

Effets d'un remède à base de plantes de *Zanthoxylum leprieurii*, *Xylopiya aethiopica* et *Harungara madagascariensis* sur les paramètres biochimiques et hématologiques des rats Wistar

KPLÉ Tatiana Kangah Mireille^{1*}, AKAKPO-AKUE Joel¹, DHJY Bernard Nazaire¹, KOUASSI Konan Armand Marcelin¹, OUATTARA Sitapha¹, KONAN Gbe Kouakou N'Dri Ange¹, KOULAI Diane², KOUADIO Adjoua Larissa¹, YAPO-CREZOIT Chiayé Claire Antoinette², KRA Adou Koffi Mattieu¹, DJAMAN Allico Joseph^{1,2}.

¹Laboratoire de Biologie et Santé, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny (UFHB), 22 BP 582 Abidjan 01, Côte d'Ivoire.

² Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire.

Date de réception : 30 Octobre 2022; Date de révision : 27 Novembre 2022; Date d'acceptation : 25 Décembre 2022

Résumé :

Cette étude a été réalisée afin d'évaluer la toxicité des extraits d'une recette de trois plantes médicinales. Cette recette est utilisée dans la région de l'Indénie-Djuablin à l'Est de la Côte d'Ivoire dans la prise en charge des symptômes de la drépanocytose. Le décocté et l'extrait éthanolique à 70% ont été réalisés. Le test de toxicité aiguë a été réalisé sur des rats albinos femelles de souche wistar à une dose unique de 2000 mg/kg (pc). Les doses de 200 ; 400 et 800 mg/kg pc de ces extraits ont été administrés pendant 28 jours aux rats selon la ligne directrice de l'OCDE sur la toxicité subaiguë. Le 29^{ème} jour, les rats ont été euthanasiés, le sang a été prélevé pour des analyses hématologiques et biochimiques. Le criblage phytochimique a révélé la présence de stérols, de terpénoïdes, d'alcaloïdes, de phénols, de substances quinoniques, de flavonoïdes et de saponosides. L'administration orale de la dose unique des extraits n'a pas entraîné la mort des animaux. La DL50 de cette recette est supérieur à 2000 mg/kg de Pc. Aucun changement significatif ($p > 0,05$) dans le poids relatif des organes entre le groupe témoin et les groupes testés. Les paramètres biochimiques et hématologiques étaient statistiquement égaux dans tous les groupes. Il ressort de cette étude que les extraits aqueux et hydroéthanolique n'ont pas généré de modifications sur les paramètres biochimiques et hématologiques des rats traités. Cependant, d'autres études sont nécessaires pour confirmer les toxicités à long terme.

Mots clés : Plantes médicinales, toxicité aiguë, toxicité subaiguë.

Effects of a herbal remedy of *Zanthoxylum leprieurii*, *Xylopiya aethiopica* and *Harungara madagascariensis* on biochemical and hematological parameters of Wistar rats

Abstract:

This study was conducted to evaluate the toxicity of extracts of a recipe of three medicinal plants. This recipe is used in the Indénie-Djuablin region in the east of Côte d'Ivoire in the management of sickle cell disease symptoms. The decoction and the 70% ethanolic extract were performed. The acute toxicity test was performed on female albino rats of the wistar strain at a single dose of 2000 mg/kg (bw). Doses of 200; 400 and 800 mg/kg bw of these extracts were administered for 28 days to the rats according to the OECD guideline for subacute toxicity. On the 29th day, the rats were euthanized, blood was collected for hematological and biochemical analysis. Phytochemical screening revealed the presence of sterols, terpenoids, alkaloids, phenols, quinones, flavonoids and saponosides. The oral administration of a single dose of the extracts did not cause the death of the animals. The LD50 of this recipe is greater than 2000 mg/kg Pc. No significant change ($p > 0.05$) in relative organ weights between control and test groups. Biochemical and hematological parameters were statistically equal in all groups. From this study, it can be seen that aqueous and hydroethanol extracts did not generate changes in biochemical and hematological parameters of treated rats. However, further studies are needed to confirm the long-term toxicities.

Key words: Medicinal plants, acute toxicity, subacute toxicity.

Introduction

Les plantes médicinales constituent depuis plusieurs années une source efficace de médicaments modernes et traditionnels. Environ 80% des populations dépendent des plantes pour leurs soins de santé primaires (Bamba et al., 2015). Les plantes sont très consommées pour leurs propriétés médicinales et nutritionnelles. Cependant, la toxicité des plantes a été sous-estimée en raison de la perception que les médicaments à base de plantes sont naturels et absolument sans danger. Par ailleurs, de graves

dysfonctionnements hépatiques ont été signalés après l'ingestion de préparations à base de plantes (Stickel et al., 2000). Le nombre croissant d'utilisateurs de médicaments à base de plantes dans le monde et le manque de données scientifiques sur le profil de sécurité des produits à base de plantes rendent nécessaire la réalisation d'une étude de toxicité sur les produits à base de plantes (Saad et al., 2006). Les résultats de plusieurs enquêtes ethnobotaniques ont révélé la prépondérance des recettes monospécifiques

(*) Correspondance : Kplé T.K.M. ; e-mail : tatianakangah1@gmail.com; tél. : (+225) 0757459198.

(Bla et al., 2015 ; Béné et al., 2016). Cette prépondérance des recettes monospécifiques n'est pas forcément un avantage, quand on sait que l'Organisation mondiale de la santé (OMS) recommande désormais des associations de médicaments dans le traitement des maladies infectieuses en raison de la résistance des parasites (OMS, 2006). La drépanocytose fait partir des maladies qui sont prises en charge par la médecine traditionnelle. En effet de nombreuses plantes sont utilisées dans le traitement de la drépanocytose en Afrique en tant qu'alicaments ou médicaments traditionnels améliorés ou sous forme de recettes traditionnelles, l'on peut citer parmi tant d'autres : DREPANOSTAT® (Mavian, 2012), VK-500®, NICOSAN® (Iyanus et al., 2002), FACA® (Ouattara, 1991), DREPANOALPHA® (Gbolo et al., 2017). Ces différentes recettes ont fait objet d'études pharmacologique avant d'être mis sur le marché. Dans le souci de contribuer à la prise en charge de cette maladie en Côte d'Ivoire, l'équipe de Akakpo-Akue et al. (2020) a réalisé une

enquête ethnobotanique dans la région de l'Indénié-Djuablin à l'Est de la Côte d'Ivoire. Cette enquête a permis de recenser onze (11) recettes de plantes anti-drépanocytaire parmi lesquelles figure la recette ZHm composée des fruits de *Xylopiya aethiopicum* (Dunal) A. Rich, les écorces du tronc de *Zanthoxylum leprieurii* (GUILL) et les feuilles de *Harungara madagascariensis* (LAM). Le choix a été porté sur cette recette du fait des données ethnopharmacologiques fournies sur les plantes issues de ladite recette. Cependant la seule efficacité pharmacologique d'une substance ne peut justifier son introduction en thérapeutique. En effet, elle ne doit pas produire d'effets toxiques aux doses thérapeutiques. En Afrique, environ 30% des accidents mortels sont dus à l'utilisation de mélanges d'extraits de plantes (El-Said et al., 1965). Ce qui nous amène à réaliser l'étude de la toxicité subaiguë de cette recette de plantes avant toute consommation afin de confirmer son innocuité.

Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal

Les fruits de *Xylopiya aethiopicum* (Dunal) A. Rich, les écorces de *Zanthoxylum leprieurii* (GUILL) et les feuilles de *Harungara madagascariensis* (LAM) ont été collectés en Janvier 2018 dans la région de l'Indénié-Djuablin à l'Est de la Côte d'Ivoire. Pour chaque lot d'une espèce donnée, les espèces étrangères ont été non seulement retirées, mais aussi les récoltes ont été débarrassées des échantillons souillés, pourris, brûlés par le feu ou contaminés par des moisissures ou tout autre parasite. Hormis les écorces, les fruits et les feuilles ont été rincés, égouttés par secousses et découpés en petits morceaux. Ces morceaux de plantes ont été ensuite séchés à l'abri du soleil à la température ambiante (25-30°C) pendant quatre semaines.

Le séchage a été réalisé dans une salle bien aérée et ventilée. Après leur séchage, les éléments végétaux (de chaque espèce de plantes prise séparément) ont été finement broyés à l'aide d'un broyeur électrique IKA-Labortechnik (Type MFC /Janke & Kunkel). Sur la base des informations recueillies auprès des tradithérapeutes la recette a été constituée. Les poudres obtenues après pulvérisation de ces plantes ont été assemblées dans les quantités de $33,33 \pm 1$ g par plantes pour former une composition totale de 100 g. La nouvelle composition obtenue nommée ZHm, a servi pour les différents tests.

2. Matériel animal

Des rats Wistar nullipares et non gestantes avec un poids compris entre 100 et 110 g, provenant de l'animalerie de l'Ecole Normale Supérieure (ENS) d'Abidjan (Côte d'Ivoire) ont été utilisés pour les tests de toxicité aiguë et subaiguë par voie orale. La température ambiante est comprise entre 26 et 30°C, l'humidité se situe entre 40% et 60% et l'éclairage de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Les animaux ont eu un libre accès à l'eau continue dans des biberons et à la nourriture qui est une formulation à partir de pain de boulangerie, de maïs, de poisson et de soja. Toute les procédures et techniques utilisées dans cette expérience ont été réalisées conformément aux lignes directrices de l'institut national de la sante pour les soins et utilisations des animaux de laboratoire (NAC, 2011).

3. Préparation des extraits

3.1. Préparation de l'extrait hydroéthanolique

L'extrait hydroéthanolique a été préparé selon la méthode de Zirihi et al. (2003). Cent grammes (100 g) de poudre végétale ont été dissouts dans un litre de solvant hydroalcoolique comportant 70% d'éthanol et 30% d'eau distillée. Le mélange a été ensuite homogénéisé 10 fois en raison de 2 minutes par tour à l'aide d'un mixeur de marque Severin®. L'homogénat obtenu a été essoré dans un carré de tissu puis filtré successivement trois fois sur du coton hydrophile et ensuite sur du

papier whatman (3 mm). Le filtrat a été évaporé à 45°C à l'aide d'une étuve de type Venticell® pendant 24h. La poudre sèche obtenue a constitué l'extrait éthanolique 70% codifié EZHm.

3.2. Préparation de l'extrait aqueux par décoction

Selon la méthode de Konkon et al. (2008), cent grammes (100 g) de poudre végétale ont été portés à ébullition pendant 20 min dans 2 L d'eau distillée. Le décocté refroidi à la température ambiante (25°C) a été filtré trois fois sur du coton

hydrophile et une fois sur du papier filtre Whatman 3 mm. Le filtrat a été ensuite séché à 50°C à l'aide d'une étuve de type Venticell®.

La poudre obtenue est l'extrait total aqueux codifié DZHm.

3.3. Screening phytochimique

Le screening phytochimique a été réalisé selon la méthode utilisée par Nemlin et Brunel (1995). Les composés phytochimiques recherchés et les réactifs utilisés sont présentés dans le Tableau I.

Tableau I: Réactifs et tests de caractérisation des groupements chimiques

Groupes chimiques	Réactifs	Réactions caractéristiques
Alcaloïdes	Dragendorff Bouchardât	Précipité ou coloration orangée Précipité brun-rougeâtre
Polyphénols	Chlorure ferrique	Coloration bleue noirâtre
Flavonoïdes	Cyanidine	Précipitation rose-orangée
Stérols et les polyterpènes	Liebermann	Anneau vert
Tanins	Stiasny	précipité en gros flocons
Substances quinoniques	Bornstraëgen	Coloration rouge ou violet
Saponines	Agitation	Mousse persistante d'une hauteur de 10 cm

3.4. Toxicité aiguë orale et toxicité subaiguë orale

- Toxicité aiguë orale

Cette étude a été menée conformément à la ligne directrice 423 de l'OCDE pour les tests de produits chimiques (OCDE, 2001). Neuf rats femelles ont été utilisés lors de ce test. Ces rats ont été répartis en 3 lots de 3 rats suivant leur masse. Le lot 1 (lot témoin) ne reçoit que l'eau distillée en raison 1ml pour 100g de poids corporel. Les rats des lots 2 et 3 (lot testé), reçoivent soit l'extrait hydroéthanolique, soit le décocté de la recette par voie orale à la dose unique de 2000mg/kg de pc. Cette dose a été administré par gavage en raison de 1 mL/100 g de poids corporel. Les animaux ont été observés individuellement la demi-heure après l'administration des extraits, une heure après, les quatre heures puis quotidiennement sur 14 jours.

- Toxicité subaiguë orale

Cette étude a été réalisée selon l'OCDE 407 (OCDE, 2008) avec quelques petites modifications.

Des rats mâles et femelles de poids compris entre 100 et 110 g ont été répartis en sept lots de six rats (3 rats mâles et 3 rats femelles) pour chaque extrait.

Le lot 1 a reçu de l'eau distillée à raison de 1 mL/100 g pc, alors que les lots 2, 3 et 4 ont reçu l'extrait aqueux de ZHm et les lots 5, 6 et 7 ont

reçu l'extrait hydroéthanolique de ZHm aux doses respectives de 200 ; 400 et 800 mg/kg pc à raison de 1 mL/100g de poids corporel (PC). Les rats ont été quotidiennement observés et leur poids mesuré tous les quatre jours. Au 29ème jour du test, les rats ont été euthanasiés et le sang de chaque animal a été recueilli dans des tubes de prélèvement.

Les tubes secs (rouges) ont été utilisés pour le dosage des paramètres biochimiques : l'urée, la créatine, l'alanine aminotransférase (ALT), l'aspartate aminotransférase (AST), les triglycérides, HDL et Cholestérol.

Les tubes gris ont été utilisés pour le dosage de la glycémie. Le sérum obtenu après centrifugation a été prélevé pour le dosage de ces paramètres biochimiques à l'aide de l'analyseur Cobas C311 Hitachi de Roche diagnostic.

Les tubes EDTA (violets) ont servi pour le dosage des paramètres hématologiques "les globules rouges et blancs, l'hémoglobine, l'hématocrite, la plaquette, le volume globulaire moyen (VGM), le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH). Ces marqueurs hématologiques ont été déterminés automatiquement grâce au système hématologique automatisé XN-1000i de Sysmex utilisant la puissance des technologies de la cytométrie de flux fluorescente et de la

focalisation hydrodynamique (Ormerod et al., 1993).

3.5. Analyse statistique

Les tests statistiques et les graphes ont été faits avec le logiciel *GraphPad.Prism.V 9.00*. Les résultats ont été présentés sous la forme de

moyenne ± erreurs sur la moyenne. Les données ont été évaluées par la méthode d'analyse ANOVA one-way suivie du test de comparaison multiple de Tukey au seuil de 5% pour apprécier la signification des différences observées.

