

Evaluation de la toxicité des extraits totaux aqueux des feuilles de *Bridelia ferruginea* Benth (Euphorbiaceae) chez le rat Wistar

F. M. Adoukpe^{1*}, T. M. C. Medehouenou², G. A. Hougbe³, D. T. Allode¹, J. V. Aholoukpe¹, L. L. Béhanzin⁴ et L. S. Baba-Moussa⁵

¹Dr Ferdinand M. ADOUNKPE, Laboratoire National des Stupéfiants et de Toxicologie (LNST), Centre Béninois de la Recherche Scientifique et de l'Innovation (CBRSI), Université d'Abomey-Calavi (UAC), 04 BP 1357 Cadjehoun, E-mail : amefer2000@yahoo.fr, Tél. : (+229)67466861, République du Bénin
MSc. Ténor ALLODE, LNST/CBRSI/UAC, 04 BP 1357 Cadjehoun, E-mail : tenorallode8@gmail.com, Tél. : (+229)96641207, République du Bénin
MSc. Viridiane AHOLOUKPE, LNST/CBRSI/UAC, 04 BP 1357 Cadjehoun, E-mail : aviridiane@gmail.com, Tél. : (+229)67751475, République du Bénin

²Dr Marc MEDEHOUEOU, Laboratoire de Recherche en Biologie Appliquée, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi (EPAC/UAC), 01 BP 2009 Cotonou 01, E-mail : cm.medehouenou@gmail.com, Tél. : (+229)66762131, République du Bénin

³Dr Alban HOUGBEME, Laboratoire National de Pharmacognosie de l'Institut de Recherche et d'Expérimentation en Médecine et Pharmacopée Traditionnelles, 01 BP 06 Oganla, Porto-Novo, E-mail : albanusphd@yahoo.fr, Tél. : (+229)97387326, République du Bénin

⁴Dr Luc BEHANZIN, Axe Santé des populations et pratiques optimales en santé, Centre de recherche du CHU de Québec/ Université Laval, Québec, Canada & Ecole Nationale des Techniciens en Santé publique et Surveillance Épidémiologique. - B.P. 123, Route de l'Okpara Parakou, E-mail : bphilus2013@gmail.com, Tél. : (+229)66203208, République du Bénin

⁵Pr Dr Lamine Said BABA-MOUSSA, Laboratoire de Biologie et de Typage Moléculaire en Microbiologie ; Département de Biochimie et de Biologie Cellulaire, Faculté des Sciences et Techniques (FAST/UAC), 05 BP 1604 Cotonou, E-mail : laminesaid@yahoo.fr, Tél. : (+229)97123468, République du Bénin

*Auteur Correspondant : Dr Ferdinand ADOUNKPE, E-mail : amefer2000@yahoo.fr

Résumé

Bridelia ferruginea Benth est une plante médicinale très connue de la pharmacopée traditionnelle béninoise et largement utilisée pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques. Cependant, cette plante est susceptible d'une certaine toxicité. L'objectif de cette étude était d'évaluer la toxicité aiguë et subaiguë des extraits totaux aqueux des feuilles de *B. ferruginea* chez le rat Wistar. Le screening phyto-chimique et l'extraction aqueuse de la poudre des feuilles de *B. ferruginea* ont été suivis de l'étude de toxicité des extraits totaux aqueux chez des rats femelles Wistar conformément aux instructions de l'OCDE 423. Le test de toxicité aiguë a été réalisé par gavage à la dose unique de 2.000 mg/kg et le test de toxicité subaiguë de 28 jours a été mené avec les doses de 500 et 1.000 mg/kg. L'évolution du poids, de la température et de quelques paramètres biologiques a été suivie et des coupes histologiques ont été réalisées sur le foie et les reins. La poudre de feuilles contient des alcaloïdes, stérols, flavonoïdes, anthocyanes, mucilages, triterpènes, tanins catéchiques et galliques. Aucune mort n'a été enregistrée lors du test de toxicité aiguë. La DL₅₀ a été estimée supérieure à 2000 mg/kg. Aucun signe cliniquement décelable n'a été observé durant les 28 jours de traitement. Aucune différence significative n'a été observée au niveau des paramètres biologiques des rats témoins et traités. La lecture des coupes histologiques des reins et foies a montré une architecture rénale et hépatique normale. L'étude a permis de montrer que l'extrait aqueux des feuilles de *B. ferruginea* a une DL₅₀ supérieure à 2000 mg/kg et se révèle un candidat sérieux pouvant être pris en compte dans un processus de recherche et développement de nouveaux médicaments.

Mots clés : Tests précliniques, Développement de médicaments, Innocuité, Bénin.

Toxicity evaluation of total aqueous extracts of the leaves of *Bridelia ferruginea* Benth (Euphorbiaceae) in the Wistar rat

Abstract

Bridelia ferruginea Benth is a well-known medicinal plant in the traditional Beninese pharmacopoeia and widely used for its many therapeutic properties. However, this plant is susceptible to some toxicity. The objective of this study was to evaluate the acute and subacute toxicity of total aqueous extracts of *B. ferruginea* leaves in Wistar rats. The phyto-chemical screening and the aqueous extraction of the powder from the leaves of *B. ferruginea* were followed by the toxicity study of the total aqueous extracts in female Wistar rats in accordance with the instructions of the OECD 423. The acute toxicity test was carried out by gavage at a single dose of 2,000 mg/kg and the 28-day subacute toxicity test was carried out with doses of 500 and 1,000 mg/kg. The evolution of weight, temperature and some biological parameters, was followed and histological sections were made on the liver and kidneys. The leaf powder contains alkaloids, sterols, flavonoids, anthocyanins, mucilages, triterpenes, catechic and gallic tannins. No deaths were recorded during the acute toxicity test. The LD₅₀ was estimated to be greater than 2,000 mg/kg. No clinically detectable signs were observed during the 28 days of treatment. No significant difference was observed in the biological parameters of the control and treated rats. Reading of the histological sections of the kidneys and livers showed normal renal and hepatic architecture. The study has shown that the aqueous extract of *B. ferruginea* leaves has an LD₅₀ greater than 2,000 mg/kg and

proves to be a serious candidate that can be taken into account in a process of research and development of new drugs.

Keywords: Preclinical tests, Drug development, Safety, Benin.

