 ; 5 et 6) avec des différentes doses de l'extrait du MTA au 28<sup>ème</sup> a révélé des valeurs sensiblement égales à celle du lot 3 (N-acétylcystéine), on note que les différences entre ces concentrations sont non significatives, ce qui n'est pas observé au niveau du lot 2 (témoin non traité). Aussi, au 28<sup>ème</sup> jour une différence significative ( $p < 0,05$ ) est observée au niveau des lots ayant reçu la dose de N-Acetyl et les doses du MTA par rapport à ceux du lot 1 à jour 0.



**Figure 18 :** Variation de l'activité de la Phosphatase Alcaline après traitement des rats intoxiqués avec le MTA et N-acétylcystéine

Les valeurs exprimées représentent la moyenne  $\pm$  ESM, avec  $n = 6$  ; \*  $p < 0,05$

### 3-5-4. Effet du MTA sur l'activité enzymatique de Gamma Glutamyl Transférases

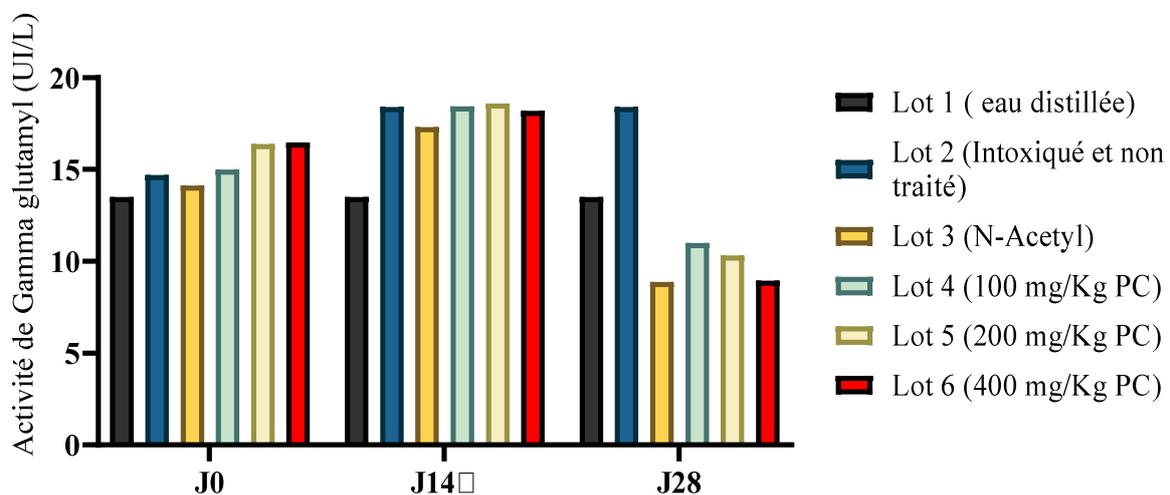
Les résultats du dosage des Gamma glutamyl Transférases sont représentés sur la figure 19.

Au jour 0, la concentration de Gamma des rats non intoxiqués des lots (1 ,2 ,3,4, et 6) n'a pas varié significativement

Au 14<sup>ème</sup> jour, l'administration du paracétamol a entraîné une augmentation de la concentration de Gamma ( $41,5 \pm 17,23$  ;  $42, \pm 17,60$  ;  $39,50 \pm 15,78$  ;  $37,7 \pm 15,6$  ;  $38,50 \pm$

15,76UI/L) des différents lots intoxiqués (lot 2, 3,4,5,6) comparativement à celle du lot 1 (21,50 ± 8,737UI/L) (Figure 19).

Au 28<sup>ème</sup> jour, le traitement des rats avec le N-acétylcystéine (100 mg/kg de Pc) et l'extrait du MTA aux doses (100, 200,400 mg/kg de Pc), a révélé une diminution du taux de Gamma (13,38 ± 2,11 ; 12,77± 1,81 ; 12,92 ± 2,00 ; 13,46 ± 2,1UI/L) comparativement au témoin intoxiqué et non traité (41,50 ± 17,23UI/L). Par ailleurs, le traitement des lots (4, 5 et 6) avec des différentes doses de l'extrait du MTA au 28<sup>ème</sup> a révélé des valeurs sensiblement égales à celle du lot 3 (N-acétylcystéine), on note que les différences entre ces concentrations sont non significatives, comparativement au lot 2 (témoin non traité). Aussi, au 28<sup>ème</sup> jour une baisse est observée au niveau des lots ayant reçu la dose de N-Acetyl et les doses du MTA comparativement au lot 1 à jour 0.



**Figure 19 :** Variation de l'activité de Gamma Glutamyl après traitement des rats intoxiqués avec le MTA et N-acétylcystéine

Les valeurs exprimées représentent la moyenne ± ESM, avec n =6

### 3-5-5. Effet du MTA sur la concentration des bilirubines

Les résultats du dosage des bilirubines sont représentés sur les figures 20 et 21.

Au jour 0, la concentration de la bilirubine totale des rats non intoxiqués des lots (1, 2, 3, 4, 5 et 6) sont similaire.

Au 14<sup>ème</sup> jour, l'administration du paracétamol a entraîné une augmentation de la concentration de bilirubine totale (0,935 ± 0,0789 ; 7,333 ± 2,87; 9,27 ± 3,41; 8,09 ± 2,90; 7,48 ± 2,87; 6,50 ± 1,50 mg/L) des différents lots intoxiqués (lot 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6) comparativement à celle du lot 1 (0,935 ± 0,0789 mg/L) (Figure 20).

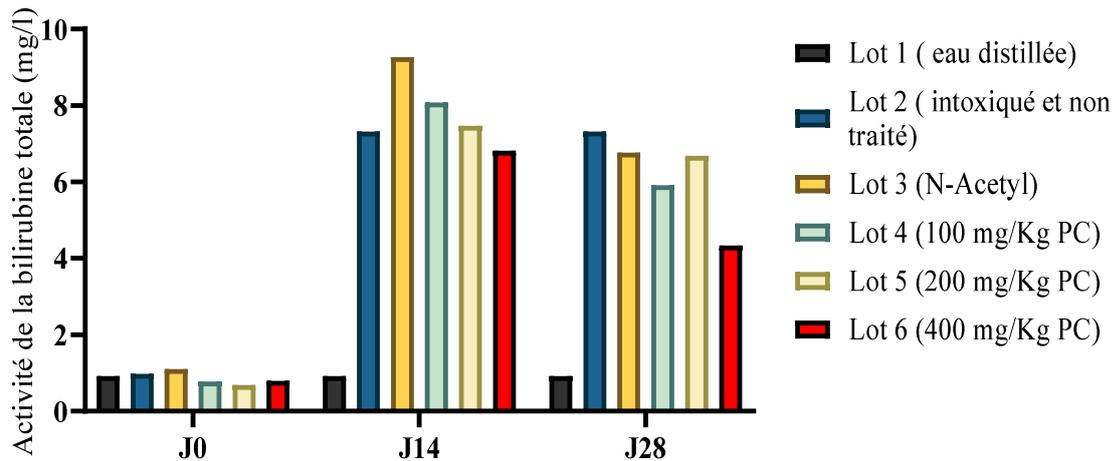
Au 28<sup>ème</sup> jour, le traitement des rats avec le N-acétylcystéine (100 mg/kg de Pc) et l'extrait du MTA aux doses (100 ; 200 ; 400 mg/kg de Pc), a révélé une légère diminution du taux de bilirubine totale ( $6,77 \pm 1,12$  ;  $5,92 \pm 1,707$  ;  $6,69 \pm 0,30$  ;  $4,35 \pm 0,24$  mg/L) comparativement au lot témoin intoxiqué et non traité ( $7,333 \pm 2,87$  mg/L). De plus, le traitement des lots (4 ; 5 et 6) avec des différentes doses de l'extrait du MTA au 28<sup>ème</sup> a montré des valeurs sensiblement égales à celle du lot 3 (N-acétylcystéine), on note que les différences entre ces concentrations sont non significatives. Ce qui n'est pas observé au niveau au lot 2 (témoin non traité). Aussi, au 28<sup>ème</sup> jour une proportionnalité a été observée chez rats des lots ayant reçu la dose de N-Acetyl et les doses du MTA comparativement à ceux du lot 1 à jour 0.

Les résultats du dosage de la bilirubine conjuguée sont représentés sur la figure 21

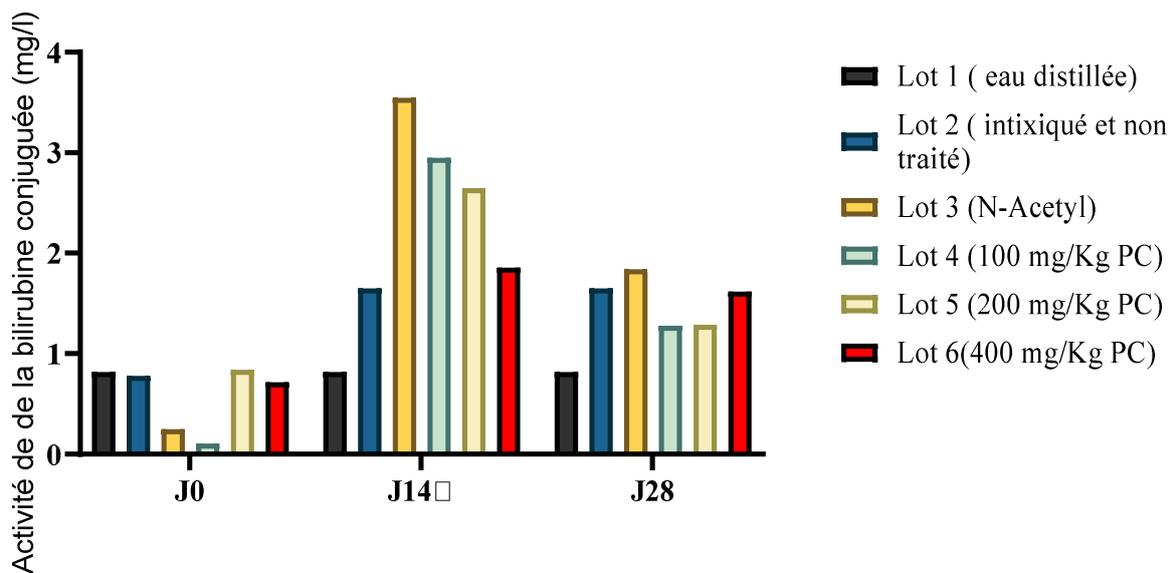
Au jour 0, la concentration de la bilirubine conjuguée des rats non intoxiqués des lots (1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 et 6) sont similaires.

Au 14<sup>ème</sup> jour, l'administration du paracétamol a entraîné une légère augmentation de la concentration de la bilirubine conjuguée ( $1,65 \pm 0,091$  ;  $3,55 \pm 0,52$  ;  $2,95 \pm 0,009$  ;  $2,65 \pm 0,09$  et  $1,86 \pm 0,063$ mg/L) des différents lots intoxiqués (2 ; 3 ; 4 ; 5 et 6) comparativement au lot 1 ( $0,82 \pm 0,081$ mg/L) (Figure 21).

Au 28<sup>ème</sup> jour, le traitement des rats avec le N-acétylcystéine (100 mg/kg de Pc) et l'extrait du MTA à différentes doses (100, 200,400 mg/kg de Pc) avec des valeurs ( $1,84 \pm 0,087$  ;  $1,28 \pm 0,123$  ;  $1,29 \pm 0,171$  ;  $1,62 \pm 0,05$  mg/L) sont égales à celle des valeurs du lot témoin intoxiqué et non traité ( $1,65 \pm 0,091$ mg/L). En effet, le traitement des lots (4 ; 5 et 6) avec des différentes doses de l'extrait du MTA au 28<sup>ème</sup> a révélé des valeurs similaires à celle du lot 3 (N-acétylcystéine), par conséquent les différences entre ces concentrations sont non significatives. Aussi, au 28<sup>ème</sup> jour une légère différence a été observée chez les rats du lot 3 ayant reçu la dose de N-Acetyl et les doses du MTA comparativement à ceux du lot 1 à jour 0.



**Figure 20 :** Variation de l'activité de la Bilirubine Totale après traitement des rats intoxiqués avec le MTA et N-acétylcystéine



**Figure 21 :** Variation de la Bilirubine Conjuguée après traitement des rats intoxiqués avec le MTA et N-acétylcystéine

### 3-6. Discussion partielle

Les affections hépatiques graves résultent d'une variété d'interactions entre les facteurs métaboliques et environnementaux. Elles sont caractérisées par une altération de la structure et des fonctions hépatiques, à l'origine qui ont des conséquences sur l'organisme. Dans cette étude, l'activité hépatoprotectrice d'un MTA issu de la médecine traditionnelle ivoirienne, a été évaluée chez le rat intoxiqué par le paracétamol.

L'induction de l'hépatotoxicité par le paracétamol a révélée une augmentation très significative ( $p < 0,0001$ ) de l'activité des transaminases glutamo-oxaloacétique (ASAT) et glutamo-pyruvique (ALAT). De plus, l'augmentation des taux de la phosphatase alcaline (PAL), et celle de la bilirubine totale ont été également très significative ( $p < 0,0001$ ) chez les rats intoxiqués et non traités comparativement aux rats témoins non intoxiqués. En outre, les résultats montrent aussi qu'il y a une augmentation des taux de protéines totales chez ces mêmes rats intoxiqués. L'augmentation de ces paramètres biochimiques dans le sang est la preuve que le paracétamol a provoqué des lésions hépatocytaires dont l'une des conséquences est la libération des enzymes intracellulaires à la suite de la destruction des cellules hépatiques.

Les résultats obtenus des rats traités de façon préventive par l'extrait du MTA puis intoxiqués avec le paracétamol montrent que ces extraits de MTA ont réduit les effets hépatotoxiques du paracétamol. En effet l'extrait médicamenteux a diminué l'activité des transaminases (ASAT, ALAT) des rats intoxiqués traités. En effet l'effet hépatoprotecteur du MTA serait certainement dû aux flavonoïdes se trouvant dans les feuilles de *Terminalia catappa*. Selon Lin *et al.*, (1999) et Chen *et al.*, (2006) les composés tel que les flavonoïdes auraient une activité hépatoprotectrice à travers leur action antioxydante. Cette activité hépatoprotectrice pourrait également être due à un bioflavonoïde issu des feuilles de *Combretum micranthum*, cette molécule notamment la vitexine isolée respectivement par Tine *et al.*, (2021) et Lei *et al.*, (2022). Par ailleurs ces auteurs ont montré que la vitexine qui est un éllagitanin réduit le taux de ALAT et de ASAT, diminue également l'infiltration des lymphocytes T inflammatoires et des CD4. De plus les taux de la phosphatase alcaline (PAL), des protéines totales et de la bilirubine totale ont été baissés chez les animaux traités au MTA comparativement aux rats intoxiqués et non traités. Nos travaux concordent à ceux de Bruneton, 1993, qui a mené une étude sur les feuilles de *Terminalia Catappa* et ont révélées les propriétés astringentes des tanins luttent contre les infections du fait de leur capacité à complexer les macromolécules, en particulier les protéines : enzymes digestives et autres, protéines fongiques ou virales. Ce qui serait notre cas avec cette solution de MTA

Par ailleurs, l'extrait du MTA est beaucoup plus actif à 400 mg/kg. Ainsi, la réduction significative ( $p < 0,0001$ ) de l'activité des transaminases (ASAT et ALAT) par l'extrait médicamenteux à cette concentration (400 mg/kg) du MTA est une indication non seulement de la stabilisation des membranes des hépatocytes, mais aussi de la réparation du tissu hépatique, provoqués par le paracétamol. Ces résultats confirment les travaux de ces chercheurs (LIN & coll., 2001) ont montrés l'activité antioxydante de *Terminalia catappa* qui

pourrait éventuellement justifier son utilisation dans les affections hépatiques notamment dans les hépatites virales.