Résultats

1. Étude phytochimique

L'analyse phytochimique qualitative réalisée sur DZHm et EZHm a révélé la présence de différents groupes de métabolites secondaires. Ces résultats révèlent la présence de polyphénols, de tanins, de flavonoïdes, d'alcaloïdes, de stéroïdes, de triterpènes et de substances quinoniques dans le DZHm et l'EZHm ; en revanche, les saponosides étaient absents dans l'EZHm (Tableau II).

2. Toxicité

2.1. Toxicité aiguë des extraits de la recette ZHm

L'administration orale des extraits de la recette ZHm n'a généré aucun signe de mortalité ni de changement de comportements pendant les 14 jours d'observation, suite à l'administration d'une dose unique des extraits. La DL50 des extraits de la recette ZHm est donc supérieure à 2000 mg/kg de pc. Selon le système général harmonisé de classification (SGH), les extraits de la recette ZHm peuvent être classés non toxiques.

Tableau II : Résultats de l'étude phytochimique des extraits de la recette ZHm

Décocté (DZHm)							Extrait Hydroéthanolique (EZHm)						
S/T	POL	FLA	TAN	SQ	ALC	SA	S/T	POL	FLA	TAN	SQ	ALC	SA
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

(+) : Présence

(-) : Absence

ALC : Alcaloïdes, TAN : Tanin, FLA : Flavonoïde, POL : polyphénols, S/T : Stérole / Triterpènes, SQ : Quinones, SAP : Saponosides.

2.2. Toxicité subaiguë

- Comportement des animaux

Au cours du traitement, il n'a été observé aucune modification du comportement des rats traités par rapport aux témoins. Aucune mortalité n'a été enregistrée ni dans le lot des témoins ni dans les lots des rats traités.

- Effet des extraits de plantes sur la masse corporelle

Durant les 28 jours de traitement, le poids des rats a augmenté progressivement en fonction du temps. Le gain de poids corporel chez les animaux traités avec les différentes doses de 200, 400 et 800 mg/kg de PC avec DZHm et EZHm était sensiblement le même et il n'y avait aucune différence significative ($p > 0,05$) entre les rats traités et les rats témoins qui ont connu une variation du poids (Figures 1 et 2).

- Effet de l'extrait sur le poids des organes

A la fin du traitement, le poids des organes prélevés chez les rats traités (rein, foie, cœur, rate et poumon) n'a pas présenté de différence significative ($p > 0,05$) par rapport à ceux des

témoins (Tableau III et IV). Les différents extraits n'ont pas généré une augmentation du poids.

- Effet des extraits de plantes sur les paramètres hématologiques

Les paramètres hématologiques des rats (mâles et femelles) traités quotidiennement par voie orale aux différentes doses de DZHm et EZHm et du lot témoin sont consignés dans les Tableau V et VI.

• Effet de l'extrait aqueux (DZHm)

L'effet du de l'extrait aqueux sur les paramètres hématologiques chez les rats est présenté dans le Tableau V.

Les résultats indiquent que sur neuf (9) paramètres mesurés au cours de la période d'expérimentation (28 jours), seulement deux (2) ont varié de manière significative. Chez la femelle, les variations significatives sont observées au niveau du nombre de globules blancs à toutes les doses testées, ces valeurs ont été de $16,54 \pm 0,15$; $18,48 \pm 0,16$ et de $19,29 \pm 0,37$ aux doses respectives de 200, 400 et 800 mg / kg pc de DZHm contre ($12,24 \pm 0,01$) pour le témoin.

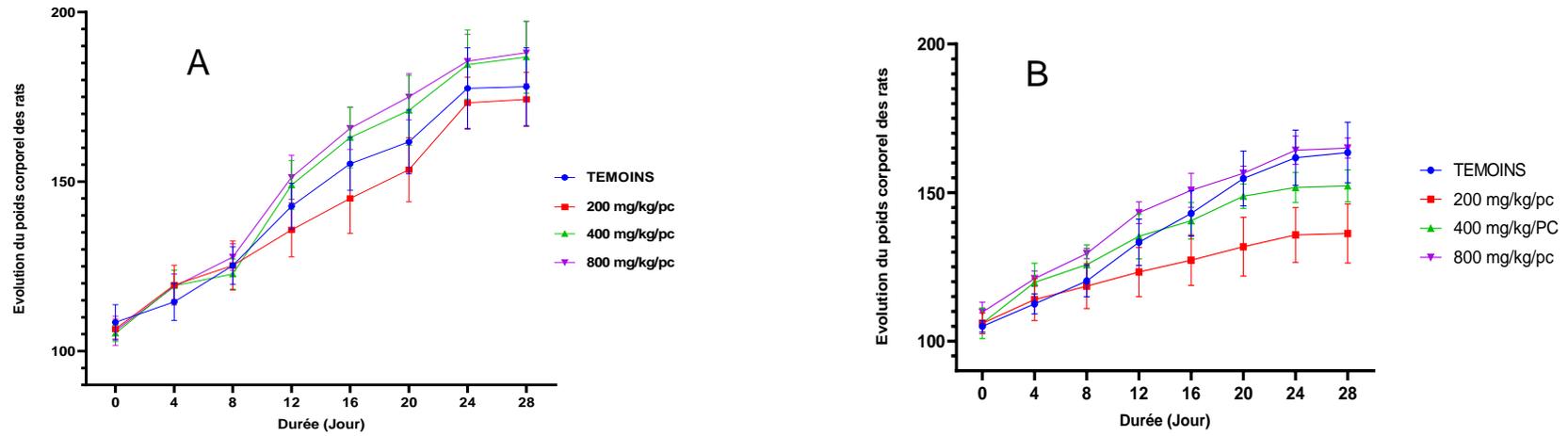


Figure 1 : Variation du poids corporel des animaux traités avec l'extrait aqueux de ZHm (DZHm).
A) Rats mâles B) Rats femelles.

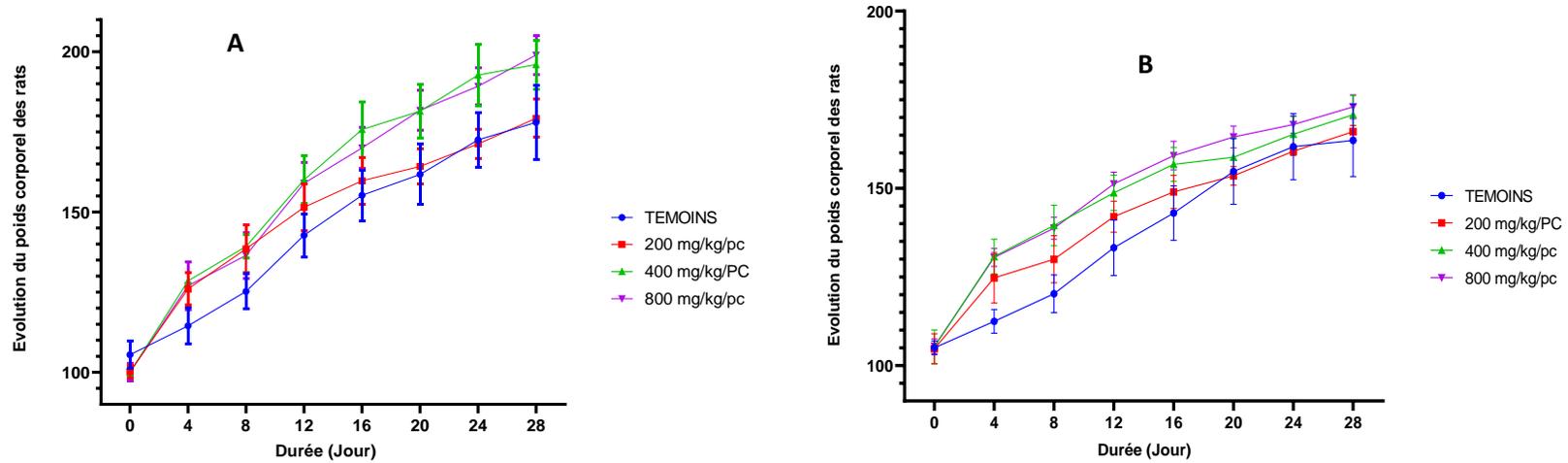


Figure 2 : Variation du poids corporel des animaux traités avec l'extrait hydroéthanolique de ZHm (EZHM).
A) Rats mâles B) Rats femelles.