Introduction

Les ressources végétales occupent une grande place dans la vie des hommes et des animaux, notamment dans la satisfaction de nombreux besoins de base des communautés locales : alimentation, prévention et traitement des maladies, soins de santé, habitation, énergie et artisanat (IPGRI, 2001). Depuis de nombreuses années, les connaissances sur la biodiversité végétale locale sont transmises et conservées de génération en génération (Olivier *et al.*, 2012).

Pour faire face au coût de plus en plus élevé des traitements à base de médicaments conventionnels ou pour pallier l'absence de médicaments efficaces face aux maladies émergentes, la recherche de nouvelles molécules plus efficaces à base de plantes s'impose comme une priorité de santé publique (Brochot *et al.*, 2017; Burman *et al.*, 2018). Le recours à la phytothérapie se justifie pleinement et nécessite cependant la connaissance et la vérification du profil toxicologique des intrants végétaux malgré leur grande utilité. En effet, l'utilisation des plantes médicinales aux propriétés thérapeutiques avérées n'est pas toujours sans danger malgré leur potentiel hautement bénéfique pour la santé (Ouerdia *et al.*, 2020). De nombreuses études ne cessent d'attirer l'attention sur la toxicité de certaines d'entre elles, soit de la plante entière ou d'une partie de celle-ci (Adetutu *et al.*, 2011 ; Tchacondo *et al.*, 2011 ; Adomou *et al.*, 2012 ; Bakwaye *et al.*, 2013 ; Kouame, 2014 ; Kpodar *et al.*, 2016 ; Etame *et al.*, 2017 ; Ouerdia *et al.*, 2020).

B. ferruginea est l'une de ces plantes de la pharmacopée africaine et béninoise, largement utilisée comme purgatif, diurétique, antimicrobien, aphrodisiaque, anti-blennorragique et aussi comme remède contre l'infertilité féminine, le diabète, la diarrhée, les maladies infantiles, le paludisme et des maux gastro intestinaux (Nene Bi *et al.*, 2009 ; Fah *et al.*, 2013; Ezuruike *et al.*, 2014; Tchouya *et al.*, 2015; Kouchadé *et al.*, 2016 ; Dougnon *et al.*, 2017; Houmènou *et al.*, 2018; Dougnon *et al.*, 2021). Aucune des études consultées n'a pas insisté sur la toxicité éventuelle de *B. ferruginea*. C'est dans l'optique de combler ce vide que la présente étude s'est intéressée à l'innocuité de *B. ferruginea* afin d'éclairer l'opinion publique sur les éventuels dangers de toxicité pouvant être liés à sa large utilisation. C'est dans cette optique que le présent travail a eu pour objectif d'évaluer la toxicité aiguë et subaiguë des extraits totaux aqueux des feuillies de *B. ferruginea* sur le rat Wistar.

Matériels et méthodes

Matériels

Le matériel végétal utilisé a été constitué de feuilles de *B. ferruginea* (Figure1).



Figure 1. Feuilles de *Bridelia ferruginea* Benth.

Source : Photo de terrain, Adoukpè, 2021

Les feuilles fraîches de *B. ferruginea* ont été récoltées en Avril 2021 dans la commune d'Abomey. Abomey est une ville et une commune du Sud de la République du Bénin, située à environ 145 km au Nord de Cotonou. Elle vit dans un climat de savane, principalement avec un hiver sec. La température moyenne chaque année se trouve entre 25 °C à 29 °C. Par contre, la nuit les températures peuvent

chuter à 22 °C. Les précipitations modérées sont comprises dans les 92 mm assurant le renouvellement continu d'une végétation diversifiée. Les feuilles collectées ont été identifiées à l'Université National d'Abomey Calavi où se trouve conservé un échantillon de cette plante sous le numéro n° 13-21/HNB/FAST/UAC en 2021.

Les animaux utilisés pour l'expérimentation étaient des rats femelles de souche Wistar pesant 160 g et âgés de trois mois. Ils provenaient de l'animalerie du Laboratoire d'Histologie, Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et Génétique Médicale de l'Institut des Sciences Biomédicales Appliquées (ISBA). Les rats, regroupés dans des cages tapissées de copeaux de bois, ont eu un accès libre à l'eau et à la nourriture dans les conditions environnementales optimales de l'animalerie.

Méthodes

Les analyses ont été faites dans le Laboratoire National des Stupéfiants et de Toxicologie et le Laboratoire National de Pharmacognosie de l'Institut de Recherche et d'Expérimentation en Médecine et Pharmacopée Traditionnelles, deux laboratoires du Centre Béninois de la Recherche Scientifique et de l'Innovation (CBRSI).

Séchage et Broyage des feuilles et extraction aqueuse

Les feuilles ont été séchées à l'ombre à une température de 16 °C durant 14 jours au laboratoire, une température permettant de préserver au maximum l'intégrité des molécules présentes dans les feuilles. A l'aide d'un micro broyeur, les feuilles ont été finement broyées et réduites en poudre. La poudre obtenue est tamisée puis stockée dans un contenant adéquat pour les analyses.

L'extraction aqueuse a été faite en utilisant la poudre de feuilles de *B. ferruginea* selon la méthode décrite par Houngbèmè *et al.* (2014). Le filtrat obtenu a été transféré dans un ballon de 1.000 ml puis soumis à l'évaporation (40°C) jusqu'à sec à l'aide d'un Rotavator Heidolph Laborota 4000 couplé à un refroidisseur d'eau de type Julabo FL 300 (Houngbeme *et al.*, 2014).

Criblage phyto-chimique et évaluation de la toxicité aiguë orale

La méthode classique de Houghton et Raman (1998) et reprise par Adounpkè *et al.* (2018) a été utilisée pour la réalisation du criblage phyto-chimique qualitative. Cette méthode est basée sur des réactions de coloration et de précipitation différentielle. L'évaluation de la toxicité aiguë de l'extrait de feuilles de *B. ferruginea* a été inspirée de la méthode OCDE 423 (Guideline 2001). En effet, 8 rats femelles de poids vif corporel moyen de 160 g ont été marqués et répartis en deux lots de quatre rats. Les rats ont été mis à jeun 12 heures avant l'administration de 2 mL d'une dose unique par gavage de l'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea* dosé à 2.000 mg/kg à chacun des rats du lot d'essai et de 2 mL d'eau physiologique à chacun des rats du lot Témoin. Les rats ont été observés attentivement pendant les quatre premières heures à la recherche de signes cliniques de toxicité. Les observations de changement de comportement ont été poursuivies sur 24 heures.

