



Phytochimie et toxicités de l'extrait hydroéthanolique d'écorce de tige de *Nauclea latifolia* : Effets sur les marqueurs sériques biochimiques chez les rats *Wistar*

H. St Seka OHOUÉU^{1*}, A. J. Aka ADOUKO², A. M. Angbo YAPO³, V. KOUYATÉ²,
Z. TRAORÉ², T. Aboua OKPÈKON⁴ et Alain Dit Philippe BIDIÉ⁵

¹ Ecole Doctorale Biologie, Environnement et Santé de l'Université Félix Houphouët Boigny (UFHB), BP 173
Abidjan 09, Côte d'Ivoire.

² Laboratoire Biomorphologie, Pathologies Oro-Maxilo-Faciales et Santé Buccodentaire, Ufros.

³ Laboratoire de Biochimie Médicale, Université Félix Houphouët Boigny (UFB), Côte d'Ivoire.

⁴ Laboratoires de pharmacologie, pharmacognosie de constitution et réaction de la matière, UFHB

⁵ Laboratoire Biologie et Santé, UFHB.

*Auteur correspondant ; E-mail: ohoueu8honore@gmail.com

Tel : (+225) 0102256301/0545136602

Received: 25-04-2024

Accepted: 18-09-2024

Published: 31-10-2024

RESUME

Nauclea latifolia est une plante médicinale utilisée en Côte d'Ivoire comme remède dans le traitement de la carie dentaire, la douleur dentaire et des plaies de bouche. Sa consommation est sans effet délétère sur l'organisme. L'objectif était d'évaluer les effets rénaux, hépatiques et myocardiques afin de prévenir leur effet toxique. La phytochimie a été réalisée par screening phytochimique et chromatographie sur couche mince. Les toxicités aiguë et subaiguë ont été réalisées respectivement selon les protocoles OCDE n°423 et n°407. Des prélèvements sanguins ont été effectués aux jours 14 et 28 pour l'analyse des paramètres biochimiques. La phytochimie a montré la présence qualitative et expressive de polyphénols, de flavonoïdes, de tanins, des acides phénoliques et de saponosides. Pour la toxicité aiguë, la somnolence a été rapportée. Aucune mortalité ou morbidité n'a été observée. La DL₅₀ était supérieure à 5000 mg/kg. Les résultats sanguins n'ont montré dans le temps aucune perturbation sur le fonctionnement des activités des marqueurs biochimiques des reins, du foie et du cœur. L'effet non toxique est proportionnel à la dose et aux substances actives de l'extrait hydroéthanolique d'écorce de tige de *Nauclea latifolia*. Cette expérimentation permettrait de formuler des médicaments traditionnels améliorés afin de contribuer aux traitements des affections de la cavité buccale.

© 2024 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés: Ecorce de tige de *Nauclea latifolia*, Toxicité aiguë et subaiguë, Paramètres biochimiques

Phytochemical and toxicities of hydroethanolic extract of stem bark of *Nauclea latifolia*: Effects on serum biochemical markers in *Wistar* rats

ABSTRACTS

Nauclea latifolia is a medicinal plant used in Ivory Coast in as a remedy in the treatment of dental caries, dental pain and the sores mouth. Its consumption has harmful effect on the body. The objective was to evaluate the renal, hepatic and myocardial effects in order to prevent their effect. Phytochemistry was performed by photochemical screening and thin layer chromatography. Acute and subacute toxicities were performed respectively according to OECD protocols number 423 and 407. Blood samples were taken on days 14 and 28 for the analysis of biochemical parameters. The phytochemical showed the qualitative and expressive presence of polyphenols, flavonoids, tannins, phenolic acids and saponins for acute toxicity, drowsiness was reported. No mortality or morbidity was observed. The LD50 was greater than 5000 mg/g. Blood results showed over time no disturbance on the functioning of the activities of biochemical markers of the kidneys, liver and heart. The non-toxic effect is proportional to the dose and active substances of the hydroethanolic extract of *Nauclea latifolia* stem bark, this experiment would allow to formulate improved traditional medicines in order to contribute to the treatment of oral cavity diseases.

© 2024 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords : *Nauclea latifolia*, Toxicity acute and subacute, Biochemical parameters, Oral diseases.

INTRODUCTION

Les maladies bucco-dentaires comptent parmi les maladies non transmissibles les plus fréquentes (OMS, 2016). Ces maladies infectieuses constituent donc une préoccupation importante de santé publique. Pouvant survenir tout au long de la vie, elles peuvent provoquer des douleurs et une défiguration et s'avérer, dans certains cas fatals. Parmi les maladies buccodentaires les plus courantes, on note celles d'origine bactérienne (carie dentaire), fongique (Candidose), virale (herpès) et cancéreuse buccale (OMS, 2016). Au niveau thérapeutique, il existe plusieurs médicaments conventionnels. Cependant, certains des médicaments conventionnels présents sur le marché et utilisées en thérapeutique ont perdu leur efficacité à cause des phénomènes de résistance du aux réchauffements climatiques (Groupe, 2021). Ces problèmes prennent en compte le coût élevé des médicaments conventionnels et des soins buccodentaires, donc hors de portée pour des populations à revenus modeste et très faible. Pour ce faire, les populations ont de plus en plus recours aux plantes médicinales pour se traiter. Selon le rapport de l'OMS (2014), 80% des habitants

des pays en voie de développement ayant un statut socio-économique bas, utilisent des plantes médicinales pour leurs soins primaires. L'utilisation de ces plantes médicinales dans la lutte contre les caries dentaires, les plaies de bouche et les cancers buccaux est une nécessité (Bouquet et al, 1974). Cependant, l'écorce de tige de *Nauclea latifolia* fait partie de l'une des plantes médicinales utilisées pour les soins primaires par la population des pays en voie de développement. En effet, *Nauclea latifolia* est une plante de la famille des Rubiaceae (Abonnier, 2002). Elle est originaire d'Afrique subsaharienne et possède des substances actives pour traiter de nombreuses pathologies parmi lesquelles les affections buccodentaires (Badiga, 2011; Bouquet, 1974). Les doses utilisées pour les différents traitements traditionnels sont imprécises et ont été sujette à polémique de ne pas être sans effet délétère sur l'organisme (Adjoungoua et al., 2006). L'objectif de ce travail était d'évaluer l'effet toxique aiguë et subaiguë d'extrait hydroéthanolique d'écorce de tige *Nauclea latifolia* sur les marqueurs sériques de certains organes vitaux chez les rats *Wistar*.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

Le matériel végétal était une poudre végétale obtenue à partir des écorces de tige de *Nauclea latifolia* récoltées dans région de la Comoé de la Côte d'Ivoire. L'identification de cette plante a été faite au Centre National de Floristique (CNF) à l'aide des flores de Aké-Assi (2001a, 2002 b) et Arbonnier (2002).

Matériel Animal

Des rats *Wistar* non gravides (femelles et mâles) pesant entre 100 et 150 g âgés de huit à dix semaines ont été utilisés.

Préparation des extraits par partition éthanol/eau

Cent grammes (100 g) de poudre d'écorce de tige de *Nauclea latifolia* ont été dissouts dans 1000 mL d'une solution hydroalcoolique (70% d'éthanol (96°C) + 30% Eau) pendant 24 heures dans un Mixeur Blinder de type Moulinex. Le mélange a été agité sur un agitateur électronique réglé à 600 tours pendant 20 min. L'homogénat a été une première fois filtré au tamis, puis sur tissu blanc. Le filtrat a été ensuite passé à une triple filtration sur du coton hydrophile, puis sur un papier filtre. Le filtrat hydroalcoolique obtenu a été évaporé à 60°C sous vide au Rotavapor (Buchi) pendant 4 heures. L'évaporat a été ensuite évaporé dans l'étuve à 60°C pendant 24 heures selon la méthode de Bidié et al. (2011). La poudre obtenue, constituait l'extrait sec hydroéthanolique. Ensuite, les différents extraits secs obtenus ont été pesés sur une balance « DENVER Instrument » et le rendement a été calculé selon la formule suivante :

$$R = \frac{\text{masse de poudre sèche obtenue}}{\text{Masse de matière végétale}} \times 100$$

Caractérisation des composés chimiques de l'extrait hydroéthanolique

Deux méthodes ont été utilisées. Le test screening phytochimique consistait à identifier par des tests de solubilités, de réactions colorées, de précipitations ainsi que des examens en lumière ultra violette selon Bidié et al. (2011), à mettre en évidence les

composés chimiques de l'extrait. Quant à la chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée pour confirmer par séparation et identification avec la lecture en spectrophotométrie la présence de polyphénols, flavonoïdes, tanins catéchique, acides phénolique et les saponosides comme des principaux groupes chimiques de l'extrait hydroéthanolique de l'écorce de tige de *Nauclea latifolia*.