A l'instar du N-Acétylcystéine, le traitement avec l'extrait du MTA entraîne une diminution des taux de protéines totales chez ces animaux, indiquant ainsi une reprise du fonctionnement normal des hépatocytes. De plus l'activité antivirale de *Combretum micranthum* sur les virus de l'herpès simplex (type 1 et 2) a été attribuée aux tanins (Ferrea & coll., 1993) serait également une preuve de l'efficacité de notre MTA

Malgré cette activité observée, l'extrait du MTA n'a pas eu d'effet sur la bilirubine conjuguée et le gamma glutamyl transférase. En effet, la bilirubine totale est le produit de dégradation de l'hémoglobine des globules rouges et cette activité serait due à une hémolyse.

En ce qui concerne les poids relatifs du foie, il faut noter que les plus faibles ont été enregistrés chez les rats traités respectivement avec le MTA et le N-acétylcystéine à la dose de l'extrait du MTA maximale de 400 mg/kg PC et 100 mg/kg PC pour le N-acétylcystéine. Ces résultats sont conformes avec ceux de Gargouri *et al.*, (2023). Les données obtenues indiquent également que les rats qui ont été intoxiqués uniquement par le paracétamol sans traitement ont subi une augmentation de leurs foies.

L'intoxication au paracétamol a généré un changement des caractéristiques que sont la couleur, la texture et la consistance du foie. Nos études sont similaires à celles de Fleurenti & Joyeux (1990) qui ont montré une atteinte du foie à partir d'une intoxication. Cependant l'administration de l'extrait médicamenteux, a régénéré la couleur, la texture et la consistance du foie. Ces résultats sont identiques à ceux de Felmann (1989) qui a montré l'action des extraits de plante sur les caractéristiques macroscopiques du foie intoxiqué.

D'autre part, les études réalisées après traitement ont révélées une augmentation significative des taux des globules rouges, des globules blancs, de l'hématocrite, des hémoglobines et des plaquettes sanguines par rapport aux valeurs avant l'induction. La quantité élevée de globules blancs et de taux d'hémoglobine dans notre étude pourrait être due à une stimulation du système immunitaire par l'extrait du MTA qui favoriserait une production des cellules de l'immunité (Fahim *et al.*, 2012). Le taux élevé de plaquettes sanguines stimulé par l'extrait du MTA, pourrait être dû au fait que ces dernières sont des cellules sentinelles qui contribuent de manière non négligeable à l'immunité anti-infectieuse (Chabert *et al.*, 2017). Le taux de l'hémoglobine est resté sensiblement stable et ceux des globules rouges et de l'hématocrite ont augmenté. Selon Etame *et al.* (2017) le traitement avec *Terminalia catappa* a révélé une diminution des taux de TCMH (teneur en hémoglobine des globules rouges) et de VGM (volumes globulaire moyen) ont baissé après le traitement avec le MTA.

L'augmentation des taux des globules rouges, de l'hémoglobine, de l'hématocrite, CCMH et des plaquettes et la diminution des taux de VGM et la TCMH ont été observé après le traitement au MTA cela montre que le MTA pourrait avoir une bonne activité sur le système immunitaire (Muttaka *et al.*, 2016).

### **3-7. Conclusion partielle**

Cette étude a montré un effet hépatoprotecteur potentiel de notre extrait de MTA chez les rats atteints d'hépatotoxicité induite. Cette bonne propriété justifie l'utilisation des plantes en médecine traditionnelle pour le traitement des affections liées au foie.

# **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

La connaissance des propriétés médicinales des plantes traditionnelles est un enjeu important pour la santé publique dans le monde et surtout en Afrique où elles sont les plus utilisées. Les plantes généralement renferment des composés chimiques agissant comme cofacteur dans les métabolismes cellulaires pour faciliter les réactions biochimiques dans l'organisme. Ce travail avait pour but d'évaluer les effets curatifs de l'extrait d'un MTA sur l'hépatotoxicité induites expérimentalement chez les rats.

Le screening phytochimique de l'extrait du MTA a mis en évidence la présence les différents composés chimiques. Aussi l'étude de la toxicité aiguë a confirmé que l'extrait du MTA est bien toléré par chez les rats, c'est d'ailleurs ce qui pourrait expliquer son usage très multiple dans le monde rural. L'extrait du MTA a une dose létale 50 (DL<sub>50</sub>) supérieur 5000 mg/Kg PC de ce fait le MTA est classé dans la catégorie des substances non toxiques par voie orale.

L'administration du paracétamol a entraîné au niveau hépatique, des modifications significatives des paramètres biochimiques et hématologiques chez les rats intoxiqués.

Le traitement curatif des rats intoxiqués avec l'extrait du MTA a induit une amélioration des valeurs des différents paramètres. Cette amélioration a permis de vérifier le bon état de fonctionnement du foie qui est affecté par l'hépatite.

Ce travail a montré que ce MTA pourrait être utilisé pour prévenir les atteintes hépatiques.

En recommandations, le MTA devait être utilisé aux doses modérées ( $\leq 5000$  mg/Kg PC) dans le traitement de l'hépatopathie due à l'intoxication médicamenteuse au paracétamol.

De nos résultats, de nouvelles orientations d'investigation sur le MTA se dégagent constituant des éléments qui feront l'objet des prochains travaux : Nous souhaiterions ainsi

- Faire des coupes histologiques du foie.
- Procéder à une transformation du Médicament Traditionnel Amélioré (MTA) sous la forme de gélule.
- Evaluer la toxicité cellulaire et la biotolérance de l'extrait du MTA sur le foie, reins, la rate.
- Isoler et purifier les principes actifs de ce MTA impliqué dans l'hépatoprotection.

# **REFERENCES**

- Abbas A.K., Lichtman A.H. & Pillai S. (2012). Cellular and Molecular Immunology, seventh édition. *Elsevier Saunders*, 25(156) : 56-85.
- Abdel-Misih S.R.Z. & Bloomston M. (2010). Liver Anatomy. *Surgical Clinics of North America*, 90(4) : 643- 653.
- Abdel-Moneim W. M. & Ghafee H. (2007). The potential protective effect of natural honey against cadmium-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity. *Mansoura Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology*, 15 (2) : 75-98.
- Adebayo A.H., Zeng G.Z., Fan J.T., Ji C.J., He W.J., Xu J.J., Zhang Y.M., Akindahunsi A.A., Roseline K.R. & Tan N.H. (2010). Biochemical, haematological and histopathological studies of extract of *Ageratum conyzoides* L : *Sprague Dawley rats*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(21) : 2264-2272.
- Adeoti M.F., Djyh B.N., Djaman A.J., Guédé-Guina F. & Sess E.D. (2010). Méthode d'extraction et de purification de la mansonine d'écorces de *Mansonia altissima*. *Journal scientifique Pharmacologie Biologie*, 11 (2): 6-12.
- Adjanohoun E., Ake- Assi L., Eymê J., Gassita J.N., Goudot J. E., Guêho J., Jackaria D., Kalachand S.K.K., Keita A., Koudogbo B., Landreau D., Owadally A.W. & Soopramanien A. (1983). Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques à Maurice (Iles Maurice et Rodrigues), ACCT, Paris, France, 214 p.
- Ahoussou N., Koffi G. & Sangare A. (1995). Côte d'Ivoire : Rapport de pays pour la conférence internationale de la FAO sur les ressources phytogénétiques (Leipzig, 1996, Allemagne), 75p.
- Akakpo-Akue J., Kplé T.K.M., Coulibaly K., AHON G.M., Fofié Y., Yapo-Crezoit A., Zirihi G.N. & Kra A.K.M. (2020). Ethnobotanical study of medicinal plants used against sickle cell anaemia in the eastern part of the Côte d'Ivoire. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 45(1) : 7839-7852.
- Ake-Assi L. & Guinko S. (1991). Plantes utilisées dans la médecine traditionnelle en Afrique de l'Ouest. Edition. Roches, paris, France, 151p.
- Ake-Assi L. (2002). Flore de la Côte d'Ivoire, catalogue systématique, biogéographie et Ecologique, 2 boissiera 58, Mémoire de botanique systématique, 171p.
- Akindele A. & Adeyemi O. (2007). Antipyretic activity of *Byrsocarpus coccineus* Schum.and Thonn. (Connaraceae). *International Journal of Pharmacology*, 3(4) : 357–361.
- Alkurd A., Hamed T.R. & Al-Sayyed H. (2008). Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4 : 265 - 274.

- Amennoudji A., Koude D. & Ake-Assi L. (1990). Contribution à la connaissance de la flore ouest africaine. Rapport de stage au centre national de floristique d'Abidjan, 78 p.
- Andreone P., Fiorino S., Cursaro C., Gramenzi A., Margotti M., Giammarino D.I.L., Biselli M., Miniero R., Gasbarrini G. & Bernardim. (2001). Vitamin E treatment for chronic hepatitis B: results of a randomized controlled pilot trial. *Antiviral Research*, 49: 75-81.
- Aniszewski T. (2015). Alkaloids : chemistry, biology, ecology, and applications. *Elsevier*, 23(524) : 469-622.
- Anna E. (2020). Présentation de l'hépatite virale aiguë : [https:// www.msmanuals .com /fr/accueil/troubles- du-foie-et-de-la- v%C3%A9sicule-biliaire /h% C3%A9patite /pr%C3%A9sentation-del%E2%80%99h%C3%A9patite-virale-aigu%C3%AB](https://www.msmanuals.com/fr/accueil/troubles-du-foie-et-de-la-v%C3%A9sicule-biliaire/h%C3%A9patite/pr%C3%A9sentation-del%E2%80%99h%C3%A9patite-virale-aigu%C3%AB). 10P. Consulté le 27-12-2020.
- Anonyme 1. (2009). Hépatite virale. Rapport du Secrétariat du Conseil Exécutif de l'OMS. EB126/15, 12 novembre 2009. [http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/EB126\\_15-en.pdf](http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB126_15-en.pdf). 8P. Consulté le 25 avril 2020.
- Anzouan-Kacou H.K., Dehinsala M., Bangoura A.D., Kouamé D.H., Doffou A.S. & Mahassadi A.K. (2022). Aspects socio-économiques de la prise en charge des hépatites virales chroniques en Côte d'Ivoire. *Annales Africaines de Médecine*, 15 (4) : 4770 - 4778.
- Arimura G., Ozawa R., Shimoda T., Nishioka T., Boland W. & Takabayashi J. (2000). Herbivory- induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. *Nature*, 406 (6795) : 512-515.
- Atsamo A.D., Nguiefack T.B., Datté J.Y. & Kamanyi A. (2011). Acute and subchronic oral toxicity assessment of the aqueous extract from the stem bark of *Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae) in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 134 : 697-702.
- Ayoub B. (2018). Toxicologie générale- Généralités, formes d'intoxications. Fiche technique, Mémoire de l'Université catholique, 50, San Antonio (Etats-Unis) 14-29.
- Badiaga M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de Doctorat en Chimie Organique, UFR des Sciences et Techniques, Université de Bamako (Mali), 183 p.
- Bechmann L.P., Hannivoort R.A., Gerken G., Hotamisligil G.S., Trauner M. & Canbay A. (2012). The interaction of hepatic lipid and glucose metabolism in liver diseases. *Journal of Hepatology*, 77(243) : 152-164.

- Békro Y.A., Békro J.A.M., Boua B.B., Tra B.F.H. & Ehilé E.E. (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Caesalpinaceae). *Revue des Sciences Naturelles*, 4(2) : 217-225.
- Ben A. & Khedher M. (2010). Frequency and antibiotic resistance in uropathogenic bacteriain the university hospital tahar sfar. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, 4 : 57-61.
- Biour M., Poupon R., Grange J.P., Chazouilleres O. & Jaillon P. (1998). Hépatotoxicité des médicaments : 12<sup>ème</sup> mise à jour du fichier bibliographique des atteintes hépatiques et des médicaments responsables. *Gastroenterologie Clinique Biologique*, 22: 1004-1044.
- Bittar M., Maria de Sousa S., Yunes R., Lento R., Monache F.D. & Filho V.C. (2000). Antinociceptive activity of 13, 118- Binaringenin, a biflavonoid present in plants of the Guttiferae. *Planta Medica*, 66 : 84-86.
- Boisclair J., Dore M., Beauchamp L., Chouinard L. & Girard C. (2001). Characterization of the inflammatory infiltrate in canine chronic hepatitis. *Veterinary Pathology*, 38 : 628-635.
- Bose A., Mondal S., Gupta J. K., Ghosh T., Dash G. K. & Si S. (2007). Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the ethanolic extract and its fractions of *Cleome rutidosperma*. *Fitoterapia*, 78 (7-8) : 515 - 520.
- Bouayed J., Rammal H., Younos C., Dicko A. & Soulimani R. (2008). Caractérisation et bioévaluation des polyphénols : nouveaux domaines d'application en santé et nutrition. *Springer*, 6 : 71-74.
- Bourqui, A., Niang, E. A. B., Graz, B., Diop, E. A., Dahaba, M., Thiaw, I., ... & Seck, S. M. (2021). Hypertension treatment with *Combretum micranthum* or *Hibiscus sabdariffa*, as decoction or tablet: A randomized clinical trial. *Journal of Human Hypertension*, 35(9), 800- 808.
- Bravo L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56: 17-33.
- Bréchet C., Scotto J., Charnay P., Hadchouel M., Degos F. & Tiollais P. (1981). Detection of hepatitis B virus DNA in liver and serum : a direct appraisal of the chronic carrier state. *Lancet*, 2 : 765-768
- Brüll V., Burak C. & Stoffel-Wagner B. (2015). Effets d'un extrait de peau d'oignon riche en quercétine sur la pression artérielle ambulatoire de 24 h et la fonction endothéliale chez les patients en surpoids ou obèses souffrant de (pré-) hypertension : un essai croisé randomisé en double aveugle contrôlé par placebo. *British Journal Nutrition*, 114 : 1263-1277.

- Bruneton J. (1993) Pharmacognosie : Phytochimie des plantes médicinales ; Technique et documentation – Lavoisier, Paris ; 915 p.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie et plantes médicinales. Tec & Doc et médicales internationales, 3eme édition, Paris (France), 726 p.
- Bunchorntavakul C. & Reddy K. R. (2018). Acetaminophen (APAP or N-Acetyl-pAminophenol) and Acute Liver Failure. *Clinics in liver disease*, 22(2) : 325 - 346.
- Burkill H.M. (1997). The useful plants of West Tropical Africa. Ed. 2. Royal Bot. *Garden Kew*. 138-140 : 546-547.
- Calzada F., Yepez-Mulia L. & Tapia-Contreras A. (2007). Effect of Mexican medecinal plant used to treat tricomoniasis on *Trichomonas vaginalis* trophozoites. *Journal of Ethnopharmacology*, 113 : 248-251.
- Cazaux J. (2002). Etude de plantes riches en tannins et de leur activité antihelminthique sur les parasites intestinaux de la chèvre. Mémoire de stage de DEA Agro-ressources, option Elaboration, Université Paul Sabatier, Toulouse (France), 53 p.
- Center S.A. (1999). Chronic liver disease: current concepts of disease mechanisms. *Journal of Small Animal Practice*, 40: 106-114.
- Chavez J.H., Leal P.C., Yunes R.A., Nunes R.J., Barardi C.R.M., Pinto A.R., Simoes C.M.O., Carlos R. & Zanetti C.R. (2006). Evaluation of antiviral activity of phenolic compounds and derivatives against rabies virus. *Veterinary Microbiology*, 116: 53-59.
- Chen P.S., Li J. H., Liu T. Y. & Lin T. C. (2000). Folk medicine *Terminalia catappa* and its major tannin component, punicalagin, are effective against bleomycin-induced genotoxicity in Chinese hamster ovary cells. *Cancer Letters*, 152 : 115-122.
- Chen P.S. & Li J.H. (2006). Chemopreventive effect of punicalagin, a novel tannin component isolated from *Terminalia catappa*, on H-ras-transformed NIH3T3 cells. *Toxicol-Letters*. 163(1) : 44 - 53.
- Chiba F., Adila F., Brahimi T. & Zitouni A. (2022). Prévalence de l'hépatite aigue médicamenteuse secondaire aux antituberculeux. *Elsevier*, 14 (1): 264 -269.
- Choi J. & Ou J.H. (2006). Mechanisms of Liver Injury. III. Oxidative stress in the pathogenesis of hepatitis C virus. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 290: 847- 851.
- Cillard J. & Cillard, P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oleagineux, Corps Gras, Lipides*, 13 (1) : 24 -29.
- Conrad J., Vogler B., Klaiber I., Roos G., Walter U. & Kraus W. (2001). Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark. *Phytochemistry* ; 48 : 647 - 650.