Évaluation de la toxicité subaiguë orale

L'évaluation de la toxicité subaiguë a été effectuée en s'inspirant de la méthode de Ganfon *et al.* (2012). Les rats femelles, de poids vif corporel moyen de 160 g gardés à jeun depuis 12 heures, ont été marqués et répartis au hasard en trois groupes de quatre rats. Le lot Témoin a reçu quotidiennement 2 mL d'eau physiologique tandis que les deux Lots d'expérimentation ont été traités quotidiennement avec 2 mL par gavage de l'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea* respectivement aux doses de 500 et 1.000 mg/kg de poids vif corporel, sur une durée de 28 jours. Une prise du poids vif corporel et de température a été effectuée avant le gavage et régulièrement chaque deux jours. Un prélèvement sanguin a été effectué sur chaque rat au début et à la fin des 28 jours sur tube sec et sur tube EDTA. Ces échantillons ont servi pour la réalisation de la numération formule sanguine, au dosage des transaminases (ALAT et ASAT) et de la glycémie. Après dissection des animaux, le foie et les reins ont été prélevés et conservés dans du Formol à 10% pour l'examen d'histopathologie.

Traitement statistique des données

Les données ont été présentées sous forme de moyenne \pm écart-type. Le traitement informatique a été fait à l'aide du logiciel Excel et le test de Student a été utilisé pour faire la comparaison des moyennes par rapport au contrôle. Le symbole * dans les tableaux signifie l'existence d'une différence statistiquement significative à $p < 0,05$.

Résultats

Criblage phytochimique

Les résultats du criblage phytochimique effectué sur les poudres des feuilles de *B. Ferruginea* ont été résumés dans le tableau I. La poudre de feuilles de *B. Ferruginea* a renfermé des tanins galliques et catéchiques, des flavonoïdes, des anthocyanes, des leuco-anthocyanes, des stéroïdes, des triterpènes, des mucilages et des alcaloïdes, tous des métabolites secondaires connus pour leurs propriétés pharmacologiques (tableau I).

Tableau I. Résultat du criblage phytochimique

Groupes Chimiques	Composition phytochimique de la poudre de feuilles de <i>Bridelia ferruginea</i> B.
Tanins catéchiques	Présence accentuée (++)
Tanins galliques	Présence accentuée (++)
Flavonoïdes	Présence accentuée (++)
Leuco-Anthocyanes	Présence accentuée (++)
Anthocyanes	Présence accentuée (++)
Alcaloïdes	Présence accentuée (++)
Composés réducteurs	Absence (-)
Mucilage	Présence accentuée (++)
Saponoside	Absence (-)
Dérivés cyanogéniques	Absence (-)
Triterpènes	Présence (+)
Stéroïdes	Présence accentuée (++)
Coumarines	Absence (-)
Dérivés quinoniques	Absence (-)
Anthracéniques libres	Absence (-)
C-Hétérosides	Absence (-)
O-Hétérosides	Absence (-)
Dérivés cardiotoniques	Absence (-)

Evaluation de la toxicité aiguë

Au cours de cette étude, aucun des rats mis en expérimentation n'a présenté de signe clinique de toxicité. En effet, le gavage à la dose unique de 2.000 mg/kg de l'extrait de feuilles de *B. ferruginea* n'a entraîné que quelques modifications physiques au niveau des rats. Au cours de ce laps de temps, tous les rats traités avaient les oreilles tendues, se nettoyaient le museau avec des poils redressés hérissés et se blottissaient les uns contre les autres. Tous ces signes physiques ont cessé une demi-heure après le gavage et tous les animaux ont repris leurs comportements habituels. Après 24 heures d'observation aucun décès n'a été observé chez les rats de l'expérience qui ont repris une vie apparemment normale. Les résultats ont été consignés dans le Tableau II.

Tableau II. Comportements et signes cliniques observés chez les rats durant les premières 24 heures après administration de l'extrait aqueux de feuilles de *Bridelia ferruginea* Benth.

Signes cliniques	Lot témoin	Lot d'essai (Rats gavés à 2.000 mg/kg)			
		≤ 30 min	30 mn – 01 h	01 – 04 h	04 -24 h
Immobilité	N	N	N	N	N
Constrictions abdominales	N	N	N	N	N
Respiration	N	N	N	N	N
Paralysie membres postérieurs	N	N	N	N	N
Se frottent le museau	N	N	N	N	N
Se blottissent l'un contre l'autre	N	N	N	N	N
Oreilles tendues	N	N	N	N	N
Poils légèrement hérissés	N	X	N	N	N
Mort	*	*	*	*	*

N = Comportement habituel ;

X = poils hérissés ;

* = aucun décès

Evaluation de la toxicité subaiguë

Après 28 jours d'administration des extraits par gavage, aucune modification comportementale n'a été observée chez les rats. Aucun des rats gavés aux doses de 500 et 1.000 mg/kg d'extrait des feuilles de *B. ferruginea* n'a montré de signe clinique de toxicité décelable durant les 28 jours d'expérimentation. Tous les animaux ont continué à se nourrir et à mener une vie apparemment normale. Les effets liés à l'administration quotidienne par voie orale à des doses répétées de l'extrait aqueux de *B. ferruginea* ont été appréciés après l'évaluation de poids, de la température, de la masse des organes, des paramètres biochimiques et hématologiques puis des examens histopathologiques.

Effets de l'extrait sur la croissance pondérale chez les rats

Les droites brisées de la figure 2 ont illustré l'évolution de la croissance pondérale des rats après administration de l'extrait de *B. ferruginea* pendant les 28 jours.

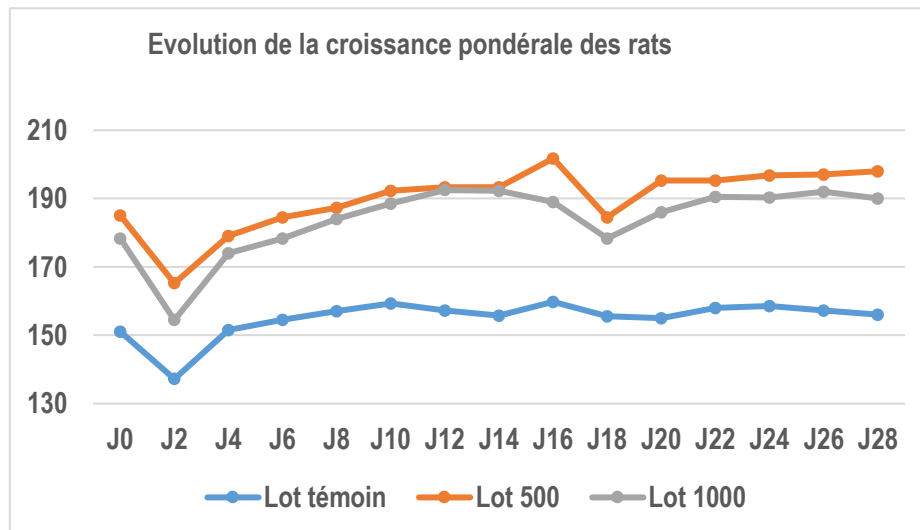


Figure 2. Evolution de la croissance pondérale des rats

Le poids vif corporel des rats traités a globalement augmenté au cours du temps dans les différents lots traités après une chute observée à J₂.