Tableau I : Effets de DZHm sur le poids frais des organes des rats mâles et femelles après 28 jours de traitements

Traitement des animaux (mg/kg de Pc)		Poids relatifs des organes (g/100 g de PC)									
		Reins		Foie		Cœur		Rate		Poumons	
		Moy	P-value	Moy	P-value	Moy	P-value	Moy	P-value	Moy	P-value
Témoins	Mâles	0,60±0,01		2,94±0,09		0,35±0,00		0,32±0,02		0,83±0,07	
	Femelles	0,55±0,02		2,91±0,15		0,37±0,00		0,27±0,04		0,80±0,04	
200	Mâles	0,62±0,00	0,622	3,18±0,13	0,408	0,34±0,01	0,974	0,34±0,05	0,986	0,78±0,07	0,951
	Femelles	0,64±0,04	0,331	2,98±0,10	0,977	0,40±0,01	0,232	0,36±0,04	0,682	1,2±0,23	0,236
400	Mâles	0,64±0,00	0,123	3,08±0,10	0,760	0,35±0,01	0,992	0,40±0,03	0,456	0,73±0,6	0,746
	Femelles	0,60±0,04	0,756	3,03±0,15	0,908	0,37±0,00	0,995	0,41±0,07	0,344	0,95±0,14	0,877
800	Mâles	0,61±0,00	0,931	2,95±0,8	0,999	0,36±0,00	0,873	0,35±0,03	0,954	0,78±0,08	0,960
	Femelles	0,64±0,01	0,399	3,12±0,09	0,656	0,38±0,01	0,982	0,47±0,04	0,086	0,90±0,06	0,951

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM, n= 6. MOY : Moyenne.

Tableau IIV : Effets d'EZHm sur le poids frais des organes des rats mâles et femelles après 28 jours de traitements

Traitement des animaux (mg/kg de Pc)		Poids relatifs des organes (g/100 g de PC)									
		Reins		Foie		Cœur		Rate		Poumons	
		Moy	P-value	Moy	P-value	Moy	P-value	Moy	P-value	Moy	P-value
Témoins	Mâles	0,60±0,01		2,94±0,09		0,35±0,00		0,32±0,02		0,83±0,07	
	Femelles	0,55±0,02		2,91±0,15		0,37±0,00		0,27±0,04		0,80±0,04	
200	Mâles	0,61±0,02	0,999	2,95±0,12	0,999	0,38±0,03	0,795	0,26±0,02	0,365	0,93±0,12	0,994
	Femelles	0,62±0,02	0,348	3,00±0,23	0,967	0,40±0,03	0,847	0,32±0,04	0,816	0,94±0,06	0,736
400	Mâles	0,68±0,07	0,535	3,06±0,21	0,947	0,40±0,02	0,300	0,27±0,02	0,487	1,57±0,5	0,302
	Femelles	0,61±0,00	0,425	2,87±0,09	0,997	0,39±0,01	0,866	0,29±0,03	0,992	1,12±0,14	0,107
800	Mâles	0,57±0,01	0,955	2,96±0,18	0,999	0,36±0,01	0,995	0,24±0,01	0,144	0,83±0,07	0,999
	Femelles	0,58±0,03	0,850	2,68±0,07	0,746	0,42±0,03	0,479	0,26±0,02	0,996	0,82±0,06	0,996

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM, n= 6. MOY : Moyenne.

Tableau V : Effet de DZHm sur les paramètres hématologiques des rats après 28 jours de traitement

Paramètres	Sexes	LOTS			
		Témoins (eau distillée)	200 (mg/kg.pc)	400 (mg/kg.pc)	800 (mg/kg.pc)
GB ($10^3/\text{mm}^3$)	Mâle	11,25±0,56	15,92±1,957**	16,49±3,97**	22,48±3,84**
	Femelle	12,24±2,49	16,51±0,28**	18,73±3,47**	19,04±0,99**
GR ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Mâle	7,95±0,26	8,09±0,24	8,15±0,2	8,52±0,06
	Femelle	7,39±0,43	8,02±0,30	7,57±0,23	7,55±0,2
Hb (g/dL)	Mâle	12,75±0,53	14,05±0,5**	14,4±0,18**	14,33±0,19**
	Femelle	12,25±0,11	14,03±0,23**	14,30± 0,24**	14,45±0,17**
Hte (%)	Mâle	48,3±1,87	47,4±1,87	46,7±0,8	49,48±0,44
	Femelle	44,4±1,57	48,73±1,02	45,15± 1,74	44,48±1,19
VGM (FL/cell)	Mâle	60,73±0,91	58,53±0,66	57,28±0,48	58,05±0,93
	Femelle	60,28±1,35	60,8±1,63	59,55± 1,02	58,98±0,80
TCMH	Mâle	16,9±0,29	16,85±0,43	16,4±0,23	16,83±0,3
	Femelle	17,3±0,44	17,28±0,43	17± 0,17	16,95±0,3
CCMH (g/dL)	Mâle	27,85±0,01	28,30±0,12	28,65±0,20	28,98±0,03
	Femelle	27,03±0,22	28,3±0,12	28,53± 0,33	27,7±0,17
PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Mâle	879±105,9	942±56,4	897,8±70,64	844±49,54
	Femelle	1022±20,1	939,5±23,61	896,6± 81,5	889±76,3
LYM (%)	Mâle	13,34±3,59	13,65±2,04	19,59±3,58	12,83±3,88
	Femelle	10,58±1,8	13,61±1,61	15,88± 2,75	13,84±0,33

Les données ont été exprimées par moyenne \pm SEM ; $p < 0,05$: (*) ; $p < 0,01$: (**). Globules blancs ($\times 10^3/\text{mm}^3$) ; GB, Globules rouges ($\times 10^6/\text{mm}^3$) ; Hémoglobine (g/dl) ; Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (g/ dL); Plaquettes ($\times 10^3/\text{mm}^3$) ; Lymphocyte (%) ; Hématocrite (%) ; Volume globulaire moyen (FL/cell).