- Cornière A. (2014). Les alcaloïdes de l'ergot : mycotoxines ré-émergentes ? Toxinogénèse et toxicité pour l'homme et les animaux. *Life Sciences*, 65(4) : 337-353.
- Custodio J.M., Wu C.Y. & Benet L.Z. (2008). Predicting drug disposition, absorption/elimination/transporter interplay and the role of food on drug absorption. *Advanced Drug Delivery reviews*, 60 : 717-733.
- Clement C., Scala-Bertola J., Gambier N., Petit pain N. & Trechot P. (2010). Unintentional overdose of paracetamol secondary to acute oral pain in a French hospital. Massfelder M-E 2014 : D'insuffisant hépatique au greff hépatique : Prise en charge odontologique. Université de lorraine, France, p 7.
- Daglia M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23: 174-181.
- De Novo R.C. (2006). Hépatites chroniques du chien. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 41 : 241-246.
- Devkota K.P. & Sewald N. (2013). Terpenoid alkaloids derived by amination reaction. *Natural products. Springer*, Berlin (Allemagne) 70 : 923-951.
- Diallo B., Vanhaelen-Fastre R., Vanhaelen M., Fiegel C., Joyeux M., Roland A., Fleurentin J., (1992). Further studies on the hepatoprotective effects of *Cochlospermum tinctorium* rhizomes. *Journal of Ethnopharmacology*, 36 (2) : 137-142.
- Diafouka A. & Lejoly J. (1993). Plantes hypotensives utilisées en médecine traditionnelle à Brazzaville (Congo). BARAB Actes du 2e Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de l'Ile Conférence internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg, 5p.
- Dohou N., Yamni k., Tahrouch S., Idrissi H.L.M., Badoc A. & Gemira N. (2003). Screenig phytochimique d'une endémique Ibero-Marocaines *Thymelaea lythroide*. *Bulletin des travaux de la société de pharmacie de Bordeaux*, 142 : 61-78.
- Dro B., Soro D., Koné M.W., Bakayoko A. & Kamanzi K. (2013). Evaluation de l'abondance de plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle dans le Nord de la Côte d'Ivoire. *Journal of Animal and Plant Science*, 3(17) : 2631-2646.
- 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., *V. Angustifolius*, *V. Odorata*, *B. hyrcana* and *C. Speciosum*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science*, 23(1) : 29-34.
- Elsevier-Masson. (2015). Abrège d'hépto-gastro-entérologie et de chirurgie digestive. 3 éme édition, CDU-HGE, paris, France : 536 p.

- Emile J F., Leteurte E., Guyétant S (2010). Pathologie générale ; Masson E France p (18-23), 41.
- Enel C., Du Loul D.A., Yoman N. T., Danel C. & Larmarange J. (2014). Les hépatites B et C en Côte d'Ivoire : l'urgence d'une dynamisation de la lutte. *7<sup>ème</sup> Conférence Internationale Francophone sur le VIH et les Hépatites*, 28-30 Avril 2014, Montpellier, France, 18 - 23.
- Epilly T. (2016). Maladies infectieuses et tropicales par le collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales. *European Journal of pharmacology*, 18 : 633 - 637.
- Etame L. G., Yinyang J., Okalla E. C., Makondo B. V., Ngaba G.P., Mpondo M. E.& Dibong S. D. (2017). Étude de la toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait au vin des graines de *Carica papaya* Linn. *Journal of Applied Biosciences*, 120 : 12077-12085.
- Fahim MA, Nemmar A, Dhanasekaran S, Singh S, Shafiullah M, Yasin J, Zia S, Hasan YM. (2012). Acute exposure to cadmium causes systemic and thromboembolic events in mice. *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, 61(1): 73-80.
- Fan Y.M., Xu L.Z., Gao I. J., Wang Y., Tang X. H., Zhao X. N. & Zhang Z.X. (2003). Phytochemical and antiinflammatory studies on *Terminalia catappa*. Institute of Materia Medica, Nanjing University School of Medicine, Nanjing 210093, PR China. *Fitoterapia*, 75 (3-4) : 253-260.
- Ferrea, G., Ganessa, A., Sampietro, F., Cruciani, M., Romussi, G., Bassetti, D. (1993) In vitro activity of a *C. micranthum* extract against Herpes simplex virus Type 1 and 2. *Antiviral Research*, 21 (4). 317 – 25.
- Flatland B. (2003). Botanicals, vitamins, and minerals in the liver: therapeutic applications and potential toxicities. *Compendium Veterinary Learn*, 25: 514-524.
- Fleurentin J. (2013). Bon usage des plantes qui soignent. Edition Ouest, paris, France, 384 p.
- Fleurentin J.& Joyeux M. (1990) · Les tests in vivo et in vitro dans l'évaluation des propriétés anti-hépatotoxiques de substances d'origine naturelle. *Ethnopharmacologie : Sources, méthodes, objectifs*. Actes du 1er Colloque Européen d'Ethnopharmacologie, Metz, 22-25 mai 1990. Ed. ORSTM, 493 p.
- Fortin D., Modou L. & Guy M. (2000). Plantes médicinales du Sahel., Enda- Editions, 2000. Série Etudes et Recherches, Dakar, Sénégal, pp187 - 189.

- Fu W., Chen J., Cai Y., Lei Y. & Chen L. (2010). Antioxidant, free radical scavenging, anti-inflammatory and hepatoprotective potential of the extract from *Parathelypteris nipponica* (Franch. Et Sav.) Ching/ *Journal of Ethnopharmacology*, 130 : 521-528.
- Ghanayem B. I. : An overview of the hematotoxicity of ethylene glycol (1996). Monobutyl ethers. *Occup. Hyg.* 2 :253 – 268.
- Gimenez F., Brazier M., Capol J., Dine T., Tchiakpé L. & Claerbout J.F. (2000). Traitement des hépatites virales. *Pharmacie Clinique et Thérapeutique*, Edition Masson, Paris, France : 1065 p.
- Gidwani B., Alsapure R. N. & Duragkar N.J. (2011). Pharmacognostic satandardization and physico-chimical evaluation of *psoralea corylipholia linn* seeds. *Journal of pharmacognosy and Naturel products*,1(1) : 1-5.
- Giordani R., Regli P., Kaloustian J., Mikaiï C., Abou L. & Portugal H. (2004). Antimicrobial effet of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. *Phytotherapy Research*, 18: 990 - 995.
- Gonzalez R., Ballester I., Lopez-Posadas R., Suarez M.D., Zarzuelo A., Martinez-Augustin O. & Sanchez De Medina F. (2011). Effects of flavonoids and other polyphenols on inflammation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51 : 331-362.
- Gournay J. & Richou C. (2002). Traitement de l'hépatite chronique C : effets secondaires, tolérance et qualité de vie. *Gastroentérologie Clinique et biologique*, 26 : 60-75.
- Guilford W.G., Center S.A., Strombeck D.R., Williarns D.A. & Meyer D.J. (1996). Strombeck's Small Animal Gastroenterology, 3<sup>rd</sup> Ed. W.B. Saunders, Philadelphia, New york, 978p.
- Hage D.S. (2013). Reference module in chemistry, molecular sciences and chemical engineering. *Open Acces Journal*, 4(1) : 142-167.
- Halliwell B., Murcia M.A., Chirico S. & Aruoma O.I. (1995). Free radicals and antioxidants in food and *in vivo*: What they do and how they work. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35 (1, 2) : 7-20.
- Hariri A.T., Moallem S.A., Mahmoudi M. & Hosseinzadeh H. (2011). The effect of crocin and safranal, constituents of saffron, against subacute effect of diazinon on hematological and genotoxicity indices in rats. *Phytomedicine*, 18 : 499 - 504.
- Havsteen B.H. (2002). The biochemistry & medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & therapeutics*, 96(2-3) : 67-202.

- Hervas G., Frutos P. & Giraldez F.J. (2003). Effect of different doses of quebracho tannins extracton rumen fermentation in ewes. *Animal Feed Science Technology*, 109 : 65-78.
- Hodgson E. (2004). A textbook of modern toxicology, 3th edition. *Tropical Biomedicine*, New York (USA), Wiley, 550 p.
- Hodge & Sterner (1943). Classe de toxicité selon l'échelle de Hodge & Sterner. *Proceedings of the Society for Experiment Biology and Medicine* 57 :265.
- Hogaboam B., Warzecha H. & Stöckigt D. (1999). Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterol*, 134 : 1655-1669.
- Hossain M.A., Riyami Q.A., Raqmi A.K.A.S.A., Mijizy Z.H. A. & Weli A.M. (2013). Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(9) : 705-710.
- Hotti H. & Rischer H. (2017). The killer of Socrates : Coniine and related alkaloids in the plant kingdom. *Molecules*, 22 (11) : 1962- 1971.
- Hu Y., Yanhong S., Jing Z. & Cohen D. (2009). Synthèse et évaluation biologique de nouveaux dérivés de flavonoïdes en tant qu'inhibiteurs de l'acétylcholinestérase à double liaison. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal chemistry Chem*, 24 : 372 - 380.
- Ijomone O.M., Nwoha P.U., Olaibi O.K., Obi A.U. & Alese M.O. (2012). Neuroprotective Effects of Kolaviron, a Biflavonoid Complex of *Garcinia kola*, on Rats Hippocampus against Methamphetamine-Induced Neurotoxicity. *Macedonian Journal of Medical Sciences*, 5: 10 -16.
- INRS (2018). [www.inrs.fr/demarche/evaluation-risques-professionnels.html](http://www.inrs.fr/demarche/evaluation-risques-professionnels.html) consulté le 20 .05. 2022.
- Jaeschke H. & Bajt M.L. (2006). Intracellular signaling mechanisms of acetaminophen induced liver cell death. *Toxicological Sciences*, 89: 31- 41.
- James L.P., Mayeux P.R. & Hinson J.A. (2003). Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metabolism & Disposition*, 31:1499-1506.
- Jayasinghe L., Malika K.B., Nishantha J.K., Gayathri U.N., Ratnayake B., Noriyuki H. & Yoshinory F. (2003). Antifungal constituents of the stem bark of *Bridelia retusta*. *Phytochemistry*, 62: 637-641.
- Jean B. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e édition) : Lavoisier, Paris, France, 176 p.
- Jean-blain C. (2000). Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 149 : 911-920.

- Jean-Paul M., Patrick C., Philippe P., Isabelle P.O. & Maria V.L. (2015). Impact de la masse d'ergot et de la teneur en alcaloïdes dans l'aliment sur les performances de croissance du porcelet sevré. *Journées de Recherche Porcine*, 47 : 111-112.
- Jean-Paul V. (2008). Foie-Voies Biliaires. -09 sur [www.medecine.ups.tlse.fr](http://www.medecine.ups.tlse.fr), module 16  
Principaux repères sur l'hépatite.
- Kadja A.B. (2014). Sept plantes africaines comme cure-dents : composition minérale phénolique et activité biologique. Thèse de Doctorat unique en Science Fondamentale et Appliquée, Université Nagui Abrogoua A bidjan, Côte d'Ivoire, 152 p.
- Kandé B., Yao K., Allah K.E. & Koné M.W. (2018). Enquête sur l'utilisation et l'effet des médicaments à base de plantes chez les patients hépatiques hospitalisés du Centre Hospitalier Universitaire de Cocody en Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 130 : 13220 - 13231.
- Kanyonga P., Zellou A., Essassi M. & Cherrah Y. (2010). Synthèse et évaluation de l'activité pharmacologique de la 4-phényl-1, 5-benzodiazépin-2-one et ses dérivés. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 4(1) : 321-346.
- Kar A. (2007). Terpenoids. Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology. *New Age International Limited*, 77 : 215-328.
- Kashiwada Y., Nonaka G., Nishioka I., Lee K. J., Bori I., Fukushima Y., Bastow, K.F. Lee K. H., 1993. Tannins as potent inhibitors of DNA topoisomerase II *in vitro*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 82 : 487- 492.
- Klaas V., Thoppil R.J. & Bishayee A. (2002). Terpenoids as potential chemopreventive and therapeutic agents in liver cancer. *World Journal of Hepatology*, 3 : 228 - 249.
- Knekt P., Jarvinen R. & Seppanen R. (1997). Les flavonoïdes alimentaires et le risque de cancer du poumon et d'autres néoplasmes malins. *American Journal of Epidemiology*, 146 : 223 - 230.
- Konan A.B., Bouafou G.M.K., Bleyéré M.N., Zannou-Tchoko V., K Amonkan A., Oussou R.K. & Datte J.Y. (2012). Acute toxicity study and effects of sesame (*Sesamum radiatum*) aqueous leaf extract on rabbit's electrocardiogram. *International Journal of Biomolecules and Biomedicine*, 2(1) : 17-27.
- Konaté K., Hilou A., Mavoungou F.J., Lepengue N.A., Souza A., Barro N., Datte J., M'Batchi B. & Nacoulma G.O. (2012). Antimicrobial activity of polyphenol – rich fractions from *Sida alba L.* (Malvaceae) against co - trimoxazol - resistant bacteria strains. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobial*, 11: 5-11.