Evolution de la température des rats

Les droites brisées de la figure 3 ont illustré l'évolution de la température des rats tout au long des 28 jours d'expérimentation.

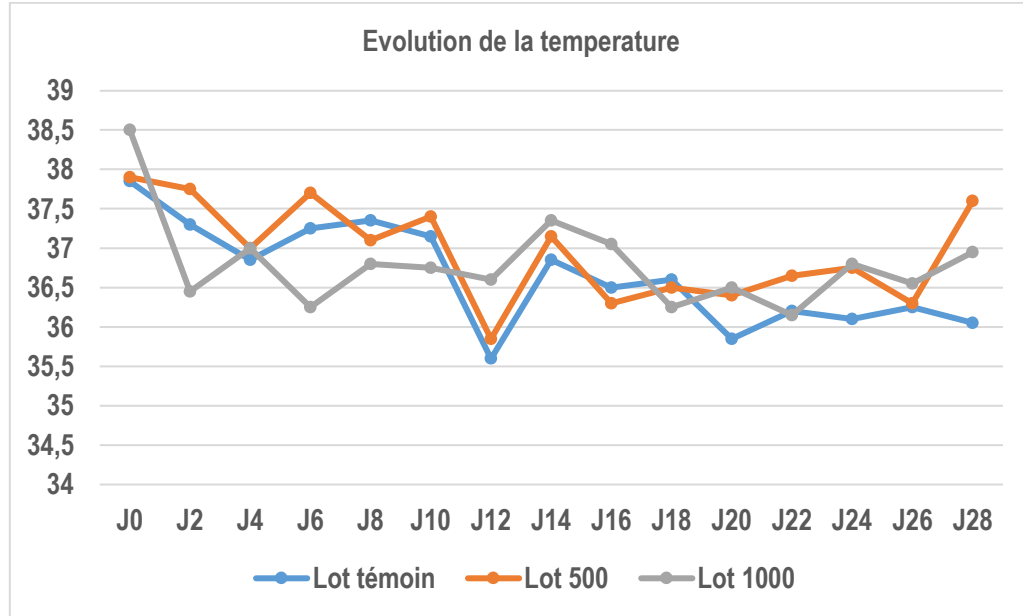


Figure 3. Evolution de la température

Les courbes de la figure 3 ont montré que la température des rats a globalement baissé au cours du temps, quel qu'ait été le lot de rats considéré en oscillant entre 35,5 et 38,5°C.

Analyses biochimiques

Les résultats des analyses biochimiques effectuées ont été présentés dans le Tableau III. Les valeurs moyennes obtenues ont été présentées sous forme moyenne \pm écart-type. Aucune différence statistiquement significative ($p > 0,05$) n'a été trouvée entre les paramètres biochimiques du lot témoin et ceux de chacun des Lots traités à 500 et 1.000 mg/kg.

Tableau III. Paramètres biochimiques chez les rats

Paramètres	Lot Témoin (n = 4)	Lot traité à	
		500 mg/kg (n = 4)	1.000 mg/kg (n = 4)
Glycémie	0,96 \pm 0,06	1,06 \pm 0,06	0,93 \pm 0,11
Créatininémie	4,97 \pm 2,40	8,63 \pm 2,19	8,77 \pm 5,11
Urée	0,81 \pm 0,06	1,17 \pm 0,37	0,80 \pm 0,12
ASAT	68,00 \pm 2,35	75,49 \pm 17,68	54,67 \pm 17,91
ALAT	30,00 \pm 5,66	18,90 \pm 1,27	22,66 \pm 4,24

ASAT : Aspartate-Amino-Transférase ; ALAT : Alanine-Amino-Transférase

Résultats des analyses hématologiques

Les résultats des analyses hématologiques effectuées ont été présentés dans le Tableau IV. Les valeurs moyennes obtenues ont été présentées sous forme moyenne \pm écart-type. Aucune différence statistiquement significative ($p > 0,05$) n'a été trouvée entre les paramètres hématologiques des rats du Lot témoin et ceux de chacun des lots traités à 500 et 1.000 mg/kg, excepté pour le Volume Globulaire Moyen où une augmentation a été observée à la dose 1.000 mg/kg.

Tableau IV. Paramètres hématologiques chez les rats.

Paramètres	Lot Témoin (n = 4)	Lot traité à 500 mg/kg (n = 4)	Lot traité à 1000 mg/kg (n = 4)
NB	6,05 \pm 1,34	6,25 \pm 2,19	7,60 \pm 2,69
NR	8,12 \pm 0,78	7,37 \pm 0,90	8,50 \pm 0,71
Hb	14,20 \pm 1,98	13,05 \pm 0,92	15,05 \pm 1,48

Paramètres	Lot Témoin (n = 4)	Lot traité à 500 mg/kg (n = 4)	Lot traité à 1000 mg/kg (n = 4)
Hte	49,20 ± 5,02	45,60 ± 5,37	53,00 ± 4,53
VGM	61,20 ± 0,28	61,95 ± 0,21	62,25 ± 0,07*
TCMH	17,20 ± 0,71	17,75 ± 0,92	17,65 ± 0,21
CCMH	29,20 ± 0,99	28,70 ± 1,41	28,35 ± 0,35
L	4,42 ± 1,06	70,00 ± 0,00	66,50 ± 0,71
M	3,50 ± 3,54	4,00 ± 2,83	4,50 ± 0,71
PN	27,50 ± 0,71	16,00 ± 1,97	29,00 ± 1,41

NB : Nombre de globules blancs ; **NR** : Nombre de globules rouges ; **Hb** : Taux d'hémoglobine ; **L** : Nombre de leucocytes ; **Hte** : Hématocrite ; **VGM** : Volume globulaire moyen ; **TCMH** : Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine ; **CCMH** : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ; **M** : Nombre de monocytes ; **PN** : Nombre de polynucléaires; * : Différence significative (P < 0,05).