Etude de la toxicité aiguë et subaiguë

Des rats *Wistar* mâles et femelles non gravidiques, âgés de 8 à 10 semaines, pesant entre 100 et 150g, ont été utilisés pour les études toxicologiques aiguë et subaiguë. Ils ont été obtenus auprès du laboratoire de pharmacologie de la faculté de biologie des sciences pharmaceutiques de l'Université Félix Houphouët Boigny. Les animaux ont été acclimatés aux conditions de laboratoire pendant 7 jours avant les expériences. Les rats ont été maintenus à une température ambiante de 22 à 24°C, avec un cycle lumière/obscurité de 12 h. Pendant l'acclimatation, les animaux ont été logés dans des cages en polycarbonate avec un régime standard de granulés et de l'eau du robinet. Les granulés alimentaires pour les animaux de laboratoire ont été achetés auprès de la société FACI (Cote d'Ivoire).

Etude de la toxicité aiguë

L'extrait de plante a été dissouts dans l'eau distillée et administrés par voie orale aux rats (femelles) du lot expérimental à une dose unique de 2000 mg/kg et de 5000 mg/kg, respectivement à une solution aqueuse de 2 mL/kg/rat. Alors que le lot témoin n'a reçu que de l'eau physiologique comme véhicule. Les rats du lot expérimental ont été observés par rapport au lot témoin pendant 24 h, avec une attention particulière accordée aux 4 premières heures et une fois par jour pendant une période de 14 jours. A cet effet, des changements dans l'apparence physique, des blessures, de la douleur et des signes de maladie ont été recherchés une fois par jour pendant la période (OCDE, 2001). La formule du volume à administrer par gavage a été calculée comme

suite : $V = \frac{D \cdot P}{C}$; Avec V : Volume à administrer par gavage (mL)
D : Dose à administrer (mg/Kg de poids corporel) ; C : La concentration de la solution mère des extraits (mg/mL) ; P : Poids de l'animal (g)

Etude de la toxicité subaiguë

Des rats *Wistar* femelles et males ont été traités quotidiennement avec l'extrait sec hydroéthanolique de *Nauclea latifolia* par voie orale à l'aide de sonde de gavage aux doses croissantes de 50, 100 et 200 mg/kg de poids corporel pendant 28 jours. Les animaux ont été anesthésiés par inhalation à l'éther « cooper ». Le sang a été prélevé au niveau du sulcus orbitaire chez les animaux à jours J0, J14 et J28 (OCDE, 2008). Le sang collecté dans les tubes secs Vacutainer a été centrifugé à 3500 tr/min pendant 5 minutes. Les sérums obtenus ont servi pour évaluer l'activité des marqueurs sériques biochimiques du cœur dont la créatine phosphokinase (CPK), le lactate déshydrogénase (LDH) et les protéines totales (PT), du foie dont l'alanine aminotransférase (ALAT), aspartate aminotransférase (ASAT) et l'albumine, enfin des reins dont l'urée et la créatinine.

Dosages des paramètres biochimiques

Le dosage de l'urée a été effectué selon la méthode enzymatique décrite par Tietz (1995). Les réactifs sont préparés selon les instructions du fabricant. Le contenu d'une capsule d'enzyme de (R2) (uréase, glutamate déshydrogénase (GLDH, NADH) a été dissout dans un flacon de tampon (R1) constitué des tris (PH 7,8) et de l' α -cétoglutarate. Plus le flacon a été fermé et mélangé pour obtenir le réactif de travail (RT). La solution obtenue est stable 6 semaines à 2-8°C ou 7 jours à la température ambiante (15-25). Dix (10) μ L de sérum ont été introduits dans une cuve auquel 1mL du réactif de travail a été ajouté.

Le dosage a été réalisé selon la méthode de Jaffé (1886). Le dosage de la créatinine est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium par la méthode cinétique. Les réactifs sont préparés selon les instructions du fabricant. Pour ce faire, le réactif de travail

(RT) a été obtenu en mélangeant des volumes égaux de réactif picrique (R1) et d'hydroxyde de sodium réactif alcalinisation (R2). Ce mélange a été stable 15 jours au réfrigérateur (2-8°C) ou 7 jours à la température ambiante (15-25°C). Dans une cuve ont été mélangés, 10 μ L de plasma à 1mL de réactif de travail puis incubés pendant 10 mn à 37°C. La densité optique (DO) a été lue à 505 nm en comparaison avec le blanc du réactif. La concentration de créatinine a été calculée à partir de la réaction suivante : Concentration de créatinine (mg/dL) = Asorbance (Echantillon) / Absorbance (Blanc) (Echantillon) Absorbance (Standard) / Absorbance (Blanc).

La CPK est une enzyme dimérique composée de deux sous-unités : la sous unité M et la sous-unité B. Ces sous-unités sont associées pour former 3 isoenzymes distinctes : CPK-BB, CPK-MB et CPK-MM. Le réactif CPK- NAC modifié contient un anticorps polyclonal qui a inhibé donc la totalité de l'activité CPK-MM et la moitié de l'activité CPK-MB. Seule l'activité de la sous-unité B non-inhibée, représentant la moitié de l'activité CPK-MB, a été mesurée. Cette méthode révèle que l'activité CPK-BB dans le plasma est négligeable.

La LDH est une enzyme cytoplasmique présente dans tous les tissus et catalyse la réduction réversible du pyruvate en lactate selon la réaction de Henry (Dick et Sinton, 1979). Le taux de la diminution de la concentration en NADH, directement proportionnel à l'activité de la LDH dans l'échantillon, a été mesuré à 340 nm.

C'est un dosage quantitatif de la concentration des protéines totales plasmatique appelé la « méthode du biuret » développé par Kronh (2011). La réaction à la coloration bleu-violet a été initiée par addition du réactif de Gornall, composé de sulfate de cuivre donnant la couleur bleue à la solution, d'hydroxyde de sodium pour rendre le milieu basique, de tartrate double de sodium et de potassium pour piéger les ions cuivre et éviter leur précipitation ,et enfin d'iodure de potassium pour éviter la réduction des ions cuivriques (Gornall,1949).

L'activité Alanine aminotransférase a été déterminée selon la méthode recommandée

par la Fédération internationale de chimie clinique (FICC) (Bergmeyer et Horder, 1985). Dans un tube contenant 1 mL de réactif de travail R1, 100 µL de l'échantillon à doser sont ajoutés. Après agitation pendant 1 mi, la densité optique de l'homogénat est lue au spectrophotomètre à 340 nm pour déterminer l'activité enzymatique de l'ALAT. Cette activité est calculée à partir de la longueur d'onde qui est 340 nm et du facteur SGPT, (F1747) selon la formule ci-dessous : Activité enzymatique des ALAT (U/L)= Densité optique (Echantillon) x 1745.

L'activité Aspartate aminotransférase (ASAT) a été réalisée selon la méthode d'ECCLS (1989) et selon les recommandations de la fédération Internationale de chimie clinique (FICC). Dans un tube contenant 1 mL de réactif de travail R1, on a ajouté 100 µL de l'échantillon à doser. Après agitation pendant 1 min, les densités optiques ont été lues au spectrophotomètre à 505 nm pour déterminer l'activité enzymatique de l'ASAT (ECCLS, 1985). L'activité enzymatique est calculée à partir de la longueur d'onde qui est 505 nm et du facteur SGOT, (F1745) selon la formule ci-dessous :

Activité enzymatique des ASAT (U/L)= Densité optique (Echantillon) x 1745.

Le taux en albumine plasmatique a été déterminé par un dosage colorimétrique avec le vert de bromo-crésol à l'aide d'un Kit.

Analyse statistique

L'analyse statistique des tests de significativité a été effectuée par le test de Fisher en utilisant le logiciel StaView. Une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme étant statistiquement significative.

RESULTATS

Caractérisation des métabolites secondaires

Les tests de screening phytochimique et de chromatographie sur couche mince ont montré des présences qualitatives et expressives de polyphénols, flavonoïdes, tanins cathéchiques, acides phénoliques et de saponosides (Tableau 1 et 2).

Influence de la toxicité à doses uniques et doses répétées par jour pendant 28 jours

Aucune mortalité ou morbidité a été remarquée à la dose 2000 mg / kg et aussi à 5000 mg/kg de poids corporel. Par contre, une augmentation pondérale a été constatée chez les animaux traités que chez les témoins. A cette présente étude, la dose létale (DL_{50}) de l'extrait a été donc estimée à plus de 5000 mg /kg de poids corporel.

Les animaux ont été soumis avec l'extrait hydroéthanolique d'écorce de tige de *Nauclea latifolia* aux différentes doses de 50,100 et 200 mg /kg de poids corporel. Les résultats ont montré des réponses doses-effets qui ont produit dans le temps des perturbations sur le fonctionnement des activités et concentrations sériques des marqueurs biochimiques des reins, du foie et du cœur des rats *Wistar* représentés par des figures ci-dessous.