- Kpemissi M., Eklu-Gadegbeku., Veerapar Vp., Negru M., Taulescu M., Hiriyani J. & Banakar S.M. (2019). Activité néphroprotectrice de *Combretum micranthum* G. Don dans la néphrotoxicité induite par le ciplastine chez le rat : expériences *in vitro*, *in vivo* et *in silico*. *Biomed Pharmacother*, 1 : 112 - 116.
- Kpemissi, M., Potârniche, A. V., Lawson-Evi, P., Metowogo, K., Melila, M., Dramane, P., ... & Veerapur, V. P. (2020). Nephroprotective effect of *Combretum micranthum* G. Don in nicotinamide-streptozotocin induced diabetic nephropathy in rats: in-vivo and in-silico experiments. *Journal of Ethno pharmacology*, 261, 113-133.
- Kola, K. A., & Benjamin, A. E. (2002). Comparative antimicrobial activities of the leaves of *Combretum micranthum* and *C. racemosum*. *Global Journal of Medical Sciences*, 1(1), 13-17.
- Kroa E., Diaby B., Niaré A., Traoré Y., Ahoussou E.M., Yao G.H.A., Coulibaly G.S. & Kouassi D. (2014). Analyse de la collaboration entre médecines traditionnelle et moderne dans la région du Sud Bandama (Côte d'Ivoire). *Revue CAMES-Série Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine*, 17(1) : 21-27.
- Labbe D., Vassault A., Cherruau B., Baltassat P., Bonete R., Carroger G. & Trepo D. (1996). Method selected for the determination of creatinine. *Annale de Biologie Clinique*, 54 : 285-298.
- Lee J.C., Kim H.R. & Jim K.J. (2002). Antioxidant property of an extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* Var. saboten. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6490-6496.
- Lei Zhang., Dazhi C., Yulu T., Tiantian S., Tongton P., Hongwei L., Chao C., Xiaozhi J., Faling W., Lanman X. & Yongping C. (2022). Vitexin attenuates autoimmune hepatitis in mouse induced by syngeneic liver cytosolic proteins via activation of AMPK/AKT/GSK-3 $\beta$ /Nrf2 Pathway. *European Journal of pharmacology*, 917: 20 - 24.
- Lemoine M., Nayagam S. & Thursz M. (2013). Viral hepatitis in resource-limited countries and access to antiviral therapies: current and future challenges. *Future Virology*, 8 (4): 371-380.
- Li Z., Wei W., Chen B., Cai G. & Li X. (2016). The Effect of rhCygb on CCl4-Induced Hepatic Fibrogenesis in Rat. *Scientific RepoRts*, 6: 23504 - 23508.
- Liao P., Hemmerlin A., Bach T.J. & Chye M.L. (2016). The potential of the mevalonate pathway for enhanced isoprenoid production. *Biotechnology Advances*, 34(5) : 697-713.

- Lin C.C., Chen Y.L., Lin J.M. & Ujiie T. (1997). Evaluation of the antioxidant and hepatoprotective activity of *Terminalia catappa*. *The American Journal of Chinese Medicine*, 25 : 153 -161.
- Lin C.C., Hsu Y.F., Hsu. H.Y. & Lin T.C. (2001). Antioxydant and hepatoprotective effects of punicalagin and punicalin on acetaminophen- induced liver damage in rats. PTR. *Phytotherapy research*; GBR ; VOL. 15; NO. 3; PP; 206-212.
- Liozon S. (2010). Cahier du préparateur en pharmacie. Pathologie. Edition Porphyre, paris, France, 80 p.
- Lyu S.Y. & Park W.B. (2005). Production of cytokine and NO by RAW 264.7 macrophages and PBMC *in vitro* incubation with flavonoids. *Archives of Pharmaceutical Research*, 5 : 537- 81.
- Macheix J.J., Fleuriot A. & Jay-Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes (PPUR) : Lausanne, Suisse, 221p.
- Marcus D.A., Ayodeji O.O., Kolade O.F. & Adetunji J.A. (2020). Justifying the antidiabetic ethnomedicinal claim of *Massularia acuminata* through its antihyperglycaemic activity. *American Journal of Biomedical Science & Research*, 8 (2) : 140-167.
- Martin V.J.J., Pitera D.J., Withers S.T., Newman J.D. & Keasling J.D. (2003). Engineering a mevalonate pathway in *Escherichia coli* for production of terpenoids. *Nature Biotechnology*, 21(7) :796-802.
- Masuda T., Yonemori S., Oyama Y., Takeda Y., Tanaka T., Andoh T., Shinohara A. & Nakata M. (1999). Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants : activity of the leaf extracts from seashore plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 : 1749 -1754.
- Matsuura H.N. & Fett-Neto A.G. (2015). Plant alkaloids : main features, toxicity, and mechanisms of action. *Plant toxins*, 6 : 1-15.
- Meerbach A., Neyts J., Balzarini J., Helbig B., De Clercq E. & Wutzler P. (2001). *In vitro* activity of polyhydroxycarboxylates against herpes viruses and HIV. *Antiviral Chemical Chemother*, 12: 337-345.
- Megarbane B., Donetti L. & Blanc T. (2006). Intoxications graves par médicaments et substances illicites en réanimation. *Base SantéPsy*, 15 : 332-334.
- Mehdioui A., Hellara I., Neffati F., Hichem M. H., Mohamed F. & Najjar M. F. (2009). Évaluation d'une technique enzymatique colorimétrique pour le dosage du cholestérol libre. *Revue francophone des laboratoires*, 39 : 63 - 66.

- Molinie C. & Bronstein J.A. (1998). L'hépatite E. *Hépto-Gastro et Oncologie Digestive*, 5 : 21-26.
- Monfort A. F. (2016). Les médicaments responsables d'hépatotoxicité chez les animaux de compagnie. Thèse pour le doctorat vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, Paris, France, 175 p.
- Morabandza C.J., Gombe Assoungou H., Agbonon A. & Abena A.A. (2021). Impact de l'extrait aqueux du mésocarpe du fruit de *Garcinia kola* Heckel (Clusiaceae) sur l'immunité et le potentiel antioxydant sanguin chez le rat Wistar thermo-stressé. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 47 (2): 8433-8443.
- Mpondo M. E., Dibong S. D., Ladoh Y.C.F., Priso R. J. & Ngoye A. (2012). Les plantes à phénols utilisées par les populations de la ville de Douala. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 15 : 2083-2098.
- Mueller-harvey I. (2006). Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 86 : 2010 - 2037.
- Musana K. A., SH Y. & Abdulkarim A.S. (2004). Conseils de gestion des consultations externes : testes des lésions hépatiques. *Médecine clinique et recherche*, 2 :129-131.
- Muttaka, L. J. Abdullahi & M. S. Sule (2016) « toxicological studies of the aqueous leaves extracts of *Combretum micranthum* on rats, » international journal of biotechnology and biochemistry, vol. 12, n° 12, pp. 167-171.
- Nagappa A. N., Thakurdesai P. A., Venkat R. N. & Jiwan S. (2003). Antidiabetic activity of *Terminalia catappa* Linn fruits. *Journal of Ethnopharmacology*, 88 : 45 - 50.
- Najem M., Belaidi R., Harouak H., Bouiamrine E.H., Ibijbijen J. & Nassiri L. (2018). Occurrence de plantes toxiques en phytothérapie traditionnelle dans la région du Moyen Atlas central Maroc. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 35 (2) : 5651-5673.
- Narayana R.K., Reddy S.M., Chaluvadi M.R. & Krishna D.R. (2001). Bioflavonoids classification, Pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*, 33 : 2-16.
- Natesan V., Mani R. & Arumugam R. (2016). Review Clinical aspects of urea cycle dysfunction and altered brain energy metabolism on modulation of glutamate receptors and transporters in acute and chronic hyperammonemia. *Biomedical and Pharmacotherapy*, 81 : 192 - 202.

- Nworu C.S., Akah P.A., Esimone C.O., Okoli C.O. & Okoye F.B.C. (2008). Immunomodulatory Activities of Kolaviron, a Mixture of Three Related Biflavonoids of *Garcinia kola* Heckel. *Immunopharmacol.Immunotoxicol*, 30 : 317- 332.
- OCDE (2001). Harmonized Integrated Hazard Classification system for Human Health and Environmental Effects of Chemical substances, part 2, rapport annuel, Paris, France 24p.
- OCDE (2008). Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : Toxicité orale aiguë - Méthode de l'ajustement des doses, rapport annuel, paris, France 29 p.
- OCDE (2009). Ligne directrice 452 de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, études de toxicité chronique, rapport annuel, paris, France 16 p.
- OCDE (2018). Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : Études de toxicité chronique, rapport annuel, paris, France 18 p.
- OECD (2001). OECD guidelines for testing of chemicals : Acute oral toxicity-acute toxic class method OECD, rapport annuel, paris, France 14 p.
- OMS (2002). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. Organisation Mondiale de la Santé, Genève, Suisse, 118 p.
- OMS (2016). Stratégie mondiale du secteur de la santé contre l'hépatite virale 2016-2021 Vers l'élimination de l'hépatite virale, Genève, Suisse, 130 p.
- OMS (2017). Stratégies de l'OMS pour la médecine traditionnelle. Genève, Suisse, 74p.
- OMS (2018). Prévention de l'infection par le virus de l'hépatite B : étapes et cibles. *Bulletin De l'organisation Mondiale de santé*, 96 : 443 - 445.
- Owens C., Baergen R. & Puckette D. (2014). Online Sources of Herbal Product Information. *American Journal of Medecine*, 127(2) : 109-115.
- Paille E., Gillet C. & Pirollet P. (1993). Physiopathologie de l'alcoolisation aiguë et du sevrage alcoolique. *Revue du Praticien*, 43 : 2035-2041.
- Pamplona R.G. (2001). Guide des plantes médicinales. Edition vie et santé, Paris, France,784 p.
- Pan X., Hussain F.N., Iqbal J., Feuerman M.H. & Hussain M.M. (2007). Inhibiting Proteasomal Degradation of Microsomal Triglyceride Transfer Protein Prevents CCl4-induced Steatosis/ *The Journal Of Biological Chemistry*, 282 : 17078 - 17089.
- Pandey K.B. & Rizvi S.I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2: 270 - 278.
- Pavanato M. A., Marroni N. P., Marroni C. A. & Llesuy S. F. (2007). Quercetin Prevents Oxidative Stress in Cirrhotic Rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 52 : 2616 - 2621.

- Pawar S. P., Pal S. C. & Kasture V.S. (1997). Anti inflammatory activity of *Terminalia catappa* Linn. *Pharmacy focus in the new millennium abstracts*, 110 - 113.
- Pietta P. (2001). Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63 (7) : 1035-1042.
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J. O. (1999). Méthode d'évaluation du stress antioxydant chez l'homme : importance en matière de prévention – Cancérologie – Ed Med 1 Sphère.
- Poli G. (2000). Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. *Molecular Aspects of Medicine*, 21: 49-98.
- Polson J. & Lee W.M. (2005). Aasld position Paper : The Management of Acute Liver Failure. *Hepatology*, 41 : 1179 - 1181.
- Ratnasooriya W. D. & Dharmasiri M.G. (2000). Effects of *Terminalia catappa* seeds on sexual behaviour and fertility of male rats. *Asian Journal of Andrology*, 2 : 213 - 219.
- Rhiouani H., El-Hilaly J., Israili Z. H. & Lyoussi B. (2008). Acute and sub-chronic toxicity of an aqueous extract of the leaves of *Herniaria glabra* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 118(3) : 378 - 386.
- Richelle M., Tavazzi I. & Offord E. (2001). Comparison of the antioxidant activity of commonly beverages (coffee, cacao, and tea) prepared per cup serving. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 : 3438-3442.
- Rochfort S., Parker A.J. & Dunshea F.R. (2008). Plants bioactifs for ruminant health and productivity. *Phytochemistry*, 69 : 299 - 322.
- Rutgers C., Biourge V., Pibot P., Biourge V. & Elliot D. (2006). Gestion nutritionnelle des affections hépatiques. Encyclopédie de la nutrition clinique canine, Edition. Aniwa SAS, Paris, France, 134 -161.
- Ryan M. T., Müller H. & Pfanner N. (1999). Functional staging of ADP/ATP carrier translocation across the outer mitochondrial membrane. *Journal of Biological Chemistry*, 274(29) : 20619 - 20627.
- Sangare M.M., Bayala B., Ategbo J-M., Loko. F. & Dramane K. L. (2012). Effets de l'extrait aqueux de *gomphrena celosioides* (Amaranthaceae) sur les enzymes hépatiques. *Afrique science*, 08(3) : 107-115.
- Scholten D., Trebicka J., Liedtke C. & Weiskirchen R. (2015). The carbon tetrachloride model in mice/ *Laboratory Animals*, 49 (S1) : 4 -11.
- Sendensky A. & Dufour J. F. (2011). Liver physiology In Chronic liver failure mechanisms and management. *Humana press*, 77 : 33 - 46.

- Senior J. R. (2012). Alanine Aminotransférase : A Clinical and regulatory tool for detecting liver injury—past, present, and future. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 92 : 332 - 339.
- Silvestrini A., Pasqua G., Botta B., Monacelli B., Heijden R., Von D. & Verpoorte R. (2002). Effects of alkaloid precursor feeding on a *camptotheca acumisate* cell line. *Plant Physiology and Biochemistry journal*, 40 : 749-753.
- Sirwal I. A., Banday K. A., Reshi A. R., Bhat M. A. & Wani M. (2004). Estimation of Glomerular Filtration Rate (GFR). *Journal of Medical Education & research*, 6(3) : 121-123.
- Sökmen B. B., Aydın S. & Kınalıoğlu K. (2012). Antioxidant and antibacterial properties of a lichen species *Diploschistesscruposus* (Schreb.) Norman. *Journal of Biology*, 71 (1) : 43 -51.
- Stapleton J.T. (1995). Réponse immunitaire de l'hôte au virus de l'hépatite A. *Journal. Infectious. Diseases*, 171 : 9 -14.
- Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H. & Stöckigt D. (2002). High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic- electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of chromatography*, 967 : 85-113.
- Sy G., Faye F.S., Wele A., Gueye P.M., Gueye C.D., Cissé A., Diaye A.M., Bassene E. & Faye B. (2008). Activité antihyperglycémiant de la fraction F2 de l'extrait total acétonique des feuilles de *Vernonia colorata* (Compositae). *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaines*, 15 : 6 -10.
- Syed M. A., Vrushabendra S. B. M., Rdhanapal P. G. & Chandrashekara V. M. (2005). Anti-Diabetic Activity of *Terminalia catappa* Linn. Leaf Extracts in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 4 (1) : 36 - 39.
- Ta-Chen L. & Feng-Lin H. (1999). Tannin and Related Compounds from *Terminalia catappa* and *Terminalia parviflora*. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 4 (46) : 613 - 618.
- Taub R., Bansal M. & Lei W. (2003). Roles of cytokines and growth factors in liver regeneration, repair and fibrosis after liver injury. *Drug-Induced Liver Disease*, 1st Edition, N. Kaplowitz and L.D. DeLeve (Eds), Marcel Dekker, New York (USA), 270 p.