Evolution du poids relatif des organes des rats disséqués

Au bout de 28 jours, les animaux ont été sacrifiés et le foie et les reins ont été prélevés pour les analyses histopathologiques. Les effets de l'extrait aqueux de *B. ferruginea* sur le poids relatif des organes des rats sacrifiés en fin d'expérimentation en fonction de la dose administrée ont été présentés sous forme d'histogrammes sur la figure 5. Aucune différence statistiquement significative ($p > 0,05$) n'a été trouvée entre les poids des reins et des foies des animaux du lot témoin et ceux des lots traités aux doses de 500 et 1.000 mg/kg d'extraits aqueux de feuilles de *B. ferruginea*.

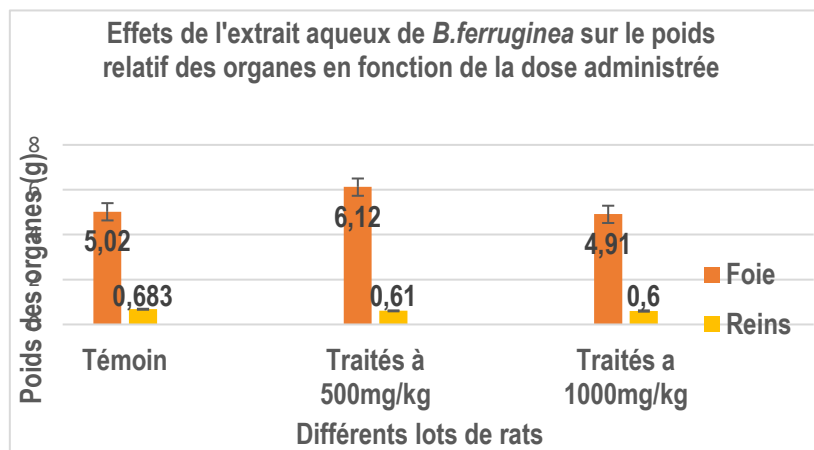
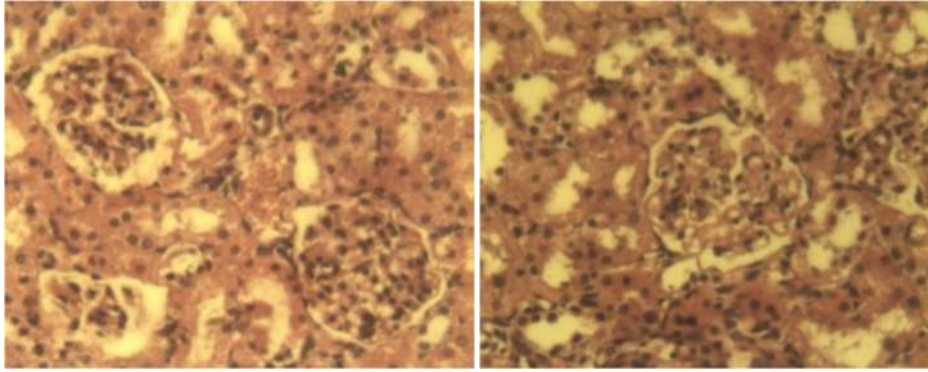


Figure 5. Effets d'extraits totaux aqueux de feuilles de *Bridelia ferruginea* Benth sur le poids relatif des organes en fonction de la dose administrée.

Résultats examens histopathologiques

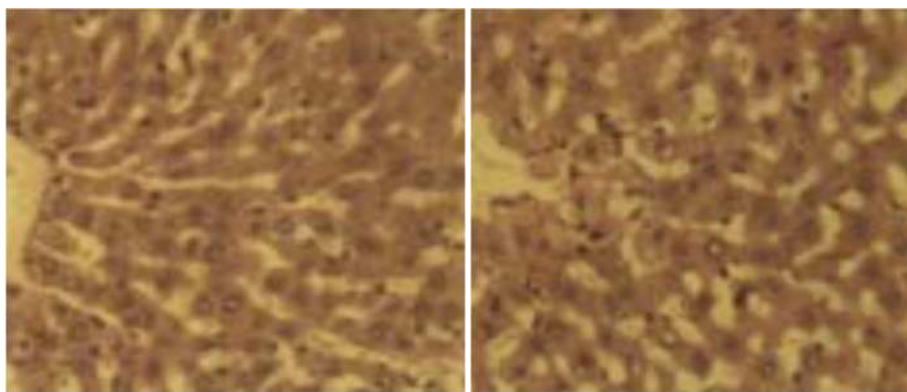
Sur les figures 6 et 7 ont été illustrées les photographies des coupes de reins et foies de rats du lot Témoin et de rats traités respectivement aux doses de 500 mg/kg et 1.000 mg/kg d'extraits totaux aqueux de feuilles de *B. ferruginea* après 28 jours d'expérimentation. Aucune anomalie morphologique tissulaire n'a été observée sur les coupes de reins et de foies de rats gavés à 500 mg/kg d'extraits aqueux de feuilles de *B. ferruginea* durant 28 jours. Aucune anomalie morphologique tissulaire n'a été observée sur les coupes de reins et de foies de rats gavés à 1.000 mg/kg d'extraits totaux aqueux de feuilles de *B. ferruginea* durant 28 jours.



1-Rein rats Lot Témoin

2-Rein rats traités à 500 mg/kg

Photographies (X400) de coupes de rein de rats du Lot Témoin (1) montrant des nucléides cellulaires ; coupes de reins de rats traités à 500mg/kg (2).