Bilan myocardique

Les valeurs moyennes des concentrations de protéine totale des rats *Wistar* traités ont connu une diminution non significative pendant les 14 jours. Elles ont montré une augmentation non significativement différente par rapport aux rats du lot témoin entre le 14ème et 28ème jour (Figure 2 et Figure 5). Quant aux valeurs moyennes de créatines phosphokinases (CPK), elles ont subi une augmentation non significativement différente durant le traitement de 28 jours, sauf une diminution non significative observée à la dose de 50 mg/kg les 14ème jours (Figures 3 et 6). Par ailleurs les valeurs moyennes des lactates déshydrogénases (LDH) des rats du lot expérimental traités aux différentes doses n'ont pas été significativement différentes par rapport à celles des rats du lot témoin sauf une diminution non significative à la dose 200 mg/kg en comparaison avec le lot témoin dans la période de 14 jours (Figures 4 et 7).

Bilan néphrotique

Les valeurs moyennes plasmatiques en urée et en créatinine ont montré des variations aux différentes doses de l'extrait chez des rats

traités du lot expérimental comparées à ceux des rats du lot témoin pendant la période de 14 jours. Elles ont été stabilisées pendant la suite de traitement des rats du lot expérimental par rapport aux rats du lot témoin (Figures 8, 9, 10 et 11).

Bilan hépatique

Les valeurs moyennes plasmatiques en aspartate aminotransférase (ASAT ou TGO) chez les rats *Wistar* ont connu une stabilité significative durant les 28 jours de traitement par rapport aux rats du lot témoins (Figure 12 et 15).

La variation des valeurs moyennes d'alanine aminotransférase (ALAT ou TGP) pendant les 14 jours de traitement s'était améliorée significativement dans la période des 28 jours ($p < 0,05$) chez les rats du lot expérimental par rapport au lot témoin (Figure 13 et Figure 16). Par contre, les concentrations plasmatiques en albumine ont généralement subi des perturbations significativement différentes chez les animaux du lot expérimental comparé aux rats du lot témoin (Figures 14 et 17).



Figure 1 : Prélèvement du sang au niveau du sulcus orbitaire à l'aide de pipette Pasteur.

Tableau 1 : Analyse triphytochimique par Screening phytochimique.

Métabolites secondaires	Polyterpène et Stérol	Polyphénols totaux	Flavonoïdes	Tanins	Alcaloïdes	Saponoside
Extrait sec Ethanolique d'écorce de tige de <i>Nauclea latifolia</i>	++	++	++	++	++	+(2 cm)

Tableau 2 : Composés phénoliques mis en évidence par la méthode CCM.

Métabolites secondaires	Acides Phénoliques	Polyphénols totaux	Flavonoïdes	Tanins	Saponoïde
Extrait sec Ethanolique d'écorce de tige de <i>Nauclea latifolia</i>	++	++	++	++	++

Faible présence: + ; Abondant: ++ ; Très abondant : +++ ; Absence ou trace : -

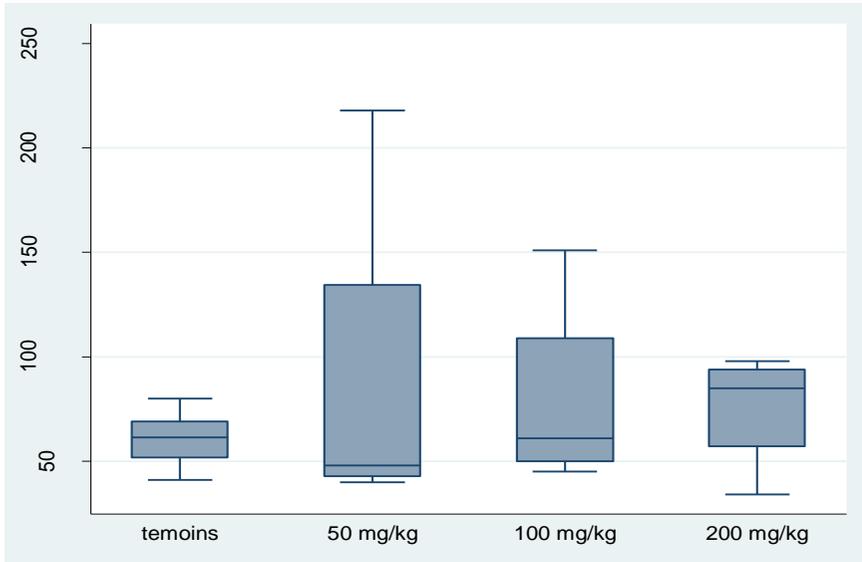


Figure 2 : Concentrations des protéines totales des rats témoins et des rats traités à J14.

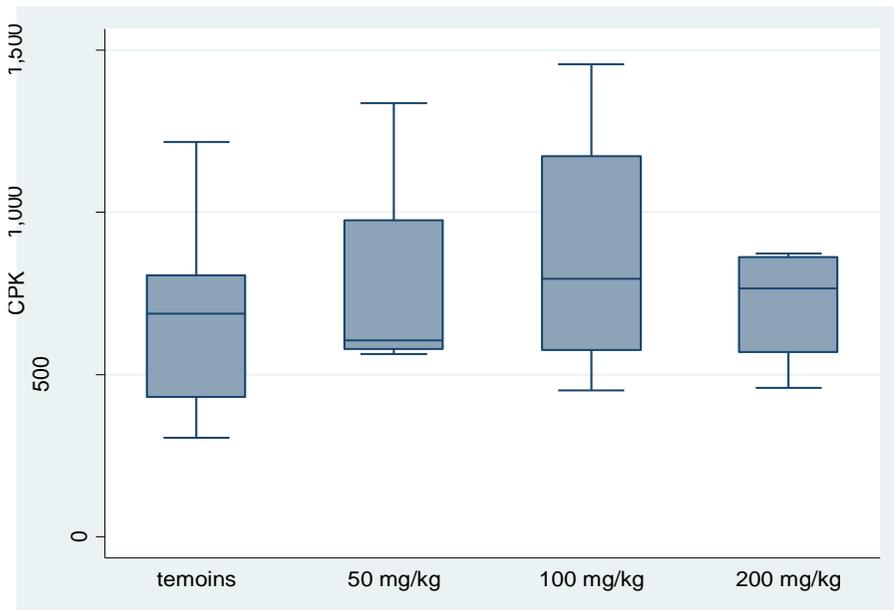


Figure 3 : Activités de la créatine phosphatase kinase des rats témoins et des rats traités à J14.

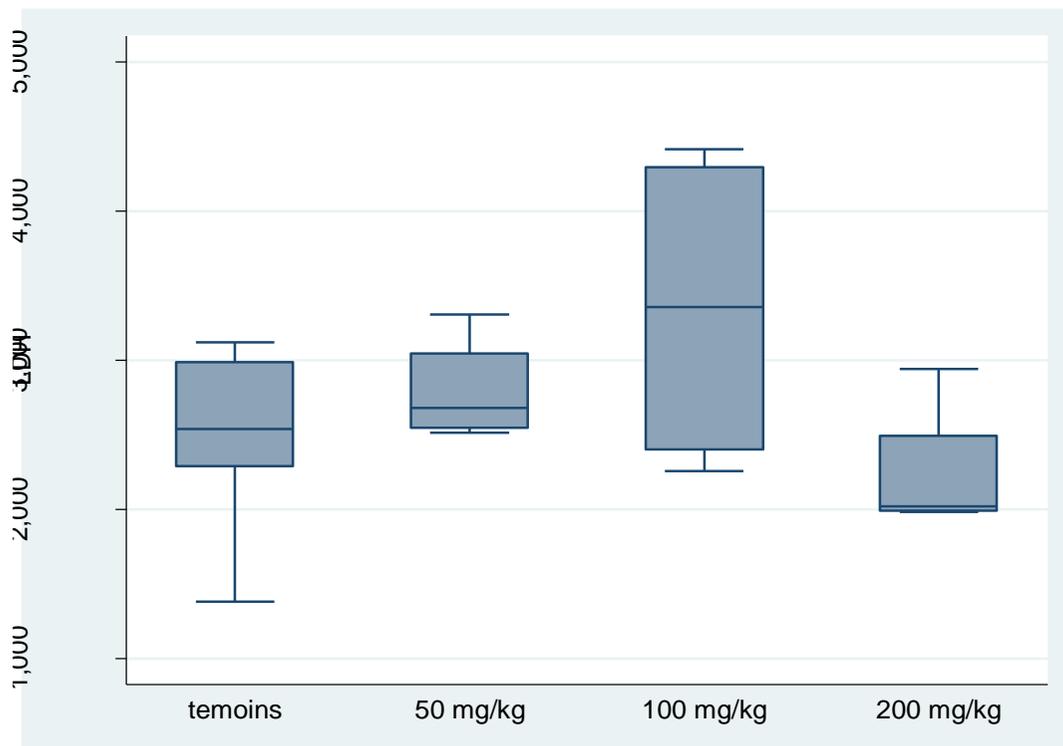


Figure 4 : Activités de la lactate déshydrogénase des rats témoins et des rats traités à J14.