Tableau III : Effet d'EZHm sur les paramètres hématologiques des rats après 28 jours de traitement

Paramètres	Sexes	LOTS			
		Témoins (eau distillée)	200 (mg/kg.pc)	400 (mg/kg.pc)	800 (mg/kg.pc)
GB (10 ³ / mm ³)	Mâle	11,25±0,56	11,01±0,77	8,35±1,6	7,43±1,1
	Femelle	12,24±2,49	7,83±3,59	10,13±2,35	9,04±1,13
GR (x10 ⁶ /mm ³)	Mâle	7,95±0,26	8,83±0,36	6,93±0,5	7,81±0,53
	Femelle	7,39±0,43	6,75±0,94	7,3±0,3	7,24±0,17
Hb (g/dL)	Mâle	12,75±0,53	13,78±0,07	13,65±0,255	14,15±0,32**
	Femelle	12,25±0,45	13,43±1,57	13,43±0,44	14,4±0,4**
Hte %	Mâle	48,3±1,87	44,5±1,05	45,43±0,2	48,15±1,07*
	Femelle	44,4±1,57	44,37±2,6	44,68±0,36	49,09±1,08*
VGM (FL/cell)	Mâle	60,73±0,91	56,8±1,16	55,3±0,42	56,93±0,76
	Femelle	60,28±1,35	55,5±1,35	57,2±1,03	55,07±1,03
TCMH	Mâle	16,9±0,29	16,65±0,68	16,68±0,14	16,8±0,17
	Femelle	17,3±0,44	16,97±0,29	17,03±0,23	17,1±0,23
CCMH (g/dL)	Mâle	27,85±0,01	29,6±0,58*	30,15±0,39**	31,03±0,58**
	Femelle	27,03±0,22	30,07±0,5	30,08±0,17	31,1±0,36
PLT (x10 ³ /mm ³)	Mâle	879±105,9	678±148,7	512±166,2	769,5±63,55
	Femelle	1022±20,1	567±243,4	862,8±144,9	629±157
LYM (%)	Mâle	13,34±3,59	9,54±0,6	6,73±1,5	6,11±0,95
	Femme	10,58±1,88	4,461±3,2	6,73±2,7	8,03±0,9

Les données ont été exprimées par moyenne ± SEM ; p < 0,05 : (*) ; p < 0,01 : (**). Globules blancs (x10³/mm³) ; GB, Globules rouges (x10⁶/mm³) ; Hémoglobine (g/dl) ; Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (g/ dL); Plaquettes (x10³/mm³) ; Lymphocyte (%) ; Hématocrite (%) ; Volume globulaire moyen (FL/cell).

Concernant les variations du taux hémoglobines, l'administration de DZHM induit une augmentation significative du taux de Hb chez les rats aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg de PC, ces valeurs ont été respectivement de 14,03 ± 0,23 ; 14,30 ± 0,24 et 14,45 ± 0,17 comparées aux témoins femelles (12,25 ± 0,11 10 g/dL). Quant aux taux d'hémoglobine des mâles, il a été de 14,05 ± 0,5 ; 14,4 ± 0,18 et 14,33 ± 0,19 pour les rats traités avec 200, 400 et 800 mg/ kg de PC de DZHM respectivement tandis que les mâles témoins avaient un taux d'hémoglobine de 12,75±0,53.

Cet extrait a également généré une augmentation de la CCMH à 28,3± 0,12 ; 28,53± 0,33 et 28,7± 0,17 aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg de PC respectivement par rapport aux valeurs témoin (27,23± 0,08) chez les femelles. Chez les mâles, cette variation a été de 28,30 ± 0,12 ; 28,65 ± 0,20 et 28,98 ± 0,03 aux doses respectives de 200, 400 et 800 mg / kg pc de DZHM contre (27,85 ± 0,01) pour le témoin.

• *Effet de l'extrait hydroéthanolique (EZHm)*

Les valeurs des paramètres (Hb, Hte et CCMH) ont augmenté de façon significative par rapport aux rats témoins.

Comparativement aux rats témoins (12,75 ± 0,45), l'administration d'EZHm à la dose 800 mg/kg de pc aux animaux augmente significativement le taux d'Hb (p < 0,01). Ce taux a été de 14,15 ± 0,32 et 14,40 ± 0,4 chez les rats mâles et femelles respectivement. A cette même dose, le taux Hte passe à 48,16 ±1,07 tandis que celui du témoin était de 43,15 ± 0,88.

Les doses de 200, 400 et 800 mg/kg de PC d'EZHm reçues par les rats ont augmenté significativement le taux de la CCMH (29,6 ± 0,18 10⁹/L ; 30,15 ± 0,39 10⁹/L et 31,03 ± 0,58 10⁹/L) respectivement comparé aux témoins (28,73 ± 0,22 10⁹/L) après 28 jours de traitement (Tableau VI).

- *Effet des extraits des plantes sur les paramètres biochimiques*

L'administration quotidienne de DZHM et EZHM aux rats mâles et femelles pendant 28 jours, par voie orale, n'a pas modifié les valeurs de certains paramètres biochimiques. Les mâles et femelles traités avec ces extraits n'ont présenté aucun changement significatif (P>0,05) du taux de l'urée, de la créatinine, de l'ASAT, de l'ALAT, de Triglycérade, de HDL, de cholestérol total sérique et de la glycémie par rapport aux rats témoins (Tableau VII et VIII).

Tableau VII : Effet de DZHm sur les paramètres biochimiques des rats après 28 jours de traitement

Lots	Glycémie (mmol/L)		Urée (mmol/L)		Créatinine (µmol/L)		ASAT (U/l)		ALAT (U/l)		Triglycérides (g/L)		HDL (g/L)		CHO (g/L)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Témoins (eau distillée)	0,74 ± 0,10	0,74 ± 0,75	0,31 ± 0,03	0,39 ± 0,03	3 ± 0,41	4 ± 0,00	246,4 ± 11,12	191,2 ± 25,23	45,25 ± 3,33	30,63 ± 7,21	0,82 ± 0,09	1,02 ± 0,19	42,63 ± 2,45	58,7 ± 3,4	0,57 ± 0,56	0,71 ± 0,01
200 (mg/kg/pc)	0,79 ± 0,04	0,79 ± 0,02	0,24 ± 0,02	0,41 ± 0,04	2,75 ± 0,25	4 ± 0,41	163,7 ± 44,85	221,7 ± 22,8	37,58 ± 4,47	33,27 ± 1,29	0,69 ± 0,09	0,9 ± 0,07	45,95 ± 1,8	45 ± 4,65	0,67 ± 0,02	0,65 ± 0,01
400 (mg/kg/pc)	0,88 ± 0,05	0,86 ± 0,06	0,30 ± 0,03	0,37 ± 0,02	2,75 ± 0,25	3,75 ± 0,25	205,6 ± 16,47	202,1 ± 19,71	42,48 ± 2,58	31,18 ± 3,39	0,9 ± 0,04	0,69 ± 0,09	43,93 ± 3,77	45,53 ± 3,1	0,62 ± 55,9	0,58 ± 0,03
800 (mg/kg/pc)	0,82 ± 0,03	0,78 ± 0,06	0,25 ± 0,01	0,31 ± 0,03	3 ± 0,0	3 ± 0,0	236,9 ± 18,49	244,2 ± 38,76	43,1 ± 2,53	37,63 ± 3,09	0,89 ± 0,04	0,93 ± 0,12	40,25 ± 2,37	49,22 ± 5,19	0,6 ± 0,04	0,65 ± 0,08

Les données sont exprimées par moyenne ± SEM., (n = 6) ; ASAT : Aspartate aminotransférase (U/l) ; ALAT : Alanine aminotransférase (U/l) Urée (mg/l) ; CEAT, Créatine (mg/l) ; CHOL : Cholestérol (g/l); TG : Triglycérides (g/l) et HDL : Lipoprotéines de haute densité. M : Mâle / F : Femelle.