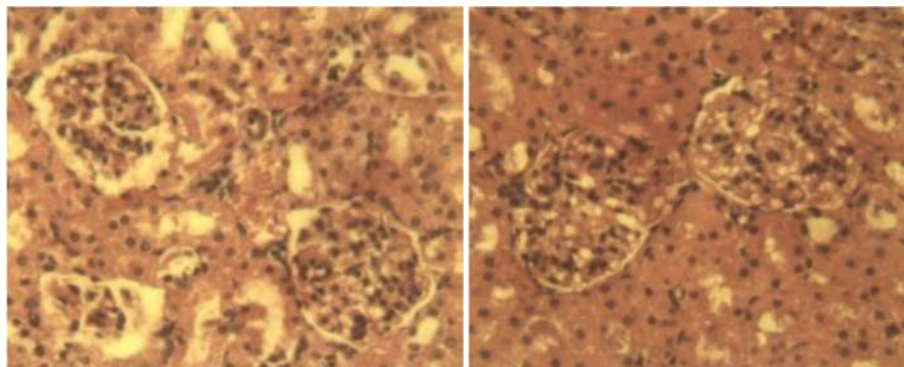


3-Foie rats Lot Témoin

4-Foie rats traités à 500 mg/kg

Photographies (X400) de coupes de foie de rats du Lot Témoin (3) avec lobule hépatique montrant des hépatocytes disposés radialement autour du lobule central veineux ; coupes de foie de rats traités à 500 mg/kg (4)

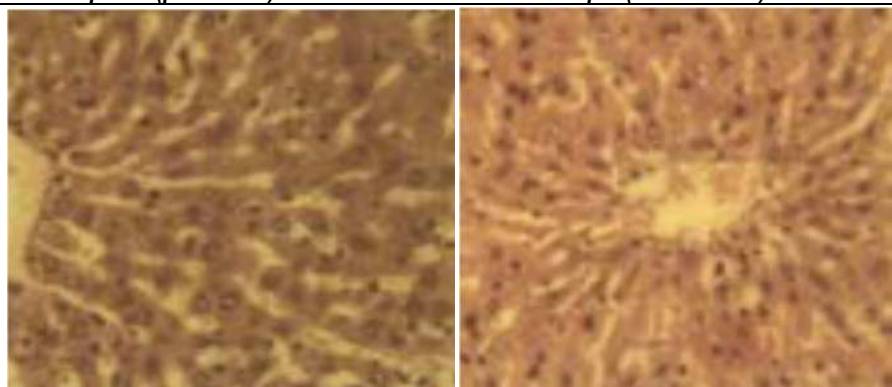
Figure 6. Photographies de coupes de reins et de foies de rats du Lot témoin et de rats traités à 500mg/kg d'extraits aqueux de feuilles de *Bridelia ferruginea* Benth après 28 jours d'expérimentation.



a-Rein rats lot témoin

b-Rein rats traités à 1.000mg/kg

Photographies (X400) de coupes de rein de rats du Lot Témoin (a) montrant des nucléides cellulaires ; coupes de reins de rats traités à 1.000 mg/kg (b).



c-Foie rats lot témoin

d-Foie rats traités à 1.000 mg/kg

Photographies (X400) de coupes de foie de rats du Lot Témoin (c) avec lobule hépatique montrant des hépatocytes disposés radialement autour du lobule central veineux ; coupes de foie de rats traités à 1.000 mg/kg (d).

Figure 7. Photographies coupes de reins et de foies rats du lot témoin et rats traités à 1.000 mg/kg d'extraits aqueux de feuilles de *Bridelia ferruginea* Benth après 28 jours d'expérimentation

Discussion

L'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea* est utilisé dans cette étude sachant que l'eau est le solvant qu'utilisent les guérisseurs et les populations dans la préparation quotidienne de leurs remèdes à base de plantes. L'étude phytochimique de l'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea* a montré qu'il contient plusieurs composés chimiques tels que les tanins galliques et catéchiques, les flavonoïdes, les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les stéroïdes, les triterpènes, les mucilages et les alcaloïdes contrairement à la composition chimique de l'extrait obtenu avec de l'Hexane par Nene BI *et al.*, (2009) qui n'a révélé que la présence des alcaloïdes, des stérols et des poly terpènes. La richesse de cet extrait aqueux en composés chimiques actifs pourrait expliquer l'utilisation traditionnelle de *B. ferruginea* pour soigner de nombreuses maladies telles que la dysenterie (Nene BI *et al.*, 2008), les douleurs abdominales (Göhre *et al.*, 2016), les maladies opportunistes et maux d'estomac (Tchouya *et al.*, 2015). Cette étude a confirmé la richesse de *B. ferruginea* en composés chimiques aux propriétés pharmacologiques prouvées et ce résultat est bien en accord avec les travaux de Praveen et Kumud, (2012), qui ont observé que l'extrait de *B. ferruginea* avait des activités anti diarrhéique et anti inflammatoire. La mise en évidence de ces grands groupes pharmacologiquement actifs dans l'extrait de feuilles de *B. ferruginea* vient appuyer les résultats de nombreux travaux dont ceux de Gbaguidi *et al.*, (2005) et de Houngbèmè *et al.*, (2015) qui ont abouti à la reconnaissance du haut potentiel thérapeutique de cette plante à travers ses propriétés antibactériennes, fongicides, antiseptiques, antivirales, anti-inflammatoires, laxatifs, antalgiques pour ne citer que celles-là. L'usage de cette plante dans la préparation de plusieurs remèdes en pharmacopée et médecine traditionnelle béninoises se comprend donc aisément.

L'extrait aqueux de *B. ferruginea* administré par voie orale à la dose 2.000 mg/kg n'a entraîné aucun signe clinique de toxicité ni aucun décès de rats gavés. La DL₅₀ orale de l'extrait aqueux de *B. ferruginea* est estimée supérieure à 2.000 mg/kg. Ce résultat confirme celui de Nene BI *et al.*, (2008) sur des souris qui a montré que l'extrait aqueux de *B. ferruginea* administré par voie orale est modérément toxique avec une DL₅₀ égale à 3568,88 ± 308,45 mg/kg. Cette valeur de DL₅₀ est en accord avec l'estimation faite dans cette étude. Durant les 28 jours de l'étude, l'extrait aqueux de *B. ferruginea* a favorisé la croissance pondérale des rats gavés aux doses quotidiennes de 500 mg/kg et 1.000 mg/kg sans aucun signe clinique de toxicité. L'observation du comportement tout au long de la période d'étude a permis de constater que, aucune des deux doses utilisées de l'extrait n'a produit un changement perceptible du comportemental des animaux qui ont continué une vie apparemment normale durant toute la période d'expérimentation de 28 jours. Aucun signe clinique de toxicité subaiguë n'a été observé chez les rats. Les résultats des analyses biochimiques effectuées n'ont montré aucune différence statistiquement significative entre les paramètres biochimiques des rats de lot Témoin et ceux des rats traités 500 et à 1000mg/kg d'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea*. De même, les résultats des analyses hématologiques effectuées n'ont montré aucune différence statistiquement significative entre les paramètres hématologiques des rats de lot Témoin et ceux des rats traités 500 et à 1.000 mg/kg d'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea*, excepté une augmentation du Volume Globulaire Moyen observée à la dose de 1.000 mg/kg.