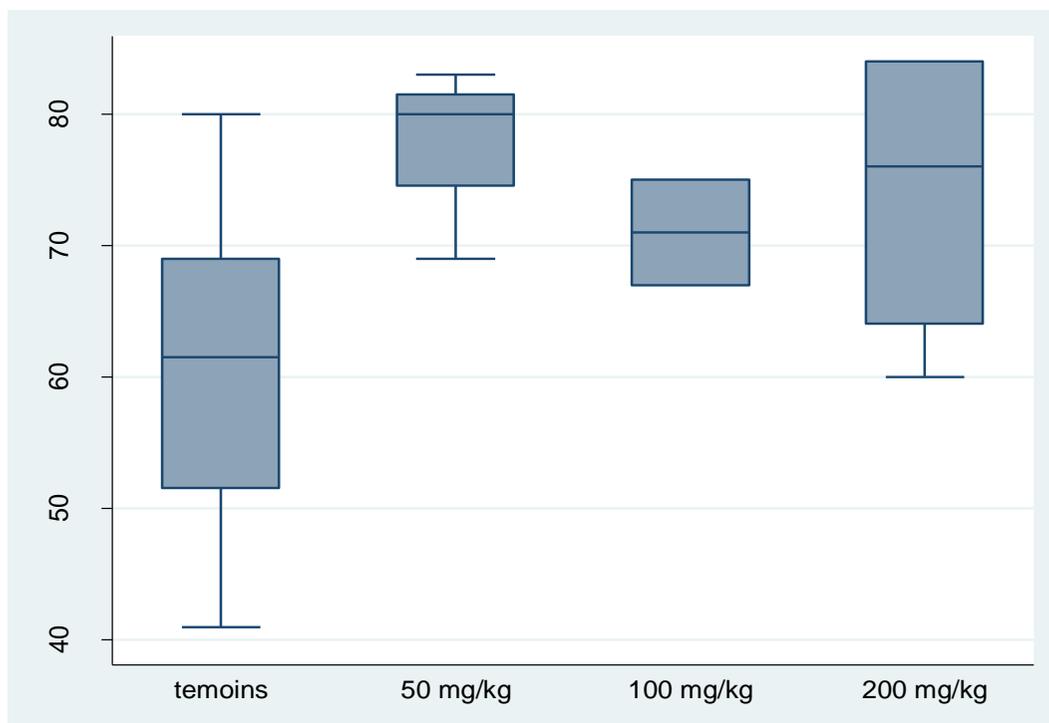


Figure 5: Concentrations des protéines totales des rats témoins et des rats traités à J28.

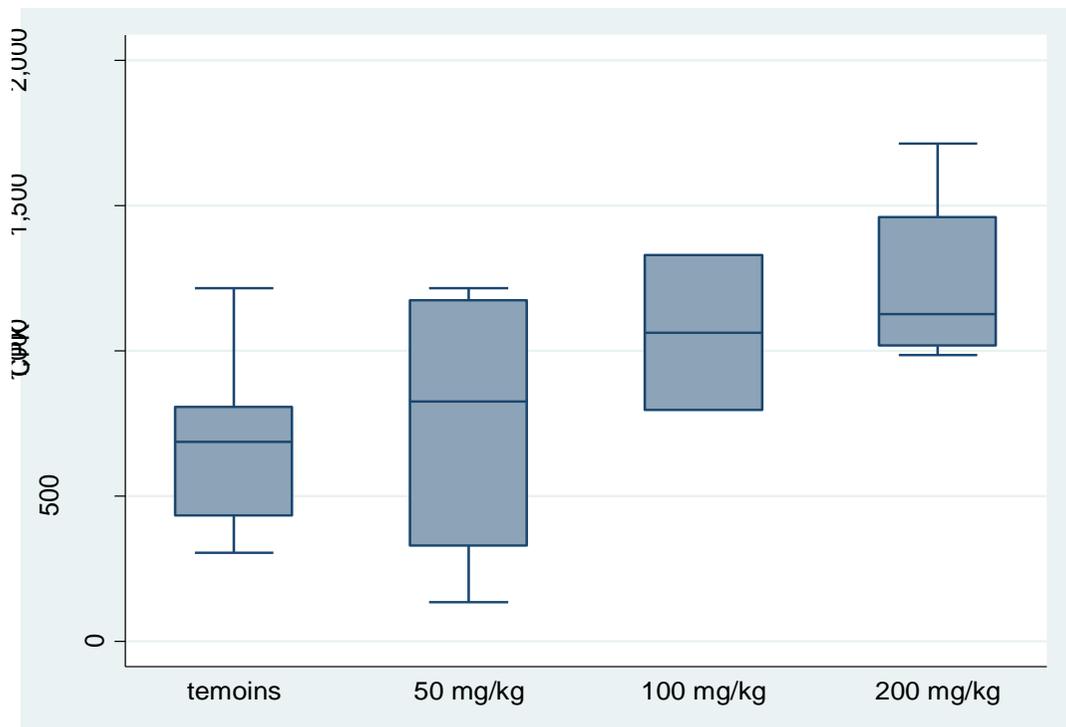


Figure 6 : Activités de la créatine phosphatase kinase des rats témoins et des rats traités à J28.

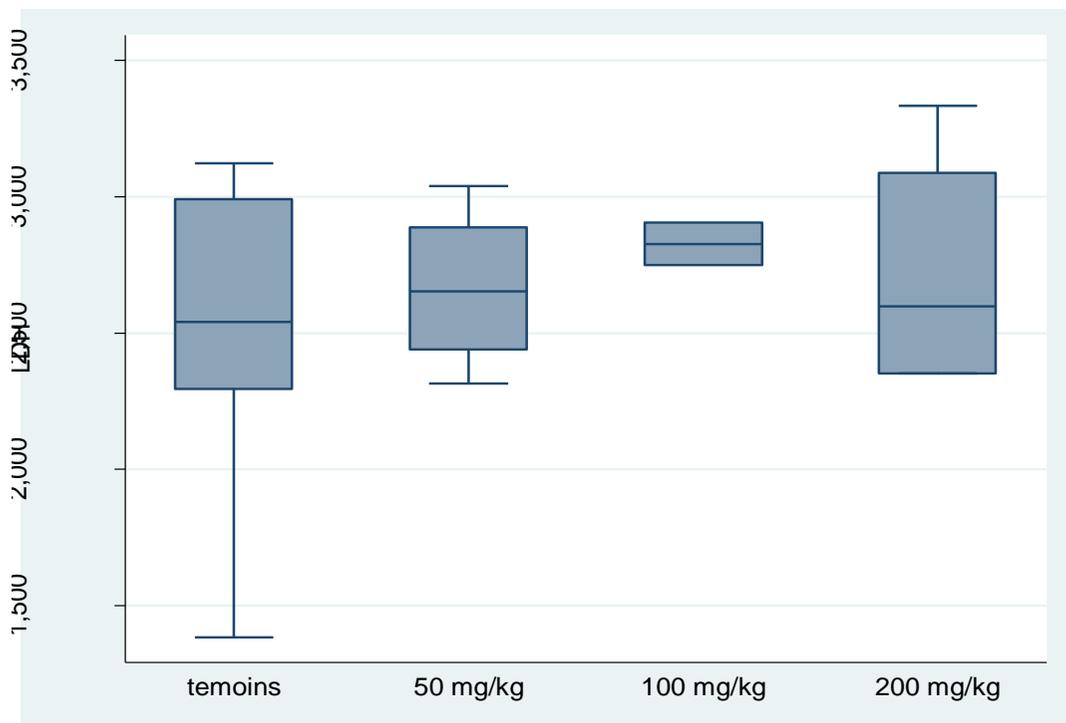


Figure 7: Activités de la lactate déshydrogénase des rats témoins et des rats traités à J28.



Figure 8: Concentrations de l'urée des rats témoins et des rats traités à J14.

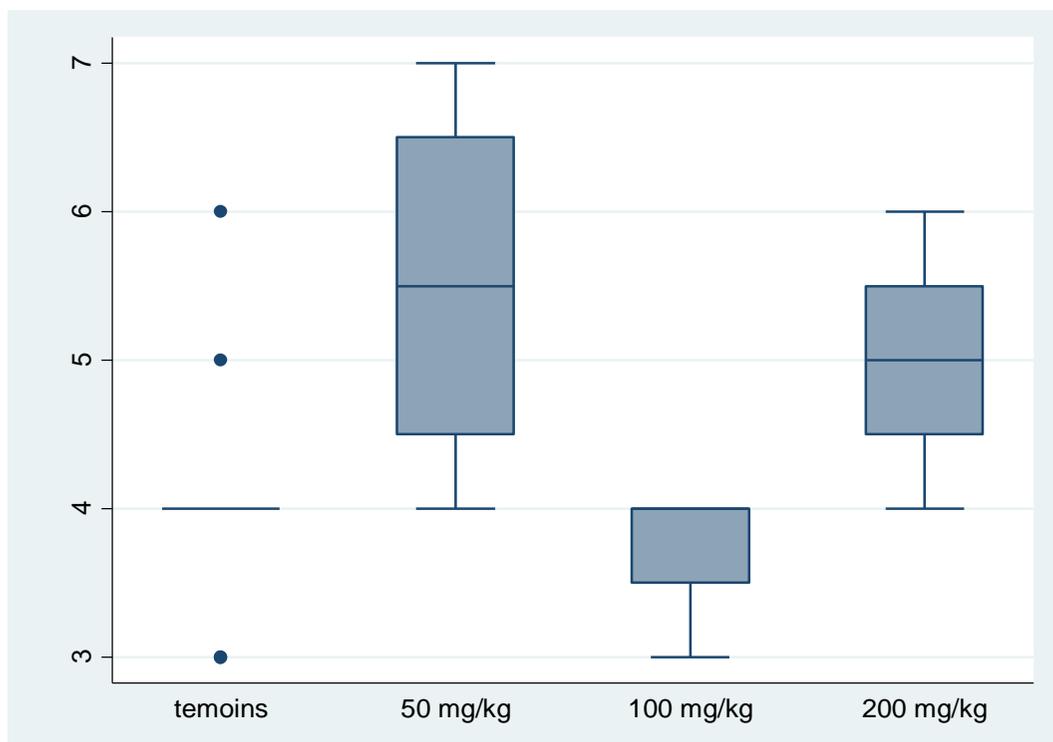


Figure 9: Concentrations de la créatinine des rats témoins et des rats traités à J14.