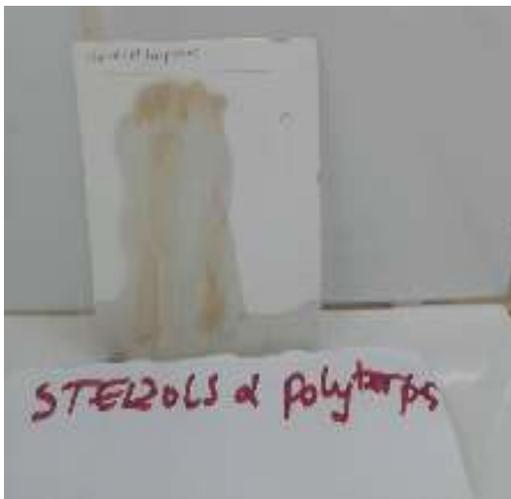
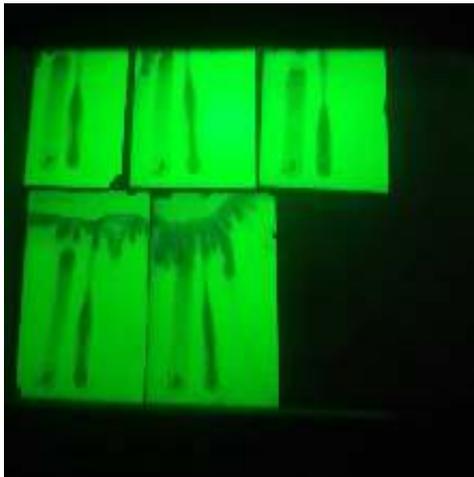
- Tine D., Fall A. D., Dieng S.M., Sarr A., Lyu W., Wu Q., Simons J. E. & Bassene E. (2021). Rapid isolation of vitexin from leaves of kinkeliba, *Combretum micranthum* G Don. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 10 (1) : 14 -16.
- Twedt D.C. (2001). Antioxidants and liver disease. Proceedings of the 19<sup>th</sup> Annual American College of Veterinary Internal Medicine Forum. *American College of Veterinary Internal Medicine*, 2 (3): 13-15.
- Vijaya M., Cass I., Judy G., Nadeem A.T., Bobby W.E., Debases B. & Harry P.G. (2001). Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. *Molecular and cellular Biochemistry*, 228: 111-117.
- Wang Y., Gao J., Zhang Z. X., Fan Y., Xu M., Tang X. H. & Zhao X. N. (2004). Phytochemical and antiinflammatory studies on *Terminalia catappa*. Institute of Materia Medica, Nanjing University School of Medicine, Nanjing 210093, China. *Fitoterapia*, 75 (3/4) : 253 - 260.
- Ward F. M. & Daly M. J. (1999). Hepatic disease. Clinical pharmacy and therapeutics (Walker R, Edwards C. (eds.). Churchill Livingstone, New York (USA), 277p.
- Watson P. J. (2004). Chronic hepatitis in dogs: a review of current understanding of the etiology, progression, and treatment. *Veterinary Journal*, 167 : 228-241.
- Waugh A. & Grant A. (2006). Anatomie et physiologie normales et pathologies. Maloine, Paris (France), 484 p.
- Wolf P. L. (1999). Biochemical diagnosis of liver diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 14: 59-90.
- Zenk M.H. & Jueng M. (2007). Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 68 : 2757-2772.
- Zhu B. T., Ezell E. T. & Liehr J. G. (2001). Catécholo -catalyse rapide de la méthyl transférase O -méthylation des flavonoïdes mutagènes. L'inactivation métabolique comme raison possible de leur absence de cancérogénicité *in vivo*. *Journal of Biological Chemistry*, 269 : 292 - 299.

# **ANNEXES**

ANNEXE 1 : matériel utilisé pour la chromatographie sur couche mince



ANNEXE 2 : migration des métabolites



TANINS



**PUBLICATION**



## PHYTOCHEMICAL SORTING AND BIOTOLERANCE OF AN IMPROVED TRADITIONAL MEDICINE USED IN THE TREATMENT OF HEPATITIS B IN CÔTE D'IVOIRE

Mariam Kone<sup>1</sup>, Abba P. Obouayeba<sup>1,2\*</sup>, Bognan Jacques A. A. Ackah<sup>1,2</sup> and Kassim Dosso<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'Agrovalorisation, UFR Agroforesterie, Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG), BP Daloa 150, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup>Laboratoire de Biologie Santé, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny (UFHB), 22 BP 582 Abidjan 01, Côte d'Ivoire.

<sup>3</sup>Laboratoire de Biodiversité et Ecologie Tropicale, UFR Environnement, Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG), BP Daloa 150, Côte d'Ivoire.



\*Corresponding Author: Abba P. Obouayeba

Laboratoire d'Agrovalorisation, UFR Agroforesterie, Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG), BP Daloa 150, Côte d'Ivoire.

Article Received on 06/01/2024

Article Revised on 26/01/2024

Article Accepted on 16/02/2024

### ABSTRACT

The use of plants for therapeutic purposes is very old. Even today, they are used by a fraction of the world's population. This work focused on the phytochemical sorting and the evaluation of the acute toxicity of an Ivorian phytomedicine "ABRAHAM" used in the treatment of hepatitis B, in Wistar albino rats. To do this, the phytomedicine ABRAHAM was administered, in a single dose, orally to four groups of rats, at doses of 500, 1000, 2000 and 5000 mg/kg of body weight. The animals were observed for 14 days. Subsequently, the main chemical compounds as well as hematological and blood biochemical parameters were studied. Phytochemical screening revealed the presence of polyphenols, flavonoids, tannins, quinones, polyterpenes and sterols, alkaloids and saponins. Moreover, the phytomedicine does not significantly disturb the hematological parameters consisting of the rate of red blood cells, white blood cells, blood platelets and hemoglobin. Finally, ABRAHAM had no adverse effect on hepatic, renal markers and serum lipid profile of treated rats.

**KEYWORDS:** Toxicity, ABRAHAM, rat, hematological, biochemical.

### INTRODUCTION

The plant is a living organism constituting a fundamental link in the biological cycle of other living organisms including the human species (Madi, 2010). It has always been a source of nourishment but can also relieve or even cure certain illnesses. The use of medicinal plants in the treatment of pathologies dates back several millennia. It is now experiencing growth in most countries in the world despite the development of synthetic drugs (Kroa et al., 2014). In all developing countries including Côte d'Ivoire, the use of medicinal plants is the most used means of solving public health problems, especially in rural areas. According to the World Health Organization (WHO), more than 80% of the African population uses traditional medicine for their primary health care due to their proximity and accessibility (WHO, 2002). Traditional medicine benefits from the image of alternative medicine because the substances used, particularly plants, are considered natural treatment products devoid of any risk. However, recent studies have shown that herbal medicine is not always risk-free.

Indeed, several reports worldwide report serious side effects recorded following the use of certain medicinal plants (Kandé et al., 2018). The use of these plants is therefore sometimes the cause of toxicity or interaction problems that can cause therapeutic failures (Owens et al., 2014). These therapeutic failures are due to disruptions in the metabolism of different organs and can even cause death (Najem et al., 2018). In reality, nature is home to a range of toxic plants, including poisonous and hallucinogenic plants, capable of causing serious symptoms (Najem et al., 2018). Safety and harmlessness are therefore important criteria to take into account before administering herbal products. In Ivory Coast, ethnobotanical surveys made it possible to draw up a non-exhaustive list of plant species used in traditional medicine by the populations (Dro et al., 2013). Also, a significant number of works on the biological, pharmacological and phytochemical properties of plants from traditional Ivorian medicine have been carried out. The data provided by these studies made it possible on the one hand to explain the therapeutic action and on the

other hand to confirm the use of these different plants in traditional medicine. However, the area of evaluating the quality and safety of traditional medicines sold on the Ivorian market remains little explored. The scientific valorisation of traditional medicine must lead in particular to the development of plant-based medicines whose safety, effectiveness and quality are certified (WHO, 2004). It is in this context that the present work takes place, which aims to study the biotolerance of a phytomedicine from the Ivorian pharmacopoeia used in the treatment of hepatitis B.

## MATERIALS AND METHODS

### 1.1. Plant material

The plant material is composed of a phytomedicine "Abraham". It is an improved traditional medicine based on medicinal plants.

### 1.2. Animal material

For this study, rats of the species *Rattus norvegicus* of the Wistar strain and with an average mass of 92 g were used for the experiment. The rats were provided by the animal facility of the Laboratory of the UFR of Pharmaceutical and Biological Sciences of the Félix Houphouët Boigny University of Abidjan. A total of fifteen (15) rats were randomly distributed into five groups of three (3) animals, including four (4) test groups and a control group. The animals were conditioned at animal room temperature (20-25 °C) with a humidity level of 75 % and a photoperiodicity of 12/24 hours. The diet consisted of IVOGRAIN® granules and the rats were provided with tap water continuously in the feeding bottles. The experimental protocol and animal handling procedures were carried out according to good laboratory practices (OECD, 1998). Figure 2 shows a rat from the animal facility of the Laboratory of the UFR of Pharmaceutical and Biological Sciences of the Félix Houphouët Boigny University of Abidjan.

### 1.3. Chemical products

Cooper ether for rat anesthesia, a Creatinine/Alkaline picrate kit (BIOLABO), a Cholesterol oxidase/peroxidase kit (BIOLABO) for the determination of cholesterol, a colorimetric enzymatic GPO-POD Triglycerides kit (BIOLABO) for the measurement of triglycerides, a Cholesterol-HDL kit (BIOLABO) direct method for the determination of HDL, an AST/TGO IFCC kit (BIOLABO) for the evaluation of transaminase activity Aspartate aminotransaminase, an ALT/TGP IFCC kit (BIOLABO) for the evaluation of activity transaminases Alanine aminotransaminase. As well as the chemicals used to carry out phytochemical analyses.

### 1.4. Qualitative phytochemical analysis

Research of sterols and polyterpenes

Sterols and polyterpenes were sought by the Liebermann reaction. Five (5) ml of each of the three extracts were evaporated on a sand bath. The residue is dissolved hot in 1 ml of acetic anhydride; we added 0.5 ml of concentrated sulfuric acid to the triturate. The

appearance, at interphase, of a purple or violet ring, turning blue then green, indicated a positive reaction.

#### 1.4.1. Research of polyphenols

The reaction with ferric chloride ( $\text{FeCl}_3$ ) made it possible to characterize the polyphenols. To 2 ml of each extract (etheric, methanolic and aqueous), we added a drop of 2 % alcoholic solution of ferric chloride. The appearance of a more or less dark blue-blackish or green color was a sign of the presence of polyphenols.

#### 1.4.2. Research of flavonoid

Flavonoids were investigated by the cyanidin reaction. Two (2) ml of each extract were evaporated and the residue was taken up in 5 ml of hydrochloric alcohol diluted twice. By adding 2 to 3 magnesium shavings, heat is released followed by a pink-orange or purplish color. The addition of 3 drops of isoamyl alcohol intensified this coloring which confirmed the presence of flavonoids.

#### 1.4.3. Research of tannins

Catechic tannins were investigated using Stiasny's reagent. Five (5) ml of each extract were evaporated to dryness. After adding 15 ml of Stiasny's reagent to the residue, the mixture was maintained in a water bath at 80 °C for 30 min. The observation of a precipitate in large flakes characterized the catechic tannins. For gallic tannins, we filtered the previous solution. The filtrate is collected and saturated with sodium acetate. The addition of 3 drops of  $\text{FeCl}_3$  would cause the appearance of an intense blue-black color, a sign of the presence of gallic tannins.

#### 1.4.4. Research of free or combined quinones

Quinonic substances were searched for using Bornstraëgen's reagent. Two (2) ml of each of the 3 extracts were evaporated to dryness. The residue is triturated in 5 ml of 1/5 hydrochloric acid. The triturate is poured into a test tube. It is then brought to a water bath for 30 min. After cooling, it is extracted with 20 ml of chloroform. Ammonia diluted 2 times (0.5 ml) was added to the chloroform solution. A red or purple color was a sign of the presence of quinones.

#### 1.4.5. Research of alkaloids

The alkaloids were characterized using Buchard's reagents (iodo-iodide reagent) and Dragendorff's reagents (potassium iodobismuthate reagent). Six (6) ml of each solution were evaporated to dryness. The residue is taken up in 6 ml of 60° alcohol. The addition of 2 drops of Dragendorff's reagent to the alcohol solution caused a precipitate or an orange color. Adding 2 drops of Buchard's reagent to the alcohol solution caused a reddish-brown precipitate and indicated a positive reaction.

#### 1.4.6. Research of saponosides

To look for saponosides, we poured 10 ml of the total aqueous extract into a test tube. The tube was shaken for

15 s then left to rest for 15 min. A persistent foam height greater than 1 cm indicated the presence of saponosides.

### 1.5. Study of the acute toxicity of the improved traditional medicine

#### 1.5.1. Determination of the concentration of the phytomedicine

To determine the concentration of the medicinal solution, a known volume of the oral suspension of the remedy is transferred into an aluminum or porcelain basin. The bowl is then introduced into an oven for drying for a few days at a temperature of 50°C. The dry extract obtained is weighed on an electronic balance to determine its mass. The mass of the dry extract obtained makes it possible to calculate the concentration of the extract in a suspension can. Thus, for a 500 ml solution contained in the can, we obtained, after drying and weighing, 15.629 mg. The concentration is obtained according to the following formula:

$$C = m/VC = 15629/500 = 31.26 \text{ mg/ml} \quad C = 31.26 \text{ mg/ml}$$

With:

m: the mass of the extract (mg);

C: the concentration of the extract (mg/ml) and

V: the volume of the extract (ml).

#### 1.5.2. Calculation of the volume of solution to administer to rats

It was determined according to the following formula:

$$V \text{ (ml)} = \frac{D \text{ (mg/g)} \times m \text{ (g)}}{C \text{ (mg/ml)}}$$

With:

m: the mass of the subject (mg)

D: the dose used (mg/g body weight);

C: the concentration of the extract (g/ml) and

V: the volume of the extract (ml).

#### 1.5.3. Experimental protocol

The acute toxicity study was conducted in accordance with OECD Guideline No. 423 (2001). The rats were fasted for 24 hours before oral administration of the product. After identification by marking and weighing of the rats, five batches of three rats each were made. These rats were subjected to different treatments. Thus, the animals from batch 1 were treated with distilled water (2 ml/100 g). As for the rats in batches 2, 3, 4 and 5, they were treated with the phytomedicine at respective doses of 500, 1000, 2000 and 5000 mg/kg. Individual observations were made every thirty minutes for the first four hours then every morning between 9 and 10 a.m. over 14 days. These observations included piloerection, aggression, mobility, alertness, stool status, vomiting and mortality. The influence of the different doses

administered was assessed based on hematological and blood biochemical data.

#### 1.5.4. Blood sample

Blood samples were taken on the 14th day (D14) of the experiment. In animals anesthetized with ether, blood was collected using a pipette that was slowly introduced into the medial or lateral angle of the eye (Van et al., 1998). For analysis purposes, blood was collected in a dry tube and a tube containing ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) and transported to the laboratory for analysis. The blood contained in the dry tubes was used for biochemical tests and that contained in the tubes containing EDTA were used for hematological analyses.

#### 1.5.5. Hematological analyzes

The blood count was carried out immediately from the samples on EDTA tubes by the URIT-2900® automatic analyzer.

The cell counting principle of the URIT-2900 automaton is based on the variation of impedance. Thus, when a quantity of 10 µl of whole blood is aspirated, the cells pass through a calibrated orifice. A direct current field is applied on either side of this orifice. The cell does not have the same conductivity as the medium surrounding it, its passage through the orifice causes a modification of the current established between the two electrodes. This current difference is recorded, which allows them to be counted each time a cell passes. In addition, the current difference being proportional to the volume of the particle, this is measured at the same time as the counting. Volume is therefore a criterion for differentiating populations of blood cells since platelets and red blood cells on the one hand and leukocytes on the other have distinct volumes most of the time.

In the white blood cell measurement chamber, the sample remains for 10 seconds then the size and number of leukocytes are determined by impedancemetry. In the red blood cell measuring chamber, the size and number of erythrocytes and thrombocytes are also determined by the same method. From the measured values, the other parameters are calculated in the automaton microprocessor. During the incubation time, erythrocytes are dissolved under the influence of lysis and hemoglobin is released and then transformed into methemoglobin. A portion of the sample from this chamber is introduced into the hemoglobin flow trough. The hemoglobin concentration is measured spectrophotometrically.

Before carrying out the count, the blood samples are well homogenized by successive and delicate inversion in order to avoid the formation of microclots. Manually, the sample tubes are presented vertically to the needle of the machine and it is activated on the aspiration button. The sample tube is then withdrawn vertically once the aspiration needle exits the sample. The machine carries out a complete analysis of the hematological parameters

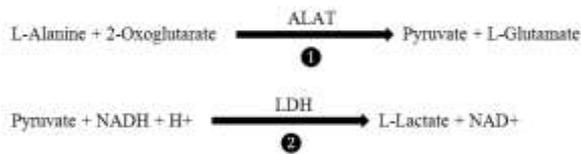
of a sample after one minute to 35 seconds. The URIT-2900 device is connected to a graphics printer which transcribes the results onto paper.