La différence significative observée au niveau du Volume Globulaire Moyen laissait penser à une augmentation du volume des globules rouges. Cette différence semble ne pas être due à l'extrait aqueux. Il s'agirait d'une valeur aberrante de VGM à 500 mg/kg et la preuve en est qu'avec une dose plus élevée de 1.000mg/kg, aucune différence significative n'a été observée. Ceci a d'ailleurs été confirmé par l'observation des coupes histopathologiques des reins et foies des rats traités quotidiennement aux doses de 500 mg/kg et 1.000 mg/kg d'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea*. L'analyse des coupes histologiques du foie et des reins n'a révélé aucune altération morphologique tissulaire attribuable à l'extrait aqueux de feuilles de *B. ferruginea* administré aux rats.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Bakoma *et al.*, (2013) dans leurs travaux sur l'évaluation de la toxicité aiguë et subchronique orales de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *B. ferruginea* chez le rat Wistar mâle et la souris. Ils n'ont observé aucun décès ni de signes cliniques de toxicité chez les animaux utilisés. De plus, aucune différence significative relative à l'évolution des paramètres biologiques comparée au lot Témoin ni aucune altération morphologique tissulaire au niveau des foies et reins n'a été observé chez les animaux suivis. De plus cette étude est arrivée à la conclusion que l'extrait aqueux des feuilles de *B. ferruginea* administré par gavage n'a pas été toxique chez le rat Wistar. Aussi, Shittu Olalere *et al.*, (2020), dans leur étude sur l'altération des paramètres histologiques, biochimiques et hématologiques chez des souris infectées par Plasmodium traitées avec l'extrait d'écorce de tige de *B. ferruginea*, sont-ils arrivés à la conclusion que l'extrait de *B. ferruginea* est classé de toxicité très modérée et qu'il est un puissant remède antiplasmodial et antioxydant lorsqu'il est administré à dose contrôlée.

Conclusion

L'objectif de l'étude, celui d'évaluer la toxicité aiguë et subaiguë des extraits totaux aqueux des feuilles de *B. ferruginea* sur le rat Wistar, est atteint. Le criblage phytochimique de la poudre de feuilles révèle la présence de tanins, de flavonoïdes, d'anthocyanes, de leuco-anthocyanes, de stéroïdes, de triterpènes, de mucilages et d'alcaloïdes. La DL₅₀ de l'extrait est estimée supérieure à 2.000 mg/kg. Administré en toxicité subaiguë, l'extrait aqueux du *B. ferruginea* stimule une croissance pondérale des rats sans qu'aucune différence statistiquement significative ne soit trouvée entre les paramètres biochimiques et hématologiques des rats des lots traités comparés à ceux du lot Témoin. De plus, les coupes histologiques ne révèlent aucune altération morphologique tissulaire au niveau des reins et du foie des animaux traités. Les extraits totaux aqueux des feuilles de *B. ferruginea* administrés par gavage ne sont pas toxiques chez le rat Wistar. Ces résultats encourageants font de cette plante un sérieux candidat pouvant être pris en compte dans un processus de recherche et développement de nouveaux médicaments.

Références bibliographiques

- Adetutu, A., W. A. Morgan, O. Corcorana, 2011: Ethnopharmacological survey and in vitro evaluation of wound-healing plants used in South-western Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology* 137, 50–56.
- Adomou, A.C., H. Yedomonhan, B. Djossa, S. I. Legba, M. Oumorou, A. Akoegninou, 2012 : Etude Ethnobotanique des plantes médicinales vendues dans le marché d'Abomey-Calavi au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6(2); 745-772.
- Adoukpe, F.M., T.C.M Medehouenou, J. R. Klotoe V. T. Dougnon, 2018: Antibacterial pharmacochémical activity "in vitro" of total alkaloid extracts of *Crateva religiosa* G. forst. (Capparidaceae) versus amoxicillin + Clavulanic acid on germs responsible of human common affections, *Journal of Medicinal Plants Studies*; 6(6): 175-179.
- Batomayena B., B. Berké, K. Eklou-Gadegbeku, A. Agbonon, K. Aklidikou, M. Gbeassor, E. E. Creppy, N. Moore, 2013: Acute and sub-chronic (28 days) oral toxicity evaluation of hydroethanolic extract of *Bridelia ferruginea* Benth root bark in male rodent animals. *Food and Chemical Toxicology*, Volume 52, February 2013, Pages 176-179 <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.11.021>.
- Brochot, A., Guilbot, A., Haddioui, L., Roques, C., 2017: Antibacterial, antifungal, and antiviral effects of three essential oil blends. *Microbiology Open* 6, e00459. <https://doi.org/10.1002/mbo3.459>
- Burman, S., Bhattacharya, K., Mukherjee, D., Chandra, G., 2018: Antibacterial efficacy of leaf extracts of *Combretum album* Pers. against some pathogenic bacteria. *BMC Complement. Altern. Med.* 18, 213. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2271-0>.
- Dougnon T.V., E. Déguénon, L. Fah, B. Lègba, Y. M. G. Hounmanou, J. Agbankpè, A. Amadou, H. Koudokpon, K. Fabiyi, A. Aniambossou, P. Assogba, E. Hounsa, M. de Souza, F. Avlessi, T. J. Dougnon, F. Gbaguidi, M. Boko, H. S. Bankolé, L. Baba-Moussa, 2017: Traditional treatment of human and animal salmonellosis in Southern Benin: Knowledge of farmers and traditherapists, *Veterinary World*, 10(6): 580-592.
- Dougnon, V., Agbodjento, E., Hounsa, E., Legba, B.B., Deguenon, E., Bohoungbe, N., Akotegnon, R., Klotoe, J.R., Dougnon, J., 2021: An ethnobotanical survey of seventeen plants species used against diarrhoea and other diseases in southern Benin (West Africa). *J. Biol. Res. - Boll. Della Soc. Ital. Biol. Sper.* 94. <https://doi.org/10.4081/jbr.2021.9486>.