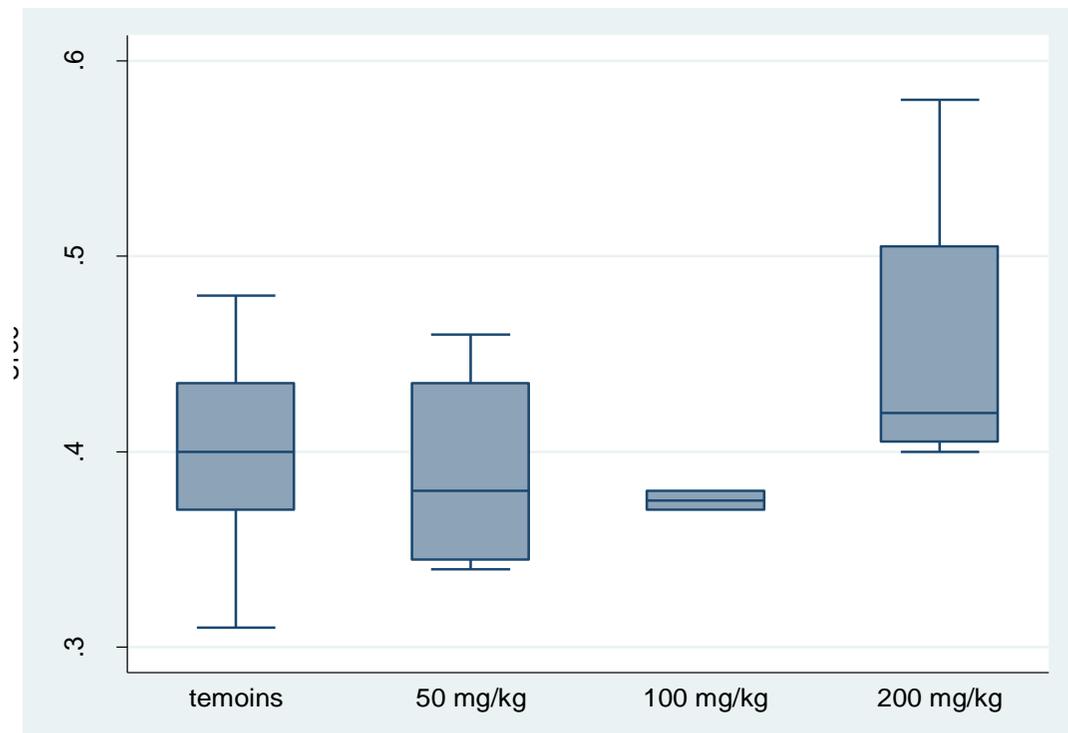


Figure 10: Concentrations de l'urée des rats témoins et des rats traités à J28.

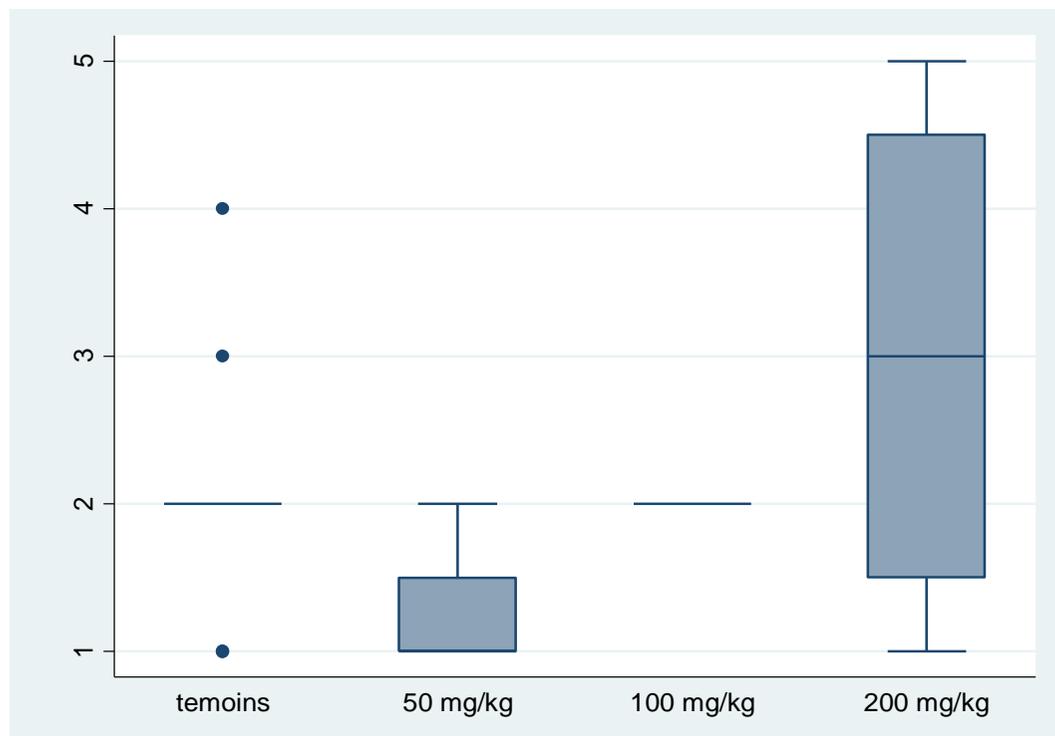


Figure 11: Concentrations de la créatine des rats témoins et des rats traités à J28.

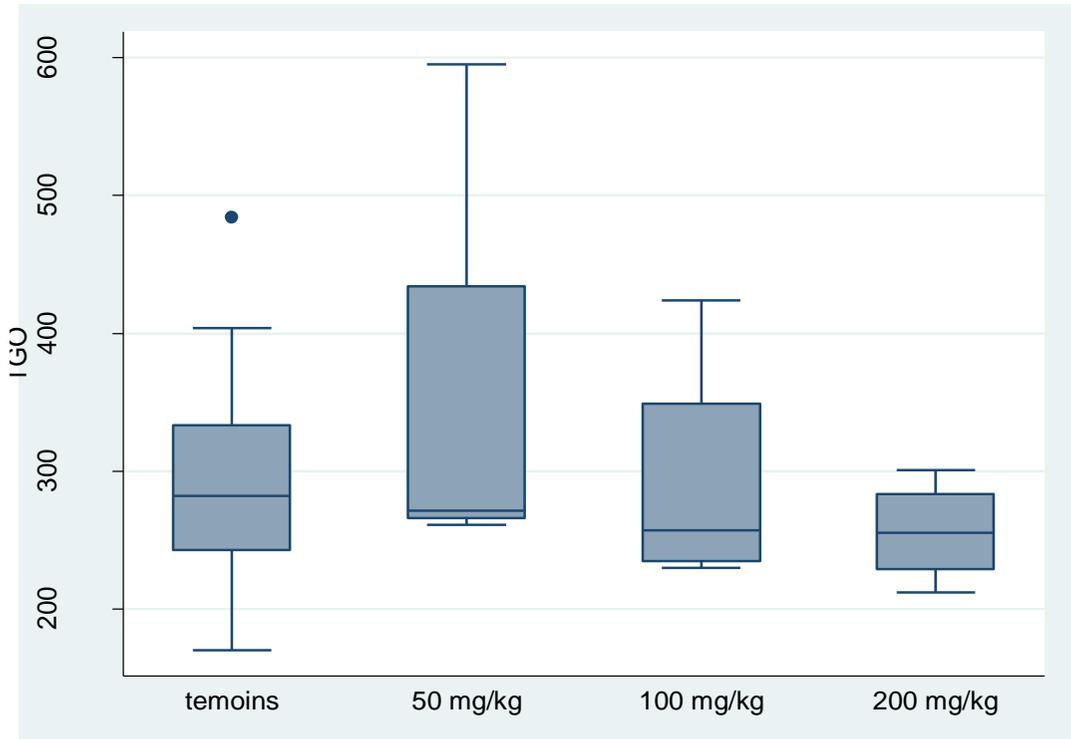


Figure 12: Activités de l'aspartate aminotransférase des rats témoins et des rats traités à J14.