### 1.5.6. Dosage of biochemical parameters

Blood from the dry tubes was centrifuged at 4000 rpm for 10 minutes. The serum obtained allowed the determination of some biochemical markers of certain vital organs such as the liver and kidneys. Thus, the transaminases which are Alanine aminotransferase (ALT) and Aspartate aminotransferase (ASAT), total cholesterol, triglycerides and HDL cholesterol constituted the hepatic markers. Creatinine was used to assess renal functions.

#### 1.5.6.1. Measurement of alanine aminotransferase activity

The amine group is enzymatically transferred by alanine aminotransferase (ALT) present in the sample from Alanine to the carbon atom of 2-oxoglutarate producing pyruvate and L-glutamate. Pyruvate is reduced to lactate by LDH present in the reagent with simultaneous oxidation of NADH to NAD. The reaction is followed by measuring at 340 nm, the decrease in absorbance due to the oxidation of NADH to NAD<sup>+</sup>. This decrease is proportional to the activity of Alanine Aminotransferase present in serum by the kinetic method (Gella et al., 1985).

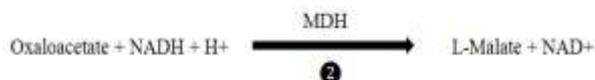


#### 1.5.6.2. Measurement of aspartate aminotransferase activity

The amine group is enzymatically transferred by Aspartate Aminotransferase (ASAT) present in the sample from Aspartate to the carbon atom of 2-oxoglutarate producing oxaloacetate and L-glutamate.



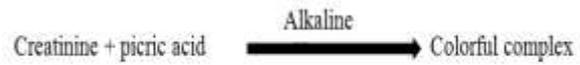
The reaction is followed by measuring at 340 nm, the decrease in absorbance due to the oxidation of NADH to NAD<sup>+</sup>. This decrease is proportional to the activity of Aspartate Aminotransferase present in serum by the kinetic method (Gella et al., 1985).



#### 1.5.6.3. Creatinine dosage

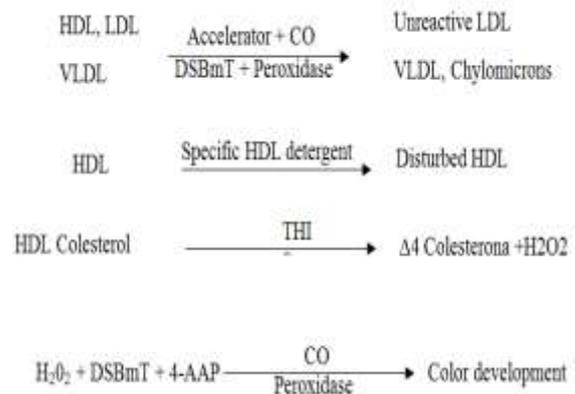
The creatinine present in the sample reacts with picric acid in an alkaline medium, to give a colored complex.

The rate of formation of this complex is measured in short initial periods, thus avoiding interference from



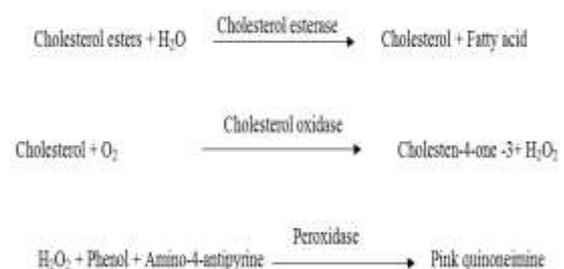
#### 1.5.6.4. Dosage of HDL cholesterol

The direct HDL cholesterol assay is a seamless method for directly measuring HDL cholesterol concentrations in serum or plasma without the need for off-line pretreatment or centrifugation steps. The method is in a two-reagent format and depends on the properties of a single detergent, as shown. This method is based on accelerating the reaction of cholesterol oxidase (CO) with unesterified non-HDL cholesterol and dissolving the HDL selectively using a specific detergent. In the first reagent, unesterified non-HDL cholesterol is subjected to an enzymatic reaction and the generated peroxide is consumed by a peroxidase reaction with DSBmT giving a colorless product. The second reagent consists of a detergent capable of solubilizing HDL specifically, a cholesterol esterase (CE) and a color coupler to develop color for the quantitative determination of HDL cholesterol. This process can be referred to as the selective detergent and accelerator methodology (Barr et al., 1951).



#### 1.5.6.5. Total cholesterol measurement

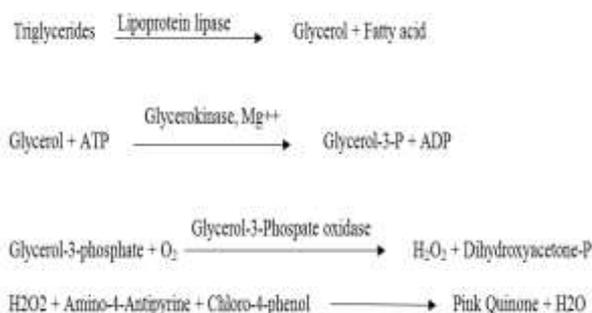
The total cholesterol (TC) level is quantified according to the method of Fasce et al. (1982). It is measured after enzymatic hydrolysis then oxidation. The quinoneimine indicator is formed from hydrogen peroxide and 4-aminoantipyrine in the presence of phenol and peroxidase. The enzymatic determination is carried out according to the following reactions:



The amount of quinoneimine formed is proportional to the cholesterol concentration. The optical densities are read at a wavelength equal to 505 nm (500-550) after incubation for 5 min at 37 °C. The coloring remains stable for 30 min.

### 1.5.6.6. Triglyceride dosage

The determination of triglycerides (TG) is done enzymatically. Through the action of specialized lipases, lipoprotein lipase (LPL), triglycerides are hydrolyzed into glycerol and free fatty acid. Glycerol is then converted to glycerol-3-phosphate (G3P) and adenosine diphosphate (ADP) by glycerol kinase and ATP. G3P is then converted by glycerol phosphate dehydrogenase (GPO) to Dihydroxy-acetone (DAP) and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). The latter reacts with 4-aminophenazone (4-AP) and p-chlorophenol in the presence of peroxidase (POD) giving a compound colored red. The reaction scheme is as follows:



The concentration of colored quinone (pink) measured at 505 nm (500-550) is directly proportional to the quantity of TG contained in the sample (Fossati et al., 1982).

### 1.6. Statistical analysis

The statistical study was carried out using the XLSTAT-PRO 7.1 statistical analysis computer software. Results were analyzed using Dunnett's post hoc tests combined with one-way ANOVA. Values are given as means followed by the standard error of the mean. The different statistical tests are considered significant when  $p < 0.05$  and very significant when  $p < 0.01$ .

## RESULTS

### 3.1. Phytochemical sorting

The phytochemical test made it possible to highlight the presence of families of chemical compounds in our extract. We noted the presence of alkaloids, flavonoids, polyphenols, quinones, saponosides, sterols and tannins. The results of this study are recorded in Table I.

**Table I: Some qualitative constituents of the improved traditional medicine.**

| Samples   | Sterols (Polyter-bolts) | Polyphenols | Flavo-noids | Tannins |     | Quinones | Alkaloids |     | Saponosides |
|-----------|-------------------------|-------------|-------------|---------|-----|----------|-----------|-----|-------------|
|           |                         |             |             | cat     | gal |          | Bou       | Dra |             |
| Reactions | +                       | ++          | ++          | ++      | -   | +        | +         | +   | ++          |

cat: catechisms gal: gallic Bou: Bouchardat Dra:

Dragendorff

-: Absence of the desired substance

+: Low intensity presence of the desired substance

++: Presence of the desired substance at medium intensity

### 3.2. Effect of improved traditional medicine on hematological parameters

#### 3.2.1. Effect of phytomedicine on white blood cells

The evolution of the number of white blood cells after administration of the different doses of the improved traditional drug indicates a slight increase in the white blood cells in the rats of batches 2, 3 and 5 compared to the number of white blood cells of the animals in the control batch. However, we observed a greater increase (12,600 cells/ $\mu$ l) in the rats from batch 4 compared to the number of white blood cells in the animals from the control batch (8,917 cells/ $\mu$ l) as shown in Figure 3.

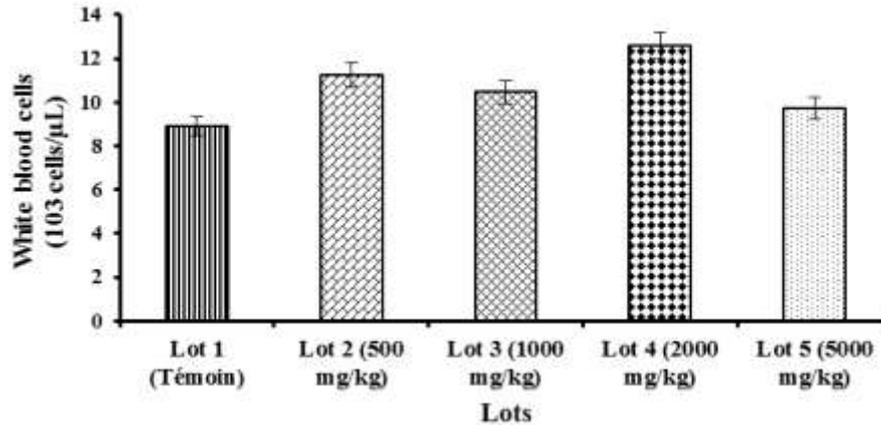


Figure 3: Evolution of white blood cells after treatments with the phytomedicine.

### 3.2.2. Effect of phytomedicine on red blood cells

Administration of the phytomedicine resulted in a significant increase ( $p < 0.05$ ) in the number of red blood cells in rats from batches 2, 3, and 4 compared to that of red blood cells in rats from the control batch. On the

other hand, there is no significant difference between the number of red blood cells in the animals of batch 5 (5.637 cells/µl) and that of red blood cells in control rats (5.037 cells/µl). These results are presented in Figure 4.

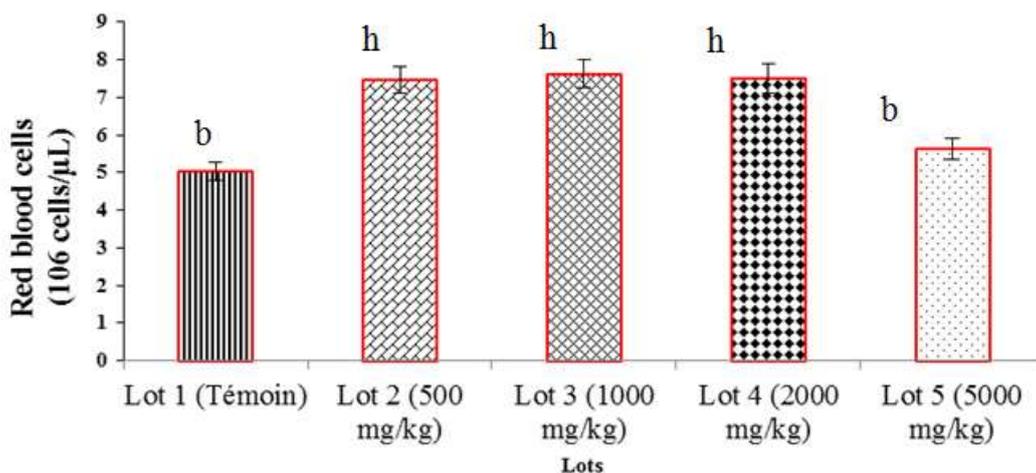


Figure 4: Evolution of red blood cells after treatments with the phytomedicine.

### 3.2.3. Effect of phytomedicine on hemoglobin level

The hemoglobin level of rats from batches 2, 3 and 4 significantly increased ( $p < 0.05$ ) compared to that of rats

from the control batch (Figure 5). However, the hemoglobin level of rats in batch 5 remained similar to that of control rats.

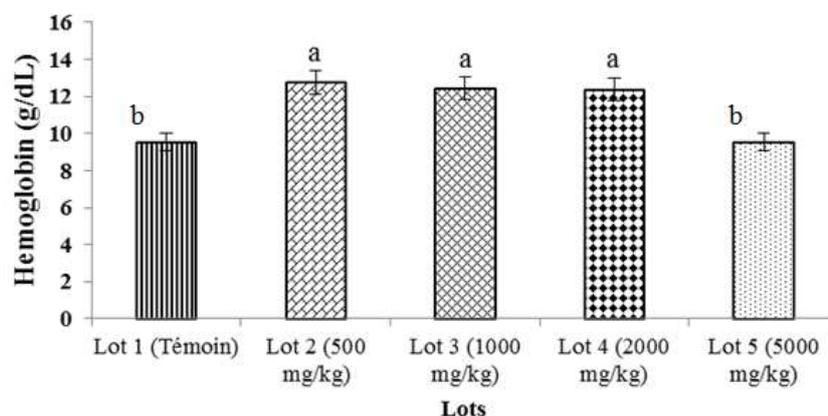


Figure 5: Evolution of hemoglobins after treatments with the phytomedicine.

### 3.2.4. Effect of phytomedicine on blood platelets

The administration of the phytomedicine led to a significant increase ( $p < 0.05$ ) in the number of blood platelets in rats from batches 2, 3, and 4 compared to the number of the same blood constituent in rats from the

control batch. However, we do not notice any significant difference between the number of blood platelets (450 cells/ $\mu\text{L}$  of blood) in the rats from batch 5 compared to that of the rats from the control batch (500 cells/ $\mu\text{L}$  of blood) as presented in the figure. 6.

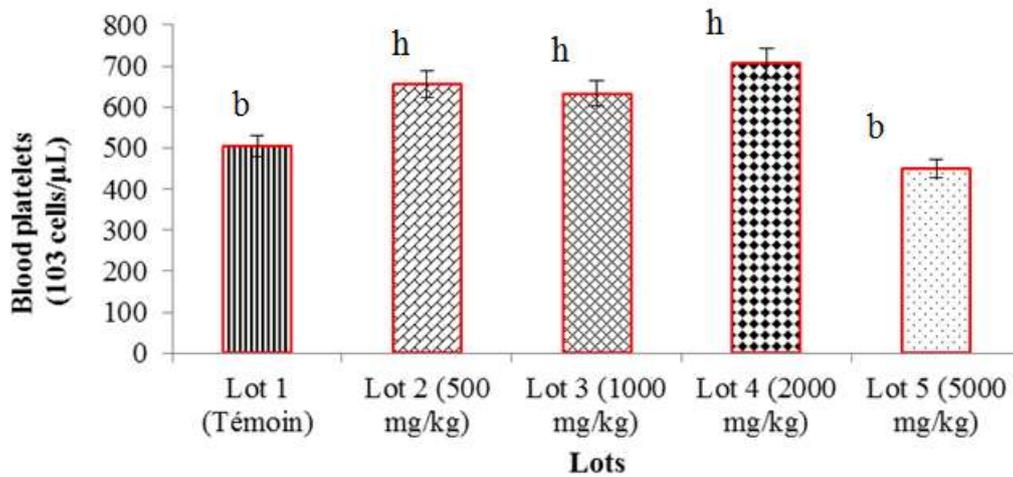


Figure 6: Evolution of blood platelets after phytomedicine treatments.

### 3.3. Effect of improved traditional medicine on biochemical parameters

#### 3.3.1. Effect of phytomedicine on transaminases

The average values of transaminase (TGO or ASAT) of the batches treated with the phytomedicine suffered a significant decrease ( $p < 0.05$ ) compared to those of the

rats in the control batch (Figure 7). At the level of transaminase (TGP or ALT), the average values of the batches treated with the phytomedicine experienced a significant ( $p < 0.05$ ) and very significant ( $p < 0.01$ ) increase compared to those of the control batch (Figure 8).