Tableau VIII : Effets d'EZHm sur les paramètres biochimiques des rats après 28 jours de traitement

Lots	Glycémie (mmol/L)		Urée (mmol/L)		Créatinine (µmol/L)		ASAT (U/l)		ALAT (U/l)		Triglycérides (g/L)		HDL (g/L)		CHO (g/L)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Témoins	0,74 ± 0,10	0,75 ± 0,75	0,31 ± 0,03	0,39 ± 0,03	3 ± 0,41	4 ± 0,00	246,4 ± 11,1	191,2 ± 25,2	45,2 ± 3,33	30,6 ± 7,21	0,82 ± 0,09	1,02 ± 0,19	42,63 ± 2,45	58,7 ± 3,4	0,57 ± 0,56	0,71 ± 0,01
200 (mg/kg/pc)	0,87 ± 0,66	0,84 ± 0,09	0,25 ± 0,01	0,31 ± 0,03	3 ± 0,01	3,5 ± 0,02	212,6 ± 7,22	220 ± 30,1	38,9 ± 1,4	27,6 ± 1,87	0,89 ± 0,09	1,33 ± 0,87	35,93 ± 5,08	46,75 ± 3,04	0,58 ± 0,05	0,6 ± 0,04
400 (mg/kg/pc)	0,83 ± 0,06	0,89 ± 0,07	0,31 ± 0,03	0,34 ± 0,04	3,5 ± 0,02	3,25 ± 0,01	321,6 ± 7,2	202,1 ± 11,6	38,2 ± 6,44	22,5 ± 3,05	1,03 ± 0,27	1,31 ± 0,17	37,55 ± 9,2	53,9 ± 5,75	0,57 ± 0,12	0,67 ± 0,05
800 (mg/kg/pc)	0,74 ± 0,03	0,75 ± 0,04	0,29 ± 5,9	0,29 ± 0,01	3 ± 0,01	4 ± 0,01	215,2 ± 5,07	203,7 ± 18,2	48,9 ± 3,32	37, ± 2,07	1,54 ± 0,17	1,43 ± 0,16	50,65 ± 1,8	52,23 ± 3,41	0,68 ± 0,01	0,66 ± 0,05

Les données sont exprimées par moyenne ± SEM., (n = 6) ; ASAT : Aspartate aminotransférase (U/l) ; ALAT : Alanine aminotransférase (U/l) Urée (mg/l) ; CEAT, Créatine (mg/l) ; CHOL : Cholestérol (g/l); TG : Triglycérides (g / l) et HDL : Lipoprotéines de haute densité. M : Mâle / F : Femelle.

- **Effet des extraits des plantes sur la variation sanguine des ions (P, Ca et Mg)**

Le résultat des analyses des électrolytes n’a révélé aucune variation significative ($p > 0,05$) chez les rats traités avec DZHm par rapport aux rats normaux (témoins). Par contre, les rats traités avec EZHm ont connu une baisse peu significative ($p < 0,05$) du taux de magnésium

sanguin. Cette baisse du magnésium était de $2,22 \pm 0,07$; $2,16 \pm 0,05$ et de $1,88 \pm 0,29$ pour les doses de 200, 400 et 800 mg/Kg de PC respectivement comparé à celle des rats non traités qui était de $2,94 \pm 0,06$. Les résultats sont résumés dans le tableau IX.

Tableau IIV : Effet des extraits des plantes sur la variation des ions sanguins

Extraits	Lots	P		Ca		Mg	
		M	F	M	F	M	F
Extrait aqueux (DZHm)	Témoins (eau distillée)	75,25± 3,5	70,65± 2,98	9,6 ± 0,31	10,25± 0,27	2,85± 0,11	2,95± 0,24
	200 (mg/kg/pc)	86,15± 8,9	68± 1,3	9,8 ± 0,56	9,45 ± 0,54	2,76± 0,72	2,65± 0,11
	400 (mg/kg/pc)	76,53± 3,93	74,5± 5,88	9,75 ± 0,18	10,28 ± 0,32	2,245± 0,72	2,95± 0,14
	800 (mg/kg/pc)	76,3± 2,91	76,6± 2,96	9,5 ± 0,16	9,87± 0,22	2,99± 0,23	2,87± 0,07
	200 (mg/kg/pc)	79,35± 3,43	64,1± 1,9	9,55 ± 0,3	10,1± 0,10	2,2± 0,07*	2,21± 0,08*
Extrait Hydroéthanolique (EZHm)	400 (mg/kg/pc)	80,58± 6,27	71,1± 2,75	9,57 ± 0,28	10,15± 0,10	2,16± 0,05*	2,08± 0,05*
	800 (mg/kg/pc)	80,9± 1,96	80,1± 3,8	9,82 ± 0,17	9,47± 0,24	1,88± 0,29*	2,09± 0,11*

Les données ont été exprimées par moyenne \pm SEM; $p < 0,05$: (*). Phosphore (P) ; Calcium (Ca) ; magnésium (Mg). M : Mâle / F : Femelle.

Discussion

Le but de cette étude était de vérifier l’innocuité des extraits aqueux (DZHm) et hydro-éthanolique (EZHm) de la combinaison de *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* puis de *X. aethiopica* pendant 28 jours chez le rat. Il s’est agi d’abord d’identifier les métabolites secondaires présents dans le mélange de trois plantes avant d’étudier la toxicité. L’analyse des résultats de l’étude phytochimique a révélé la présence d’alcaloïdes, de tanins catéchiques, de flavonoïdes, de polyphénols, de stérols, de terpènes et de substances quinoniques dans les extraits aqueux et hydroéthanoliques de la recette (ZHm). La présence de ces métabolites secondaires dans les deux extraits de ZHm a été confirmée par différents auteurs.

A ce jour, aucune équipe n’a travaillé sur les combinaisons de plantes choisies telles que présentée dans cette étude. En effet, le criblage phytochimique réalisé par Kpomah (2012), Akakpo-Akue (2020), Evelyne (2020) sur *Zanthoxylum leprieurii* a révélé la présence de tanins, de flavonoïdes, de terpénoïdes, d’alcaloïdes. Les travaux des auteurs suivants (Yusuf et al., 2014 ; Olusayo et al., 2018 ; Happi et

al., 2020) ont démontré la présence de tanins, de flavonoïdes, de leucoanthocyanines, de terpénoïdes, de saponosides et de stéroïdes dans *Harungara madagascariensis* et dans *Xylopi aethiopica*. Les résultats du tri phytochimique des extraits de plantes prises individuellement justifient la présence de ces différents groupes chimiques dans la recette ZHm.

Bien que ces extraits de plantes de la recette soient riches en métabolites secondaires et présentent des activités biologiques prometteuses selon la littérature, des études toxicologiques devraient être réalisées avant leur vulgarisation.

En ce qui concerne l’analyse des résultats des tests de toxicité aiguë, les résultats ont révélé que les extraits de ZHm ne sont pas toxiques pour la consommation humaine.

En effet, l’administration orale n’a provoqué aucun signe de toxicité pendant les 14 jours de l’étude. Il ressort de cette analyse que la recette appartient à la catégorie 5 et est considérée comme une substance non toxique lorsqu’elle est utilisée par voie orale selon Roopashree et al. (2009). L’efficacité d’une substance en pharmacologie n’est pas suffisante pour justifier

son introduction éventuelle en thérapeutique. En plus de son efficacité, elle ne doit pas produire d'effets toxiques et nocifs pour l'organisme à la dose active. En effet, l'administration quotidienne par voie orale des différentes doses du DZHm et de l'EZHm n'a aucun effet sur les paramètres de croissance pondérale, les poids relatifs des organes, les paramètres biochimiques et hématologiques des rats. Le traitement des rats avec différents extraits de la recette ZHm n'a pas causé de mort, ni de changement de comportement, ni de signe quelconque de toxicité. L'accumulation des effets avec différentes doses d'extraits au cours des 28 jours n'a pas été suffisante pour influencer significativement la masse pondérale des rats et le poids relatif des organes tels que le foie, le cœur, les reins, les poumons et la rate. Selon (Mandonnet et al., 2011), le maintien du poids corporel observé chez les rats après l'administration des extraits pendant 28 jours pourrait s'expliquer par des réponses normales d'adaptation physiologique des animaux. L'administration de DZHm et EZHm aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg pc pendant 28 jours n'a généré aucune perte de poids corporel chez les animaux. Ces résultats vont dans le même sens que ceux de Bidié et al. (2016). Ces auteurs ont montré dans leurs études que l'extrait administré aux rats ne causait pas de perte de poids pendant les 28 jours. En dehors du poids corporel, la présente étude a tenu compte des effets des extraits sur le système hématopoïétique.