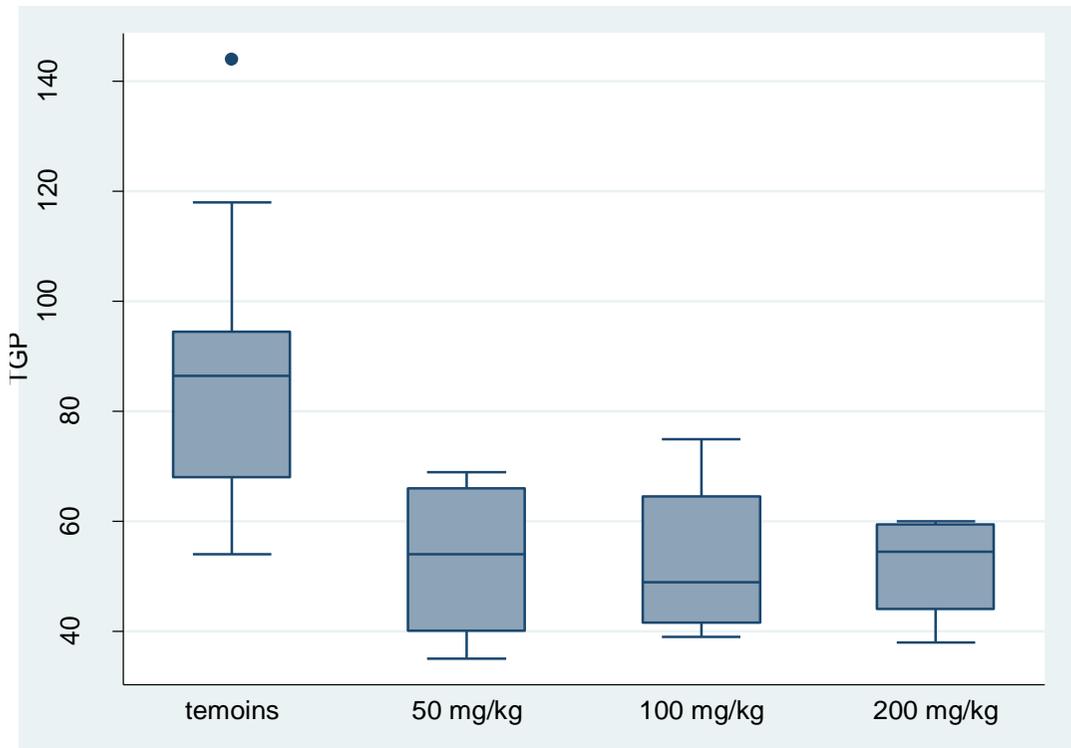


Figure 13: Activités de l'alanine aminotransférase des rats témoins et des rats traités à J14.

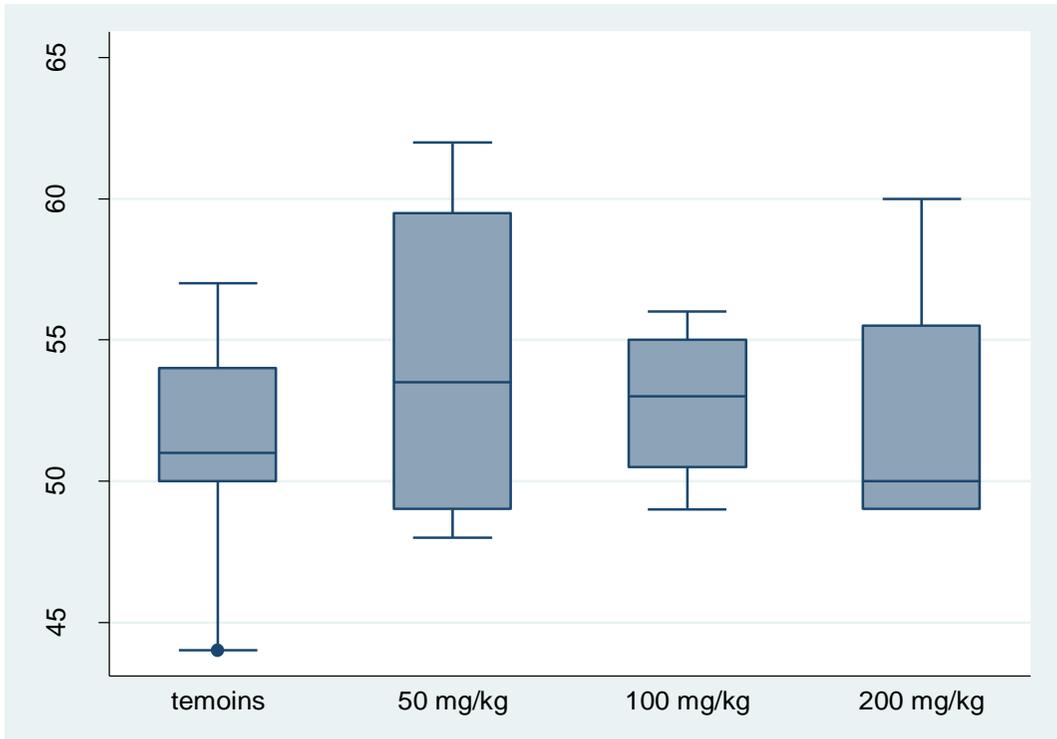


Figure 14: Concentrations de l'albumine des rats témoins et des rats traités à J14.

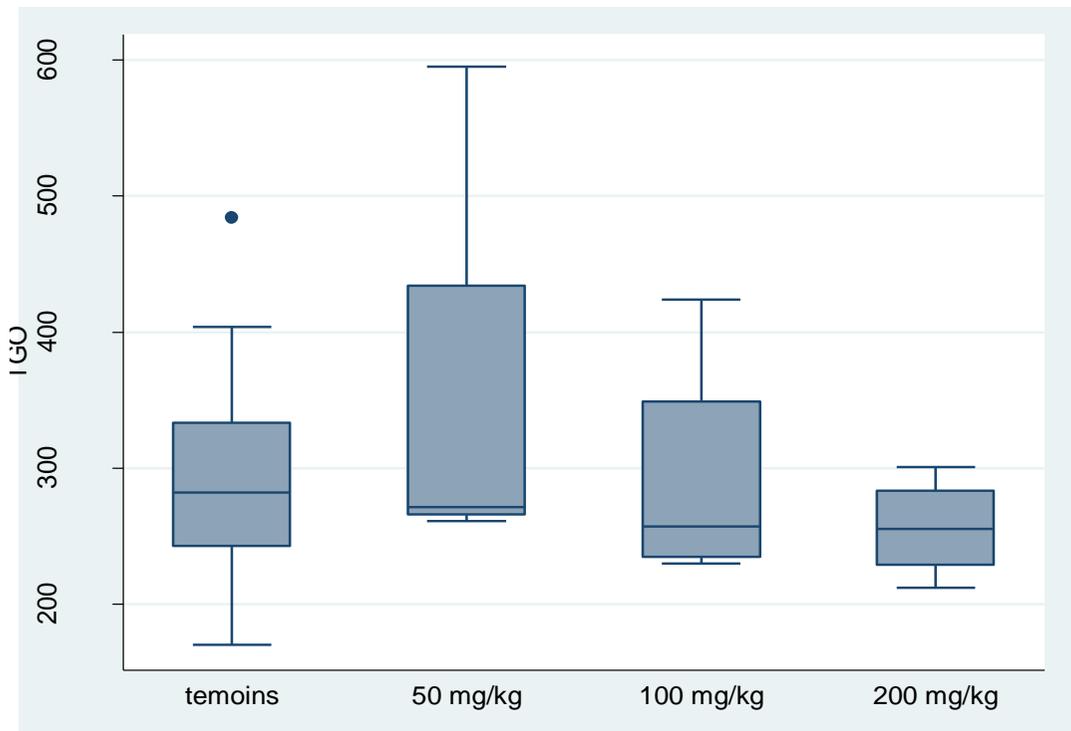


Figure 15: Activités de l'aspartate aminotransférase des rats témoins et des rats traités à J28.