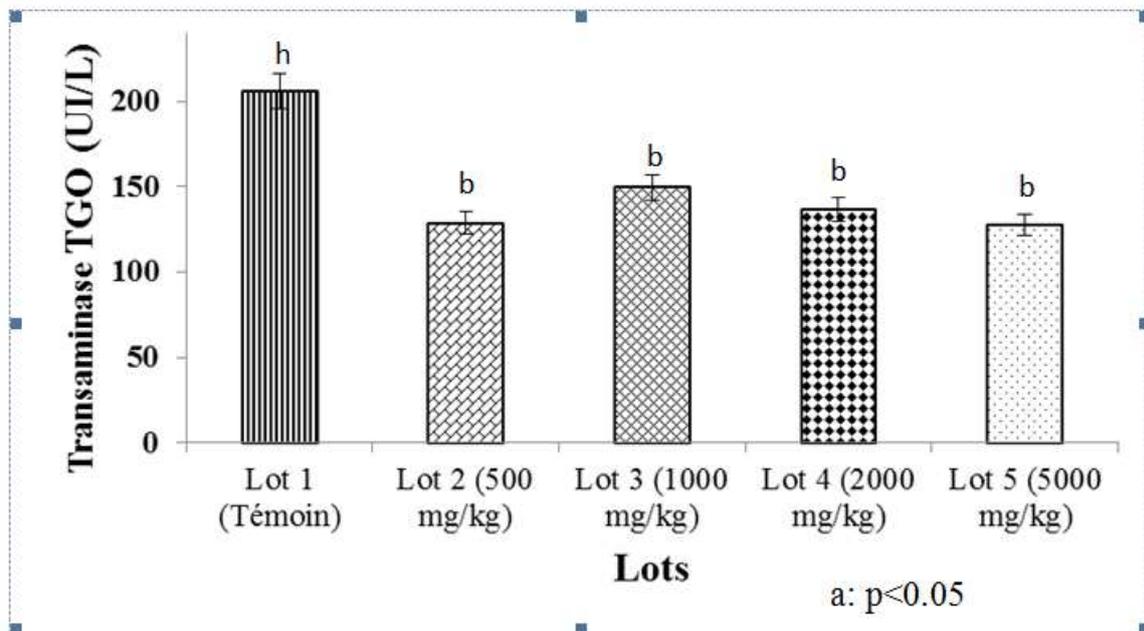


Figure 7: Effect of phytomedicine on TGO activity in rats.

### Effect of the phytomedicine on transaminases (TGP or ALT)

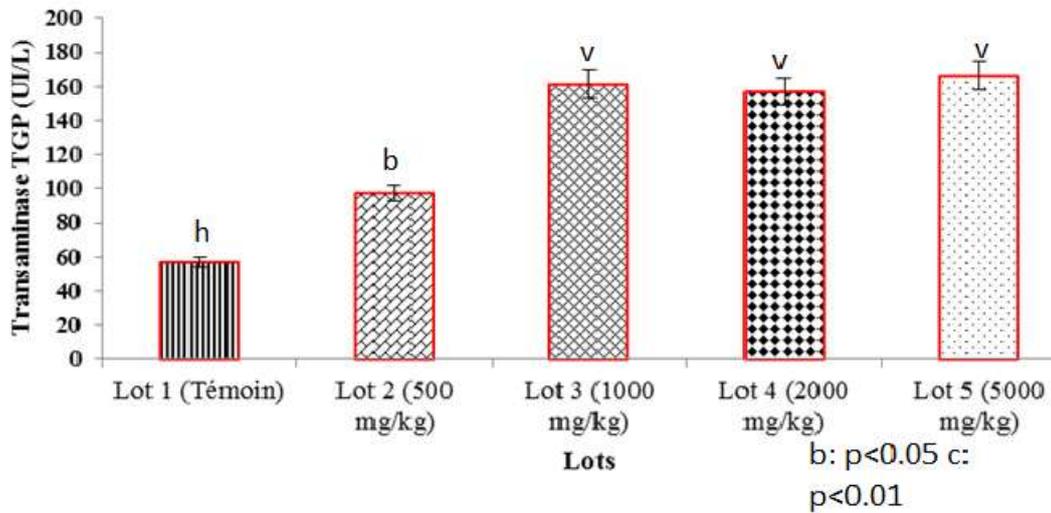


Figure 8: Effect of phytomedicine on TGP activity in rats

### 3.3.2. Effect of phytomedicine on creatinine

The average creatinine value of rats from batch 2 experienced a slight increase (7,100  $\mu$ l) compared to that

of controls (5.833 mg/dl) while that of rats from batches 3, 4 and 5 suffered a slight decrease (Figure 9).

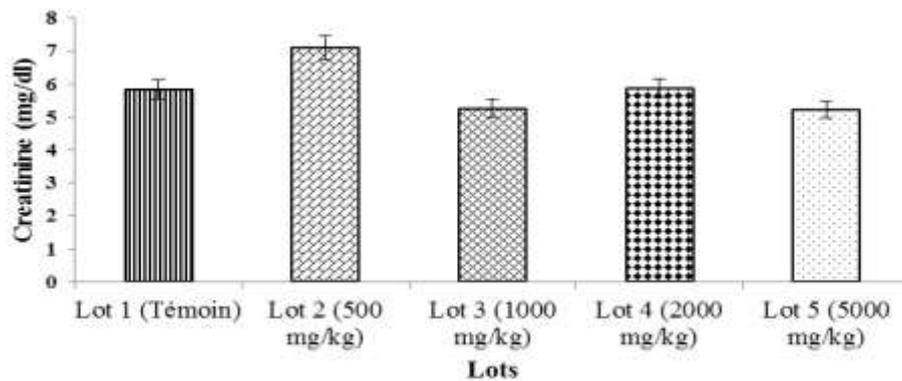


Figure 9: Effect of phytomedicine on creatinine.

### 3.3.3. Effect of phytomedicine on total cholesterol

The cholesterol concentration of rats in batches 2, 3 and 5 increased compared to that of controls after administration of the phytomedicine. However, we notice a slight decrease in this rate in the rats from batch

4 (0.730 g/l) compared to that of the rats from the control batch (0.747 g/l) as appears in Figure 10. Administration of the phytomedicine did not significantly disturb the serum total cholesterol level in the treated groups compared to the level observed in the controls.

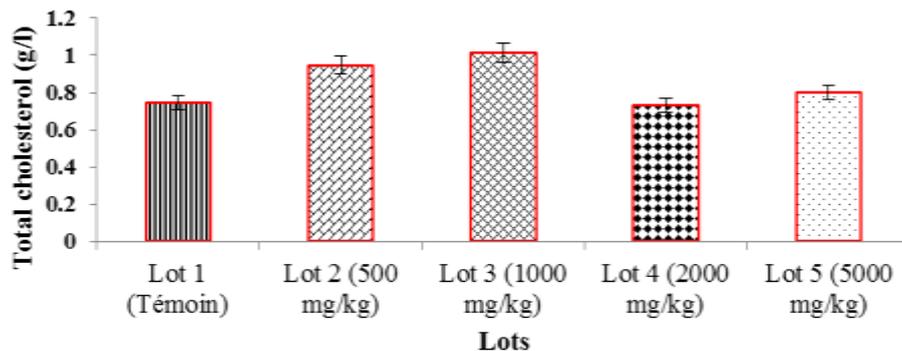


Figure 10: Effect of phytomedicine on total cholesterol.

### 3.3.4. Effect of phytomedicine on triglycerides

A drop in average triglyceride values was observed in all the batches treated with the phytomedicine compared to the control batch (Figure 11).

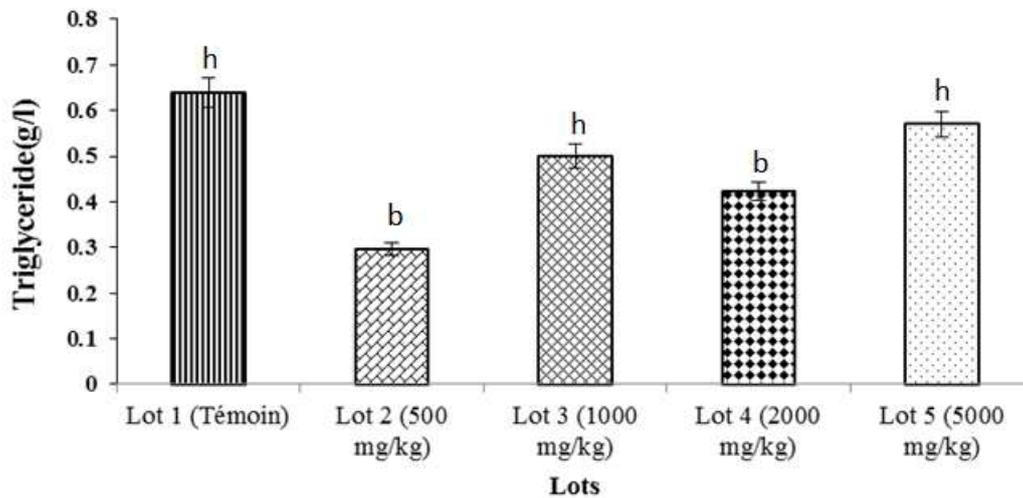


Figure 11: Effect of phytomedicine on triglycerides

### 3.3.5. Effect of phytomedicine on HDL cholesterol

The average concentration of HDL cholesterol increases significantly ( $p < 0.05$ ) in all rats from batch 2 (0.353 g/l) and batch 5 (0.320 g/l) treated with the phytomedicine at doses of 500 mg/kg body weight and 1000 mg/kg body weight respectively, compared to that of control rats

(0.240 g/l), in accordance with Figure 12. On the other hand, no significant difference was observed between the average concentrations of batches 3 and 4 treated with the phytomedicine respectively at doses of 1000 mg/kg of body weight and 2000 mg/kg of body weight and those of the control batches.

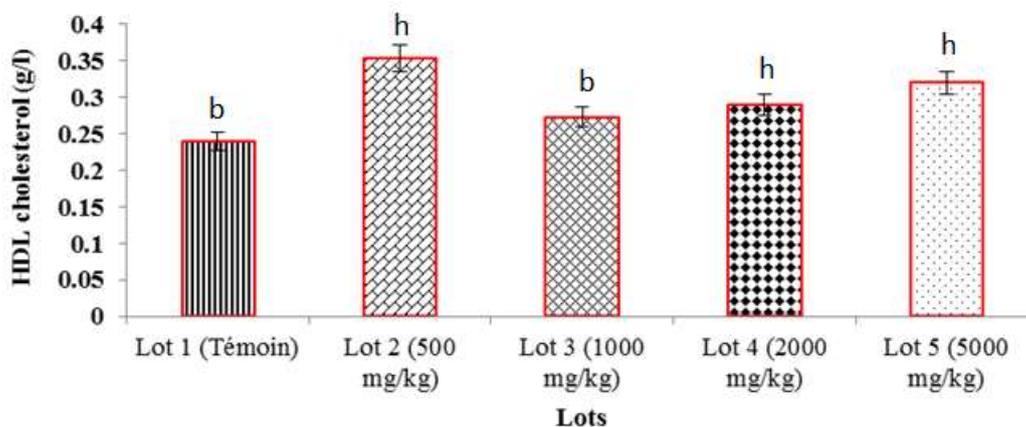


Figure 12: Effect of phytomedicine on HDL cholesterol.

## 4. DISCUSSION

The results of the qualitative phytochemical study revealed that the phytomedicine contains several chemical groups, namely: alkaloids, flavonoids, polyphenols, polyterpenes, quinones, saponins, sterols and tannins. These results are in agreement with those of Akakpo et al. (2020), which in addition to these compounds, highlighted other compounds such as reducing compounds and protoanthocyanins which were not looked for in this study.

The richness of this phytomedicine in active chemical compounds could explain the traditional use of the plants which compose it to treat numerous diseases such as amenorrhea, headaches, diabetes, fever, migraine, edema, rheumatism and 'gastric ulcer. Several studies have shown that these secondary metabolites are important indicators for certain pharmacological activities. Indeed, tannins are phenolic compounds known for their antioxidant properties (Ebrahimzadeh et al., 2010). These antioxidants could thus activate the immune defense and reduce the risks of cancer and

degenerative diseases (Mpondo *et al.*, 2012). As for saponins, they have surfactant, antifungal, antibacterial and antiviral properties. They would also present protective activities of veins and capillaries and edematous activity with hormonal activity (Macheix *et al.*, 2005). Alkaloids are believed to have several biological properties (Okwu, 2007). According to Badiaga (2011) alkaloids are highly sought after for their broad spectrum of biological activities including antibiotic, antiparasitic, anesthetic, antitumor, anticancer and analgesic and spasmolytic properties. Alkaloids are thought to have actions on the central nervous system (Bruneton, 1999). Sterols and polyterpenes are used for their antipyretic and analgesic properties. They regulate the metabolism of proteins and carbohydrates and increase the synthesis of muscles and bones (Hossain *et al.*, 2013). Flavonoids are endowed with antioxidant, anti-inflammatory (Wang and Mazza, 2002) and analgesic (Bittar *et al.*, 2000) properties. Studies have also shown that certain flavonoid compounds possess sedative, anticonvulsant, and immunomodulatory properties (Lyu and Park, 2005).

The results of the acute toxicity study indicated an absence of signs of toxicity after administration of doses ranging from 500 to 5000 mg/kg body weight (bw) of the phytomedicine "ABRAHAM". All animals survived after 14 days of observation, which implies that the LD50 of the phytomedicine is greater than 5000 mg/kg bw. According to OECD Guideline 425 for Testing of Chemicals, the extract is classified as GHS Category 5 and considered a non-toxic substance orally (OECD, 2008). This result is in harmony with that of Ayoola *et al.* (2020) who after administration of the ethanolic extract of the leaves of *M. acuminata* at a dose of 5000 mg/kg bw observed no clinical signs and no deaths in rats after 14 days of observation. Researchers have also shown that the LD50 of the aqueous extract of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) is greater than 5000 mg/kg bw after a single administration in rats (Adeneye *et al.*, 2007).

The complete blood count was used in this study to quantify the level of white blood cells, red blood cells, hemoglobins and blood platelets in the blood of rats. During the present study, we observed an increase in the number of white blood cells, red blood cells, blood platelets and the hemoglobin level of the batches treated with the phytomedicine compared to the control batch. An increase in the number of red blood cells and hemoglobin levels in rats treated with ABRAHAM would be beneficial in preventing anemia often associated with the presence of plasmodium in patients. These results corroborate those of Sanogo *et al.* (2007) who showed that the administration of phytomedicine based on *Argemone mexicana* at doses of 300 mg/kg and 1500 mg/kg leads to an increase in the hemoglobin level and the number of red blood cells. The increase in white blood cell and platelet levels in treated rats directly indicates a strengthening of the immune system (Hariri *et*

*al.*, 2011). This suggests that ABRAHAM contains bioactive substances which have an amplifying power of the immune response by increasing the level of white blood cells: the first defensive level of the body (Atsamo *et al.*, 2011). Studies by (Kumar *et al.*, 2011) have shown that flavonoids and tannins participate in strengthening the immune system. Their results are therefore in line with ours. Likewise, Metayer *et al.* (2015) in a study showed that consumption of foods with a high content of alkaloids (5050 µg/kg of food) leads to a significant increase in the concentration of white blood cells, lymphocytes and blood platelets, thus reflecting a stimulation of the immune defense. The alkaloids in our extract could be the basis of our results.