L'une des cibles des substances thérapeutiques dans l'organisme est le système hématopoïétique. L'analyse des données des paramètres sanguins dans cette étude toxicologique a permis d'évaluer l'innocuité des extraits de ZHm. Après 28 jours de traitement, l'analyse des résultats montre une légère augmentation du nombre des globules blancs, du taux Hb, Hte et CCMH chez les rats traités avec les extraits (DZHm et EZHm) par rapport aux témoins. En effet, les globules blancs sont des cellules protectrices de l'organisme contre l'infection (Chabert et al., 2017). Les extraits de la recette ZHm auraient un effet sur les globules blancs grâce à la présence des tanins dans ces extraits. L'augmentation du taux de l'Hb, de l'Hte et de la CCMH pourrait être due à l'effet stimulant de l'extrait sur la production d'éléments régulateurs hématopoïétiques tels que l'érythropoïétine (Olusayo et al., 2018). Ces résultats vont dans le même sens que ceux obtenus par Etame et al. (2017) et Olusayo et al. (2018) qui ont montré que les différents extraits

de *H. madagascariensis* ne réduisaient pas le taux d'hémoglobine, le paramètre le plus sensible pour détecter l'anémie. L'altération de l'érythropoïèse après l'administration d'une substance thérapeutique se caractérise par une anémie suite à la lyse des cellules sanguines par les agents actifs du produit (Gandhare et al., 2013). Par conséquent, l'administration des extraits de ZHm ne pourrait pas induire l'anémie chez rats.

Quant aux paramètres biochimiques, les résultats obtenus montrent que les teneurs des enzymes tels que l'ALAT et l'ASAT n'ont pas varié chez les animaux traités avec DZHm et EZHm aux doses 200, 400, 800 mg/kg pc par rapport aux témoins. En effet, le cœur, les reins et le foie sont les cibles privilégiées des substances toxiques. Une fois lésés, ces organes libèrent leurs contenus enzymatiques ou protéiques dans le sang. L'ALAT et l'ASAT sont des marqueurs de la toxicité hépatique et leurs taux sériques élevés renseignent sur une lésion des hépatocytes (Kumar et al., 2004). L'ALAT est plus spécifique d'une atteinte hépatique, mais l'ASAT est surtout présente dans le foie, les muscles, le cœur, les reins, le cerveau et le pancréas (Djyh et al., 2020). Dans le cas de cette étude, DZHm et EZHm aux doses 200, 400, 800 mg / kg pc ne perturbent pas la fonction enzymatique (ALAT et ASAT) des rats traités. Ce résultat pourrait s'expliquer par le rôle hépato-protecteur des polyphénols et leur dérivé présent dans les extraits (DZHm et EZHm) et de l'activité antioxydante que possède les extraits de la recette ZHm.

Les concentrations sériques de l'urée et de la créatinine qui sont des marqueurs d'atteinte de la fonction rénale n'ont pas varié significativement en présence des extraits (DZHm et EZHm) de la recette ZHm. Il en est de même pour le HDL, le Cholestérol total et les Triglycérides qui sont des marqueurs de la fonction cardiaque. Une telle assertion a été confirmée par Bekhaled et al. (2020). L'administration des différentes doses de DZHm et EZHm aux rats pendant 28 jours n'a pas modifié significativement les valeurs sériques de l'ensemble des paramètres biochimiques des marqueurs d'atteinte des reins, du cœur et du foie par rapport aux rats du lot témoin, ce qui suggère que ces extraits n'ont pas affecté ces organes vitaux.

Les résultats de cette étude sont similaires à ceux d'Etame et al. (2017) et Olusayo et Barizonmdu (2020) portant sur la toxicité des extraits aqueux, éthanolique et méthanolique des feuilles, graines et écorces du tronc de *H. madagascariensis*

respectivement. Ces auteurs ont rapporté que l'administration quotidienne des différents extraits de *H. madagascariensis* n'a pas augmenté le taux de certains marqueurs du foie, du cœur et des reins et d'autres paramètres biochimiques. Les travaux de toxicité avec l'extrait hydroéthanolique de *X. aethiopica* réalisés par Imo et al. (2021) sur les rats révèlent que cette plante serait associée à la biosynthèse des protéines et à la synthèse de l'hémoglobine, favorisant ainsi le fonctionnement efficace des cellules du foie.

Conclusion

En définitive, les données des études toxicologiques effectuées sur les extraits de ZHm (DZHm et EZHm), montrent que les extraits ne sont pas toxiques par voie orale chez les rats à dose unique et répétée pendant 28 jours. Le test de toxicité aiguë chez les rats Wistar a montré que la DL₅₀ de ZHm est supérieure à 2000 mg/kg. L'analyse des marqueurs biochimiques (ALT, AST, Urée, Créatinine, Triglycérides, HDL,

Cet effet pourrait être attribué à la présence des composés chimiques de cette plante dans DZHm et EZHm. En effet, les composés phénoliques, les polyterpènes et les alcaloïdes présents dans ces extraits sont reconnus pour leurs activités antioxydantes, anticancéreuses, apoptotiques et antitumorales (Ngoumtsop et al., 2021). Ces résultats viennent confirmer les données des tests biochimiques concernant une plausible action protectrice des reins, du foie, du cœur, des poumons et de la rate par DZHm et EZHm.

LDL et le Cholestérol total) et hématologiques (GR, GB, Hb, HCT, etc.) a démontré l'innocuité de ZHm. Au regard des résultats obtenus, les extraits de la recette de ZHm étant riche en métabolites bioactifs, et leurs nombreuses potentialités pharmacologiques militent en faveur de l'amélioration de la santé, justifieraient ses nombreux usages thérapeutiques dans l'Indénié-Djuablin.