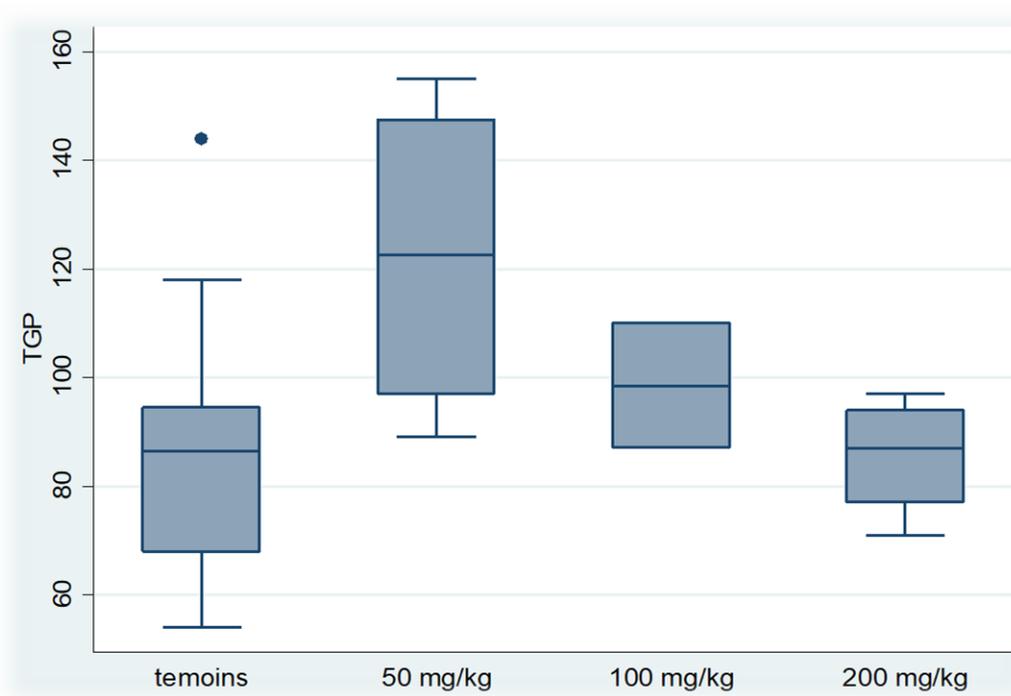


Figure 16: Activités de l'alanine aminotransférase des rats témoins et des rats traités à J28.

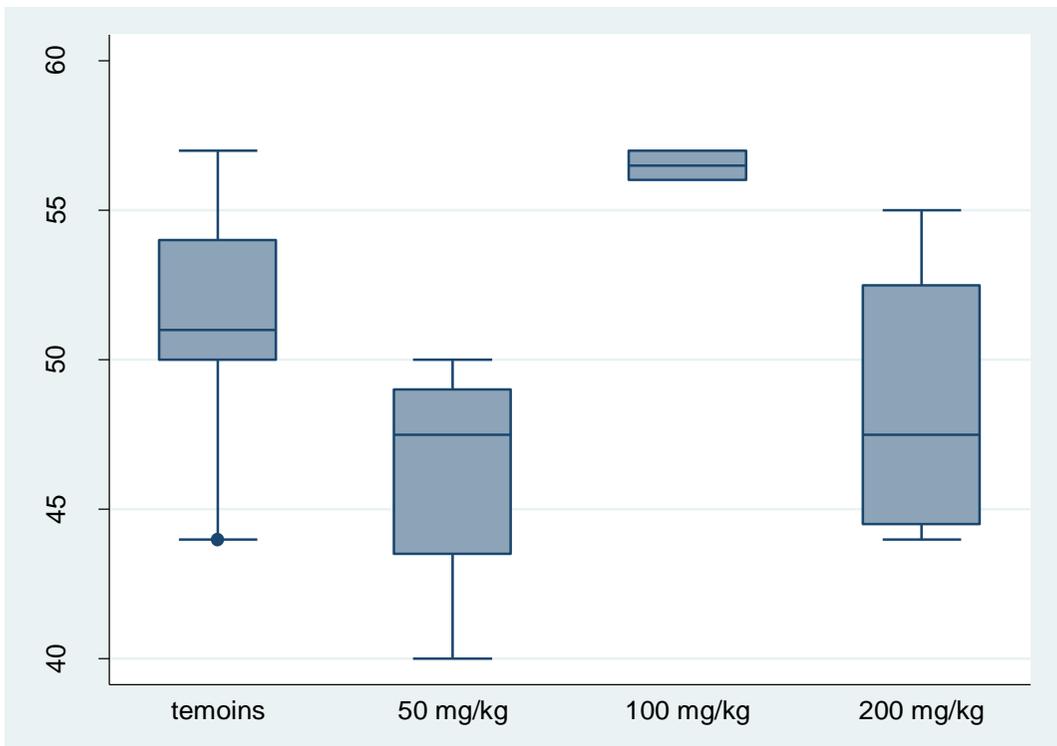


Figure 17: Concentrations de l'albumine des rats témoins et des rats traités à J28.

DISCUSSION

L'utilisation des écorces de tige de *Nauclea latifolia* comme médicaments traditionnels des traitements des affections bucco-dentaires dans les zones forestières en côte d'Ivoire a été sujette à polémique suite aux effets toxiques qu'ils pourraient générer au niveau de certains organes vitaux chez les populations. La présente étude était conçue dans le but d'évaluer, chez des rats de souches *Wistar*, la toxicité aiguë et subaiguë des substances bioactives de l'extrait hydroéthanolique de *Nauclea latifolia* à des doses croissantes.

Les tests screening phytochimique et chromatographie sur couche mince de l'extrait ont montré la présence des polyphénols totaux, des stérols et polyterpènes, des flavonoïdes, des tanins, les phénols acides carboxyliques et les saponosides. Ces résultats corroborent avec les résultats des tests expérimentaux réalisés par Kouadio (2014), Mohamed (2020). Par contre, ils diffèrent de ceux réalisés par Boucherie (2016). En effet, cette différence serait fonction de la méthode d'extraction réalisée, du lieu de culture, de la période de récolte et du conditionnement de l'espèce végétale. L'efficacité des activités biologiques des métabolites secondaires confirme l'usage de l'écorce de tige de *Nauclea latifolia* utilisée dans le traitement des affections bucco-dentaires par nos population africaines (Kwan, 2013 ; Ayelesso, 2014 ; Neelesh, 2014; Doukou, 2018).

La détermination de la dose létale médiane (DL_{50}) est demeurée un outil dans l'évaluation de la sécurité de substances, en dépit de certaines critiques formulées dans la littérature scientifique (Ozolua, 2013). L'extrait hydroéthanolique d'écorces de tige de *Nauclea latifolia*, administrés par voie orale en raison de 2000 mg/kg et 5000 mg /kg de poids corporel sur la santé des rats *Wistar*, n'a montré aucun signe de toxicité de mortalité ou de morbidité. Contrairement à la présente étude, selon des auteurs, les animaux ont surtout marqué la période d'étude par leur appétit à la consommation de nourriture et d'eau les huit premières heures (Kwan et al., 2013; Mohammad et al., 2012). Les rats exposés aux

doses uniques 2000 mg/kg et 5000 mg/kg, et aux différentes doses croissantes répétées par jour de l'extrait de *Nauclea latifolia* consommaient plus de nourriture et d'eau par rapport au lot témoins. Ce qui a contribué ainsi à leur croissance pondérale pendant la période expérimentale de toxicité aiguë et subaiguë par rapport aux rats témoins. La stimulation de l'appétit pourrait être attribuée à l'action individuelle des plantes dans le remède ou à leur synergie selon Kouadio et al. (2014). Et le pouvoir de la plante favorisant l'appétit a également été mis en évidence par Manda et al (2017). La DL_{50} était supérieure à 5000 mg/kg de poids corporel des rats. Par conséquent, l'extrait hydroéthanolique d'écorces de tige de *Nauclea latifolia* pourrait être candidat à la catégorie des substances non toxiques selon la loi Hodge et l'échelle de Stemer pour la toxicité (Hodge, 1956) et dans la catégorie des substances à faible toxicité selon l'OCDE (2001).

L'infarctus du myocarde est une maladie multifactorielle causée par de nombreux facteurs de risque cardiovasculaires, y compris l'exposition aux médicaments traditionnels et aux médicaments modernes. La lactate déshydrogénase (LDH) et la créatine phosphokinase (CPK) sont des enzymes utilisées comme marqueurs sensibles pour évaluer le degré de nécrose myocardique (Roe et al., 1972; Bugugnani, 2003). En effet, la CPK est une enzyme que l'on trouve essentiellement dans les muscles, et qui intervient dans la mise en réserve de l'énergie par un mécanisme appelé phosphorylation de la créatine. Par contre, la LDH, est une enzyme que l'on trouve essentiellement dans le plasma. La LDH constitue un indicateur d'une perturbation du bilan énergétique de la cellule conduisant à l'accumulation de cette enzyme suivie de la mort cellulaire (Grub et al., 2000). Le traitement des rats avec l'extrait hydroéthanolique de *Nauclea latifolia* traités aux différentes doses 50 mg/kg, 100 mg/kg et 200 mg/kg, a fait croire de façon transitoire et non significative ($p > 0,05$) les activités plasmatiques en créatine phosphokinase (CPK) et en lactate déshydrogénase (LDH). L'exposition des rats aux différentes doses peut

provoquer une sensibilité myocardique en augmentant le battement cardiaque. Par contre, le traitement des rats à la dose 200 mg/kg de poids corporel pendant 14 jours a diminué significativement l'activité de la lactate déshydrogénase dans le plasma protégeant le cœur de toute sensibilité nécrotique. Cette remarque différentielle n'est pas significative car elle peut s'expliquer par un malaise (infection) non lié au traitement du médicament aux doses de 50 et 100 mg/kg. En définitive, l'extrait d'écorce de *Nauclea latifolia* n'a exercé aucun effet néfaste sur le cœur des rats du lot expérimental.