The results showed that the administration of the phytomedicine Abraham to the animals led to a decrease in aspartate aminotransferase compared to the controls, unlike alanine aminotransferase which increased at all doses. Indeed, AST and ALT are enzymes of mitochondrial and cytoplasmic origin commonly analyzed to assess liver damage (Dillon and Miller, 2016). Any cell necrosis, destruction of the liver parenchyma or an increase in the membrane permeability of hepatocytes leads to the flow of these enzymes into the blood circulation and therefore to an increase in their serum levels (Manda *et al.*, 2017). Their activity is proportional to the degree of liver damage and are therefore good indicators of hepatotoxicity (Pariante, 2013). According to studies by Senior (2012), cytosolic alanine aminotransferase is, in concentration, much higher in the liver than aspartate aminotransferase. The increase in ALT levels is therefore not harmful to the liver in the context of our study. The decrease in the AST level shows that the liver and to a lesser extent the muscles have not been affected. Furthermore, the chemical composition of ABRAHAM could provide serious clues that could enable the identification of the chemical compounds responsible for its effect on liver enzymes. Indeed, according to our study, the phytomedicine is rich in flavonoids, molecules known to be hepatoprotective (Narayana *et al.*, 2001). The effect of the phytomedicine on the liver is therefore due to the presence of flavonoids. These results mean that ABRAHAM had no deleterious effects on the liver function of rats. Creatinine is an excellent marker of renal function, its increase or decrease reflects renal dysfunction (Sirwal *et al.*, 2004). The results of our work did not indicate any disturbance in terms of creatine levels. This indicates normal kidney function. These results are different from those of Gbogbo *et al.* (2014) who showed the toxic effect of a phytomedicine on renal function by increasing the serum creatinine level. The lipid profile carried out using the determination of total cholesterol, HDL cholesterol and triglycerides indicated no statistically significant difference between the batches of treated rats and those of control rats except the triglycerides of rats from all batches, and at all times. doses, which suffered a significant drop compared to those of the control batches. Similar results were

obtained in other work carried out on phytomedicines in Wistar rats (Adebayo et al., 2010). In short, ABRAHAM did not cause any disturbance in lipid parameters when administered at doses of 500 mg/kg, 1000, 2000 and 5000 mg/kg body weight.

## CONCLUSION

The present work focused on the phytochemical sorting and evaluation of the acute toxicity of an Ivorian phytomedicine "ABRAHAM" used in the treatment of hepatitis B. During this work, phytochemical studies based on specific tests were carried out. showed the presence of polyphenols, flavonoids, saponins, alkaloids, quinones, polyterpenes and sterols in the phytomedicine. In addition, the extract administered orally does not present acute toxicity for a dose less than or equal to 5000 mg/kg. No signs of behavioral toxicity were observed. Furthermore, ABRAHAM had no adverse effects on hematological parameters as well as liver biochemical parameters and lipid profile. Considering the results obtained, we can deduce that the product did not present acute toxicity for the majority of the parameters tested, and therefore had no influence on blood quality and function. This practically shows the safety of the phytomedicine ABRAHAM, a traditional recipe used in the treatment of hepatitis B in Ivory Coast. All these results suggest the importance and growing place of the use of medicinal plants in the treatment of certain pathologies in Africa, in general, and in Côte d'Ivoire, in particular. However, other work such as the action of ABRAHAM on blood sugar and chronic oral toxicity tests deserve to be carried out in order to confirm its non-toxic nature.

## REFERENCES

- Adebayo AH, Zeng GZ, Fan JT, Ji CJ, He WJ, Xu JJ, Zhang YM, Akindahunsi AA, Roseline KR, Tan NH. Biochemical, haematological and histopathological studies of extract of *Ageratum conyzoides* L. In: Sprague Dawley rats. *J Med Plants Res*, 2010; 4(21): 2264-2272.
- Adeneye AA, Agbaje EO. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of fresh leaf aqueous extract of *Cymbopogon citratus* Stapf in rats. *J Ethnopharmacol*, 2007; 3(112): 440-444.
- Akakpo-Akue J, Klé TKM, Coulibaly K, AHON GM, Fofié Y., Yapo-Crezoit. A., Zirihi GN & Kra AKM. Ethnobotanical study of medicinal plants used against sickle cell anemia in the eastern part of the Ivory Coast. *J Animal Plant Sci*, 2020; 45(1): 7839-7852.
- Atsamo AD, Nguenefack TB, Datté JY & Kamanyi A. Acute and subchronic oral toxicity assessment of the aqueous extract from the stem bark of *Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae) in rodents. *J Ethnopharmacol*, 2011; 134: 697-702.
- Ayoola DM, Ayodeji OO, Kolade OF, Adetunji JA. Justifying the antidiabetic ethnomedicinal claim of *Massularia acuminata* through its antihyperglycaemic activity. *Am J Biomed Sci Res*, 2020; 8(2): 140-167.
- Badiaga M. Ethnobotanical, phytochemical and biological activities of *Nauclea latifolia* Smith, an African medicinal plant collected in Mali. Doctoral thesis in Organic Chemistry, UFR of Sciences and Technology, University of Bamako (Mali), 2011; 183.
- Barr DP, Russ EM, Eder HA. Protein-lipid relationships in human plasma. *Am J Med*, 1951; 11(480): 326-396.
- Bartels H, Bohmer M. A micromethod for creative results. *Clin Chim Acta*, 1971; 32: 81-85.
- Bruneton J. Pharmacognosy, Phytochemistry and medicinal plants. Tec & Doc and international medical practices, 3rd edition, Paris (France), 1999; 726.
- Bittar M, Maria de Sousa S, Yunes R, Lento R, Monache FD, Filho VC. Antinociceptive activity of 13, 118- Binaringenin, a biflavonoid present in plants of the Guttiferae. *Planta Med*, 2000; 66: 84-86.
- Dillon J, Miller MH. Gamma glutamyl transferase "To be or not to be a liver function test? *Annals Clin Biochem*, 2016; 53(6): 629-631.
- Dro B., Soro D., Koné MW, Bakayoko A. & Kamanzi K. Assessment of the abundance of medicinal plants used in traditional medicine in the North of Côte d'Ivoire. *J Animal and Plant Sci*, 2013; 3(17): 2631-2646.
- Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Bahramian F, Bekhradnia AR. Antioxidant and free radical scavenging activity of *H. Officinalis* L., *V. Angustifolius*, *V. Odorata*, *B. hyrcana* and *C. Speciosum*. *Pak J Pharm Sci*, 2010; 23(1): 29-34.
- Gella FJ, Olivella T., Cruz PM, Moreno R., Durban R. & Gomez JA A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate. *Clin Chim Acta*, 1985; 53: 241-247.
- Gbogbo M, Koné M, Bléyeré NM, Yao KE, Yapo AP. Effect of total aqueous stem bark extract of *Spondias monbin* L. on some biochemical and anthropometric parameters in wistar albino rats. *Int J of Biosc*, 2014; 4(7): 1-8.
- Gomé BM, Kouakou K, Touré A, Traoré F. Study of the acute and subchronic toxicity of the aqueous extract of *Passiflora foetida* Linn. (Passifloraceae) in rats and mice. *Int J Biol and Chem Sci*, 2011; 5(5): 1777-1789.
- Fasce F. Cholesterol Colorimetric enzymatic test (CHOD – PAP). *Wiener Medizinische Wochenschrift, Clin & Chem*, 1982; 156(2): 380-385.
- Hariri AT, Moallem SA, Mahmoudi M, Hosseinzadeh H. The effect of crocin and safranal, constituents of saffron, against subacute effect of diazinon on hematological and genotoxicity indices in rats. *Phytomed*, 2011; 18: 499-504.

19. Hossain MA, Riyami QA, Raqmi AKASA, Mijizy ZHA, Weli AM. Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris*. *Asian Pacific J Trop Biomed*, 2013; 3(9): 705-710.
20. Kandé B, Yao K, Allah KE, Koné MW. Investigation into the use and effect of herbal medications in hepatic patients hospitalized at the Cocody University Hospital Center in Ivory Coast. *J Appl Biosc*, 2018; 130: 13220-13231.
21. Kroa E, Diaby B, Niaré A, Traoré Y, Ahoussou EM, Yao GHA, Coulibaly GS, Kouassi D. Analysis of the collaboration between traditional and modern medicine in the South Bandama region (Ivory Coast). *CAMES Review-Series Pharm and Trad Afr Med*, 2014; 17(1): 21-27.
22. Kumar S, Gupta P, Sharma S, Kumar D. A review on immunostimulatory plants. *Journal of Chinese Integr Med*, 2011; 9(2): 117-128.
23. Li B, Du Q. Identification of antioxidant compounds of *Mucuna sempervirens* by high-speed counter-current chromatographic separation-DPPH radical scavenging detection and their estrogenic activity. *Food Chem*, 2012; 131: 1181-1186.
24. Lyu SY, Park WB. Production of cytokine and NO by RAW 264.7 macrophages and PBMC in vitro incubation with flavonoids. *Arch of Pharm Res*, 2005; 5: 537-81.
25. Macheix JJ, Fleuriot A. & Jay-Allemand C. Phenolic compounds of plants: an example of secondary metabolites of economic importance. *Presses Polytechniques et Universitaires Romandes (PPUR): Lausanne, Switzerland*, 2005; 221.
26. Madi A. Characterization and comparison of the polyphenolic content of two medicinal plants (Thyme and Sage) and demonstration of their biological activities. *Magisterial thesis, Mentouri Constantine University*, 2010; 107.
27. Mahadevan NS, Pradeep K. *Hibiscus sabdariffa* Linn. An overview. *Nat Prod Rad*, 2009; 8: 77-83.
28. Manda P, Manda O, Obouo M, Manda V, Kroa E, Dano SD. Study of the acute and subacute toxicities of the natural remedy used in the treatment of malaria. *Rev Ivoir Sci Technol*, 2017; 29: 145 - 158.
29. Metayer JP, Callu P, Pinton P, Oswald PI, Vilarino M. Impact of ergot mass and alkaloid content in feed on growth performance of weaned piglets. *Porcine Res Days*, 2015; 47: 111-112.
30. Mpondo ME, Dibong SD, Ladoh, YCF, Priso, RJ, Ngoye A. Phenol plants used by the populations of the city of Douala. *J Animal and Plant Sci*, 2012; 15: 2083-2098.
31. Mungole A, Chaturvedi A. *Hibiscus sabdariffa* L. a rich source of secondary metabolites. *Int J Pharm Sc Rev Res*, 2011; 6: 83-87.
32. Najem M, Belaidi R, Harouak H, Bouiamrine EH, Ibjibijen J, Nassiri L. Occurrence of toxic plants in traditional herbal medicine in the central Middle Atlas region of Morocco. *J Animal and Plant Sc*, 2018; 35(2): 5651-5673.
33. Narayana RK, Reddy SM, Chaluvadi MR, Krishna DR. Bioflavonoids classification, Pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Ind J Pharmacol*, 2001; 33: 2-16.
34. Okwu DE. Effects of the repeated distribution of sainfoin hay on the resistance and the resilience of goats naturally infected with gastrointestinal nematodes. *Sci Biotechnol*, 2007; 1(1): 90-96.
35. Ongoka PR, Matini L, Moutou JM, Ngabe DY. Physico-chemical evaluation and chemical profile of local natural colored indicators. Case of extracts of: *Hibiscus sabdariffa*, *Amaranthus oleraceus*, *Grewia coriacea*, *Spinacia oleracea* and *Bougainvillea spectabilis*. *Annals of Marien Nougabi University*, 2006; 7: 138-146.
36. Owens C, Baergen R, Puckettc D. Online Sources of Herbal Product Information. *Am J Med*, 2014; 127(2): 109-115.
37. Pariente A. Hepatic cytolysis (increase in aminotransferases) in adults. *Hepato-Gastroenterol*, 2013; 20: 630639.
38. Sanogo R, Djimde A, Guirou C, Doumbia L, Maiga A, Doumbo O, Diallo D. Study of the sub-chronic toxicity of the decoct of *Argemone mexicana* L. *Afr Pharm Trad Med*, 2008; 15: 26-31.
39. Senior JR. Alanine Aminotransferase: A Clinical and regulatory tool for detecting liver injury—past, present, and future. *Clin Pharmacol Therap*, 2012; 92: 332-9.
40. Sirwal IA, Banday KA, Reshi AR, Bhat MA, Wani MM. Estimation of Glomerular Filtration Rate (GFR). *JK Science: J Med Educ Res*, 2004; 6(3): 121-123.
41. Van HH, Baumans, V., Brandt CJWM. Orbital sinus blood sampling in rats as performed by different animal technicians: the influence of technique and expertise- *Laboratory Animals*, 1998; 32: 377-386.
42. WHO. WHO strategy for traditional medicine for 2002-2005. *World Health Organization, Geneva (Switzerland)*, 2002; 118.
43. WHO. Quality and safety of medicines: regulatory systems. Fifty-seventh World Health Assembly. Item 12.12 of the provisional agenda of April 19, 2004, Geneva (Switzerland), 2004; 99.
44. Wang J, Mazza G. Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor  $\alpha$  in LPS/IFN- $\gamma$ -activated RAW 264.7 macrophages. *J Agr Food Chem*, 2002; 50(4): 850-857.

## RESUME

Notre travail a porté sur *terminalia catappa* et *combretum micranthum* issus de notre MTA « *ABRAHAM* ». Pour y parvenir, différents tests ont été effectués. D'abord le screening phytochimique qualitatif réalisé avec l'extrait de MTA (EMTA) qui indique la présence de principes actifs tels que les flavonoïdes, les stérols et polyterpènes, les tanins, les polyphénols, les alcaloïdes, des quinones et les saponosides. Ces résultats, sont confirmés à travers la chromatographie sur couche mince. Ensuite, l'évaluation de la toxicité aiguë du MTA « *ABRAHAM* » utilisé dans le traitement de l'hépatite, chez le rat Wistar albinos. Pour ce faire, le MTA a été administré, à dose unique, par voie orale à quatre lots de rats, aux doses de 500, 1000, 2000 et 5000 mg/kg de poids corporel. Enfin, l'activité hépatoprotectrice a été évaluée par gavage au paracétamol (pendant 14). Par la suite, les paramètres hématologiques et biochimiques sanguins ont été étudiés. Par ailleurs, le MTA ne perturbe pas de façon significative les paramètres hématologiques constitués du taux de globules rouges, de globules blancs, de plaquettes sanguines et d'hémoglobine. Enfin, le MTA a été bien toléré sur les marqueurs hépatiques, rénaux et le bilan lipidique sériques des rats traités.

Mots clés : Toxicité, *ABRAHAM*, rat, hématologiques, biochimiques.

## ABSTRACT

Our work focused on *terminalia catappa* and *combretum micranthum* from our MTA. To achieve this, various tests were carried out. Firstly, a qualitative phytochemical screening was carried out with MTA extract (EMTA), indicating the presence of active principles such as flavonoids, sterols and polyterpenes, tannins, polyphenols, alkaloids, quinones and saponosides. These results were confirmed by thin-layer chromatography, followed by an assessment of the acute toxicity of "ABRAHAM" MTA, used in the treatment of hepatitis, in albino Wistar rats. MTA was administered orally as a single dose to four batches of rats, at doses of 500, 1000, 2000 and 5000 mg/kg body weight. Finally, hepatoprotective activity was assessed by gavage at paracetamol (for 14) and MTA in rats, with gavage treatment lasting 14 days. Subsequently, hematological and biochemical blood parameters were studied. MTA did not significantly affect the hematological parameters of red blood cells, white blood cells, platelets and hemoglobin. Finally, MTA had no adverse effect on serum liver, kidney and lipid markers in treated rats.

Key words: Toxicity, *ABRAHAM*, rat, hematological, biochemical, MTA, anti-hepatic.