Références

- 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 & Plant Sciences*, 45(1): 7839-7852.
- Bamba A., Yapi H.F., Djyh B.N., 2015. Determination of hematological parameters and Biochemical markers of kidneys and liver in the acute toxicity of *Gomphrena celosoides* ethanol extract. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 3(4): 2321-9122.
- Bekhaled I., Benalia A., Mehida H., Meziani S., Tarfaoui L., Djjebar A.A., Mai A.H., Bensaid I., Demmouche A., 2020. Evaluation of the Acute Toxicity of Dandelion (*Taraxacum officinale*) Roots. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(3): 159-163.
- Béné K., Camara D., Fofie N.B.Y., Kanga Y., Yapi A.B., Yapo Y.C., Ambe S.A., Zirihi G.N., 2016. Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le Département de Transua, District du Zanzan (Côte d'Ivoire). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 27(2): 4230-4250.
- Bidie A.P., Adeoti F.M., Yapo F.A.T., Justine W., N'Guessan J.D., Djaman J.A., 2016. Effet de l'extrait total aqueux de *chrysophyllum perpulchrum* sur les paramètres hématologiques, biochimiques et la croissance pondérale des rats wistar sains. *Revue Ivoirienne des Sciences et Technologie*, 28: 333 - 348.
- Bla K.B., Trebissou J.N.D., Bidie A., 2015. Étude ethnopharmacologique des plantes antipaludiques utilisées chez les Baoulé N'Gban de Toumodi dans le Centre de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 85: 7775-7783.
- Djyh BN, Tra BIO, Oungbé MD, Gnahoué GL, Kra A.K.M., D'almeida M.K., Djaman A.J., 2020. Effects of Repeated Administration of Extracts from *Arachis hypogaea* Hulls on Blood Parameters and Histological Organization of Heart, Liver and Kidneys of Rats *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 29(1): 20-33.
- El-Said F., Sofowora E., Malcolm A., Hoffer A., 1969. An investigation into the efficacy of *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) as used in Nigeria native medicine. *Planta Medica*; 17: 150-165.
- 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.
- Evelyne A.T., Guy B.B., Fatimata N., Manon G., Esse L.W., Allison L., Henri M., Zanahi F.T., Michel F., Marie-Laure F., 2020. Seasonal Ect on the Chemical Composition, Insecticidal Properties and Other Biological Activities of *Zanthoxylum leprieurii* Guill. & Perr. *Essential Oils; Foods*, 9: 550.
- Gandhare B., Kavimani S., Raj Kapoor B., 2013. Étude de toxicité aiguë et subaiguë d'un extrait méthanolique de *Ceiba pentandra* (Linn.) Gaertn. sur les rats. *Journal de la recherche scientifique*, 5(2).
- Gbolo B.Z., Asamboia L.S., Bongo G.N., Tshibangu D.S.T., Kasali F.M., Memvanga P.B., Ngbolua K.N., Mpiana P.T., 2017. Bioactivity and Chemical Analysis of Drepanoalpha® hard capsules: An Anti-Sickle Cell Anemia Poly-Herbal Formula from Congo-Kinshasa. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 5:1-7.

- Happi G.M., Tiani G.L.M., Gbetkom B.Y.M., Hussain H., Green I.R., Ngadjui B.T., Kouam S.F., 2020.** Phytochimie et pharmacologie de *Harungana madagascariensis*: mini revue. *Phytochemistry Letters*; 35:103-112.
- Imo C., Arowora K.A., Ezeonu C.S., Ikwebe J., Yakubu O.E., Imo N.G., Danlami G.C., 2021.** Biochemical and histological effects of ethanolic extracts of fruits of *Xylopi aethiopica* and seeds and leaves of *Piper guineense* on liver and kidney function in male albino rats. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(35) :12.
- Iyanus E.W., Turner E.A., Asakura T., 2002.** In vitro effects of NIPRISAN (Nix-0699): a naturally occurring, potent antisickling agent. *British Journal of Haematology*, 118(1): 337-343.
- Konkon N.G., Adjoungoua A.L., Manda P., Simaga D., N'Guessan K.E., Koné B.D., 2008.** Toxicological and phytochemical screening study of *MitragynaInermis* (willd.) O ktze (Rubiaceae), anti-diabetic plant. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(10):279-284.
- Kpomah E.D., Uwakwe A.A., Abbey B.W., 2012.** Aphrodisiac studies of diherbal mixture of *Zanthoxylum leprieurii* Guill. & Perr. And *Piper guineense* Schumach. & Thonn. on male wistar rats. *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*, 1: 381.
- Kumar B., Sharmila P., Vanithapappa M., Sundararajan M., Rajasekara P., 2004.** Hepatoprotective activity of Trian the maportulacastruml against paracetamol and thioacetamide intoxication in albino rats. *Journal of Ethnopharmacology*; 92: 37-40.
- Mavian P.W., 2012.** Activité antifalcémiant et screening phytochimique de la fraction éthéro-méthanolique de BEAT-SS. Thèse de Doctorat Université de Kinshasa – Pharmacien, Congo, 188p.
- Nemlin J., Brunel J.F., 1995.** Fascicule de Travaux Pratiques de Matière Médicale (3ème année). Université Nationale de Côte-d'Ivoire. Faculté de Pharmacie. Département de Pharmacognosie. Laboratoire de Phytologie, 47p.
- Mandonnet N., Tillard E., Faye B., Collin A., Gourdine J-L., Naves M., Bastianelli D., Tixier-Boichard M., Renaudeau D., 2011.** Adaptation des animaux d'élevage aux multiples contraintes des régions chaudes. *INRA Productions Animales*, 24(1): 41-64.
- NAC (National Academy Council), 2011.** Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals Institute for Laboratory Animal Research. 8th Eighth Edition Washington DC. The national academy press; 248p.
- Ngountsop V.H, Tchoffo H, Guiekep NAJ, Mutwedu V, Ngoula F. 2021.** Hepato-Preventive Effects of Hydroethanolic Leaves Extract of *Persea americana* Mill. (Lauraceae) "Avocado" against Antouka Super® Induced Damage in Male Japanese Quail (*Coturnix coturnix Japonica*). *Journal of Veterinary Medicine*, 11: 41-56.
- OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development) 2001.** Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques de la toxicité orale aiguë –méthode par classe de toxicité aiguë, 1-5.
- OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development) 2008.** Repeated dose 28 day oral toxicity study in rodents, updated with parameters for endocrine effects, Head of Publications Service, Paris Guideline 407.
- Olusayo A.S., Mbajiorgu A.C., Afiero O.E., 2018.** Trace element composition and anti anaemic effects of the ethanol extract of *Harungana madagascariensis* Lam. Ex Poiret. in phenylhydrazine induced anaemia in albino rats. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 21(2):1-7.
- Olusayo A.S., Monsi B., 2020.** Implications toxicologiques du fruit de *Harungana madagascariensis* sur les rats wistar. *Phytoscience clinique*, 6(1).
- OMS (Organisation mondiale de la santé) 2006.** La drépanocytose dans la region africaine : situation actuelle et perspectives. Cinquante sixieme session, *Rapport du Directeur regional*, AFR/RC/56/17 : 1-22.
- Ormerod M.G., Sun X.M., Snowden Roger T., Reginald D., Fearnhead H., Cohen G.M., 1993.** Increased Membrane Permeability of Apoptotic Thymocytes: A Flow Cytometric Study. *Cytometry*, 14:595-602.
- Ouattara A., 1991.** Approche thérapeutique de la maladie drépanocytaire. Etude préliminaire comparée du traitement par une présentation galénique moderne de deux plantes médicinales : *Fagara zanthoxyloïdes* Lam. et *Calotropis procera* Ait. d'un médicament usuel de référence: la dihydroergotoxine au centre hospitalier national Yalgado Ouédraogo. Thèse Médecine Ouagadougou, 150p.
- Roopashree T.S., Raman D., Rani R.H.S., Narendra C., 2009.** Acute oral toxicity studies of antipsoriatic herbal mixture comprising of aqueous extracts of *Calendula officinalis*, *Momordica charantia*, *Cassia tora* and *Azadirachta indica* seed oil. *Thai. Journal of Pharmaceutical Sciences*, 33(2-3): 74-83.
- Saad B., Azaizeh H., Abu-Hijleh G., Said O., 2006.** Sécurité de la phytothérapie arabe traditionnelle. *Médecine complémentaire et alternative fondée sur des preuves*, 3(4), 433-439.
- Stickel F., Egerer G., Seitz H.K., 2000.** Hépatotoxicité des plantes. *Nutrition de santé publique*, 3(02):113-124.
- Yusuf A.Z., Zakir A., Shemau Z., Abdullahi M., Halima S.A., 2014.** Phytochemical analysis of the methanol leaves extract of *Paullinia pinnata* linn. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6(2):10-16.
- Zirih G., Kra A.K.M., Guede-Guina F., 2003.** Évaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck) O. Kantze (Asteracée) « PYMI » sur la croissance in vitro de *Candida albicans*. *Revue de Médecine et pharmacie Afrique*, 17: 11 - 18.