- Etame L. G., Yinyang J., Okalla E. C., Makondo B. V., NGABA G. P., Mpondo Mpondo E., Dibong S. D., 2017: Étude de la toxicité aigüe et subaigüe de l'extrait au vin des graines de *Carica papaya* Linn 12077 Journal of Applied Biosciences 120 : 12077-12085.
- Fah L., Klotoé J. R., Dougnon V., Koudokpon H. ; Fanou, V. B. A., Dandjesso C., Loko F., 2013 : Etude ethnobotanique des plantes utilisées dans le traitement du diabète chez les femmes enceintes à Cotonou et Abomey-calavi (Bénin), Journal of Animal and Plants Sciences, Vol 18 (1) : 2647-2658.
- Feuya Tchouya, G. R., A. Souza, J. C. Tchouankeu, J.-F. Yala, M. Boukandou, H. Foundikou, G. D. Nguema Obiang, F. Fekam Boyom, R. Mabika Mabika, E. Zeuko'o Menkem, D. Tantoh Ndinteh, J. Lebibi, 2015: Ethnopharmacological surveys and pharmacological studies of plants used in traditional medicine in the treatment of HIV/AIDS opportunistic diseases in Gabon. Journal of Ethnopharmacology 162, 306–316.
- Ganfou, H., J. Bero, A. T. Tchinda, F. Gbaguidi, J. Gbenou, M. Moudachirou, M. Frédéricich, J. Quetin-Leclercq, 2012 : Antiparasitic activities of two sesquiterpenic lactones isolated from *Acanthospermum hispidum* D.C. Journal of Ethnopharmacology, Volume 141, Issue 1, 7 May 2012, Pages 411-417. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.03.002>
- Göhre, Á., B. Toto-Nienguesse, M. Futuro, C. Neinhuis & T. Lautenschläge, 2016: Plants from disturbed savannah vegetation and their usage by Bakongo tribes in Uíge, Northern Angola. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine 12; 42 DOI 10.1186/s13002-016-0116-9.
- Houghton, P.J., Raman, A., 1998: A Laboratory handbook for the fractionation of natural extracts. Chapman et Hall, London, 199 p.
- Houngbeme A., Gandonou C, Yehouenou B, Kpoviessi SDS, SohounhloueD, Moudachirou M and Gbaguidi F., 2014: Phytochemical analysis, toxicity and antibacterial activity of Benin medicinal plants extracts used in the treatment of sexually transmitted infections associated with HIV-AIDS. *Int J Pharm Sci Res*; 5 (5): 1739-1745.
- Houmènou, V., Adjatin, A., Assogba, F., Gbénou, J., & Akoègninou, A., 2018 : Étude Phytochimique Et De Cytotoxicité De Quelques Plantes Utilisées Dans Le Traitement De La Stérilité Féminine Au Sud-Bénin. European Scientific Journal, 14(6), 156-171.
- IPGRI, E., GR, A., 2001: Descriptors for *Allium* (*Allium* spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, 6.
- Kouame K. B., Mamidou W. K., 2017 : Evaluation des conditions de traitement et de stockage des plantes médicinales sur les marchés du district d'Abidjan (Côte d'Ivoire). European Journal of Scientific Research 13 (3), 396-415
- Kouchadé A. S., Adonou A. C., Tossou G. M. Yédomonhan H., Dassou G. H., Akoègninou A., 2016 : Etude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies infantiles et vendues sur les marchés au sud du Bénin, Journal of Animal and Plants Sciences, Vol 28 (2) : 4418-4438.
- Kpodar, M., S. D. Karou, G. Katawa, K. Anani, H. E. Gbekley, Y. Adjrah, T. Tchacondo, K. Batawila, J. Simporé, 2016 : An ethnobotanical study of plants used to treat liver diseases in the Maritime region of Togo Journal of Ethnopharmacology 181, 263–273.
- Olivier, M., P. Zerbo, J. I. Boussim, S. Guinko, 2012 : Les plantes des galeries forestières à usage traditionnel par les tradipraticiens de santé et les chasseurs Dozo Sénoufo du Burkina Faso Int. J. Biol. Chem. Sci. 6(5): 2170-2191.
- F. Nzuki Bakwaye , C. Termote, K. Kibungu, P. Van Damme, 2013: Identification et importance locale des plantes médicinales utilisées dans la région de Mbanza-Ngungu, République démocratique du Congo. Bois et Forêts des Tropiques, N° 316 (2).
- OCDE, 2001: Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques 423.
- Ouerdia, Z., Lyla, I., Abdelghani, T., Abderrahmane, A., 2020: Pertinence de l'analyse toxicologique au cours d'une intoxication médicamenteuse aigüe : Elargissement du protocole toxicologique au niveau du service de toxicologie de Tizi-ouzou. 134.
- Praveen, K., Kumud, U., 2012: Tannins are Astringent. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 1(3): 45-50.
- Semi A.N.B., Traore F., Zahoui O. S. et Soro T. Y., 2008 : Composition chimique d'un extrait aqueux de *Bridelia ferruginea* Benth. (Euphorbiaceae) et études de ses effets toxicologique et pharmacologique chez les mammifères. Afrique Science 04(2) 287 – 305.
- Nene Bi, S. A., F. Traore, T. Y. Soro, A. Souza, 2009 : Etude phytochimique et pharmacologique du *Bridelia ferruginea* Benth (Euphorbiaceae) sur la motricité du *Taenia colis* de cobaye. Afrique science 05(2) 305-320.
- Shittu, Olalere, O., S. Olufunke Adenike, A. Muritala Kayode, M. Abeeb Adio, A. Shadrach Ayodeji, S. Nnaemeka, K. Kehinde Funmilola, A. Rafiu Adebisi, I. Olusola O., Ajibaye, 2021: Alterations in histological, biochemical and hematological parameters in Plasmodium berghei NK-65 infected balb/c mice treated with *Bridelia ferruginea* stem bark extract" Journal of Complementary and Integrative Medicine, vol. 18, no. 1, 2021, pp. 93-105. <https://doi.org/10.1515/jcim-2018-0219>.
- Tchacondo, T., S. D. Karou, K. Batawila, A. Agban, K. Ouro-Bang'na, K. T. Anani, M. Gbeassor, C. de Souza, 2011 : Herbal remedies and their adverse effects in Tem tribe traditional medicine in Togo. African. Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine, 8(1): pp.45-60.
- Udoamaka, F., N. Ezurike, J.M. Prieto, 2014: The use of plants in the traditional management of diabetes in Nigeria: Pharmacological and toxicological considerations, Journal of Ethnopharmacology 155, 857–924.