Les reins jouent un rôle essentiel dans le processus de régulation par lequel l'organisme assure la filtration des déchets toxiques issus de la circulation sanguine et leur excrétion dans l'urine (Avalrez-Llamas et al., 2012). A cet effet, l'urée et la créatinine, deux composés azotés rénaux ont été évalués (Jaballi et al., 2017). La plupart des temps, ces composés sont filtrés par les reins avec peu ou pas de résorption tubulaire (Jaballi et al., 2017). Tout phénomène ou toute substance capable de modifier ces différentes fonctions rénales conduit inévitablement à la modification des concentrations plasmatiques de ces métabolites (Port, 2015).

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait hydroéthanolique de *Nauclea latifolia* à la dose 50 mg/kg de poids corporel a provoqué une augmentation significative des activités sériques en urée et en créatinine des rats du lot expérimental comparés à ceux du lot témoin pendant la période de 14 jours. Ensuite, cette augmentation des activités sériques des marqueurs a connu une stabilisation dans la suite du traitement au 28^{ème} jour. Cette analyse suggère que l'extrait hydroéthanolique de *Nauclea latifolia* à 14 jours de traitement pourrait influencer les activités sériques de l'urée et de la créatinine. Ces taux élevés peuvent indiquer une insuffisance rénale passagère (Pritchard et al., 2009). Au regard de la stabilisation détectée, il est à noter que les deux métabolites dérivant essentiellement du catabolisme de la créatine phosphate était globalement filtrée et éliminée par les glomérules mais, ils n'étaient ni réabsorbés ni

rejetés par les tubules. Cependant, la normalisation des taux plasmatiques en urée et en créatinine observée pour les doses 50 mg/kg et 100 mg/kg de la période 14 au 28 jours a montré que l'extrait hydroéthanolique de *Nauclea latifolia* ne présentait aucun danger néphrotique. De plus, la diminution de la créatinine représentait un paramètre de choix pour évaluer le débit de filtration glomérulaire (Porth, 2015). Néanmoins sa faible augmentation à la dose 200 mg/kg de poids corporel au 28^e jour était synonyme de perturbation de la régulation de filtration glomérulaire.

En définitive, l'extrait hydroéthanolique de *Nauclea latifolia* aurait d'effets délétères sur le fonctionnement et de l'intégrité tissulaire néphrotique si et seulement si l'utilisation serait faite au-delà de 28 jours.

Les enzymes de la fonction hépatique sont utilisées comme des indicateurs des changements biochimiques en réponse aux traitements réalisés. L'évaluation des activités sériques des enzymes du foie utilisées pour déterminer l'intégrité du tissu hépatique ont montré que les activités de l'ASAT et de l'ALAT dans le sérum des rats du lot expérimental n'ont pas été significativement modifiées comparés aux rats du lot témoins. Cependant, l'administration de l'extrait hydroéthanolique de *Nauclea latifolia* a provoqué dans la quasi-totalité une variation décroissante des activités sériques d'ALAT et d'ASAT pendant les 14 et 28 jours de traitement. Ce résultat est différent de celui de Wolf-Maier et al qui ont montré qu'une augmentation des activités de ces enzymes dans le sang impliquerait une infection du foie (Wolf-Maier et al., 2003). Malgré l'augmentation des activités sériques d'ALAT et de l'albumine des rats traités aux doses 50 mg/kg et 100 mg/kg par rapport au contrôle, l'extrait a provoqué une stabilisation de ces activités respectivement aux doses 100 et 200 mg/kg du poids corporel. Par conséquent, le non changement significatif de l'ASAT, l'ALAT et de l'albumine suggère que l'extrait hydroéthanolique administré aux rats *Wistar* n'influence pas le fonctionnement et l'intégrité du foie aux différentes doses. L'augmentation

de la concentration de protéine totale associée confirme ainsi que l'extrait hydroéthanolique d'écorce de tige de *Nauclea latifolia* joue un rôle hépatoprotecteur.

Conclusion

La triphytochimie de l'extrait hydroéthanolique de *Nauclea latifolia* a montré des présences qualitatives et expressives de polyphénols, flavonoïdes, tanins, acides phénoliques et saponosides. La DL₅₀ était supérieure à 5000 mg/kg de poids corporel. Les résultats sanguins n'ont montré dans le temps aucune perturbation sur le fonctionnement des activités des marqueurs biochimiques des reins, du foie et du cœur. La non toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait hydroéthanolique d'écorce de tige de *Nauclea latifolia* chez les rats *Wistar* est proportionnelle aux différentes doses thérapeutiques et aux substances actives phytochimiques. Cette expérimentation permettrait de formuler des médicaments traditionnels améliorés à base d'écorce de tige de *Nauclea latifolia* (bain de bouche alcalin, gélule antidouleur, gel cicatrisant, des matériaux de pansement inter dentaires), une fois, l'étude Histologique des organes vitaux réalisée.

CONFLIT INTERETS

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont pas d'intérêts concurrents.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

Tous les auteurs ont contribué d'une manière ou d'une autre à la réalisation de ce travail. Ainsi Okpèkon A.T. a participé à la réalisation de la caractérisation des composés chimiques. La toxicité aiguë et subaiguë ont été réalisées sous la supervision de Adouko A.J.A. Angbo M.A, quant à elle a réalisé les dosages des paramètres biochimiques. Angbo Marie, Adouko Aka et Bidié Alain ont contribué à l'amélioration et à l'approbation de la version finale du manuscrit.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les laboratoires de pharmacognosie, de pharmacologie, de constitution et réaction de la matière, de

biochimie médicale et de biomorphologie pathologies oro-maxillo-faciale et santé buccodentaire de l'université Félix Houphouët Boigny (Cote d'Ivoire).

REFERENCES

- Ademola OA, Oguntibeju OO, Brooks NL. 2014. *In vitro* study on the antioxydant potentials of leaves and fruits of *Nauclea latifolia*. *Scientific World Journal*, **2014**: 437081. DOI: 10.1155/2014/437081.
- Aké-Assi L. 2001-2002. Flore de la cote d'Ivoire 1, Catalogue systématique, biblio géographique et écologique. Genève, Conservatoire et Jardin Botanique Boissieria, p. 441.
- Arbonnier M. 2002. *Arbres, Arbustes et Lianes des Zones Sèches d'Afrique de l'Ouest* (2^{ème} Edition). CIRAD, MNHN.
- Avalrez-Llamas G, Zubiri I, Maroto AS, De La Cuesta F, Posada-Ayala M, Martin-Lorenzo M, et al. 2012. A Role for the membrane proteome in human chronic kidney disease erythrocytes. *Translational Research*, **160** (5): 374-383. DOI : 0.1016/j. trsl.2012.06.0004
- Badiaga M, 2011. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia*, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse PhD : chimie organique, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II, p. 253.
- Bergmeyer HU, Herder M, Rej R. 1985. Approved recommendation on IFCC methods for measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC Methods for aspartate aminotransferase. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, **24**: 497-508
- Bidié A, Banga BN, Adou FY, N'guessan JD, Djaman AJ. 2011. Activité antioxydante de dix plantes médicinales de la pharmacopée Ivoirienne. *Journal Sciences & Nature*, **8** (1) : 1-11.
- Boucherie B., Haucoeur R, Emerson FQ, Michel DW, Jean-Luc W, Richard JR. 2016. *Nauclea latifolia* ; Biological activity and alkaloid phytochemistry of a west African tree. *Natural Product Reports.*, **33** (9): 1034-1043. DOI: 10.1039/c6np00039h
- Bouquet A, Debray M. 1974. Plantes

- médicinales de la côte d'Ivoire. Collection « Mémoire de l'ORSTOM », **32**: 231. ISBN 2-7099-0341-5.
- Bugunani MJ. 2003. Creatine kinase. *Encycl Med Bio*; Elsevier Paris.
- Dick HUB, Sinton J.M. 1979. Compositional layering in Alpine peridotites: Evidence for pressure solution creep in the Mantle. *Journal of geology*, **87**(4): 403-416. DOI: 10.1086/628428
- Doukou M, Bayala B, Guenne S, Tindano B and Beleroulouri R. 2018. Phytochemical Composition, toxicity, antioxidant et lactogénic activities of *Euphorbia hirta*. *International Journal of Advanced Research*, **6**(8): 322-335 DOI: <http://dx.doi.org/10.21474/IJARO1/7524>
- ECCLS. 1989. Determination of the catalytic activity concentration in serum of L-aspartate amino transferase (EC 2.6.1.1. ASAT). *Klin Chem Mitt*, **20**:198-204.
- Gornall, AG, Bardawill, CJ, David, MM. 1949. Determination of serum proteins by means of the Biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry*, **177**(11): 751-766. PMID : 18110453
- Groupe de Direction mondiale. 2021. Résistance aux antimicrobiens et crise climatique, Global Leaders Group on antimicrobial resistance. GLG-infonote.climate. french. P. 1-4.
- Grub S, Persohn E, Trommer WE, Wolf A. 2000. Mechanisms of Cyclosporine A-Induced Apoptosis in Rat Hepatocyte Primary Cultures. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **163** (3): 209-20. DOI: 101006/taap.1999.8887
- Hodge HC, Stemer JH. 1949. Combined tabulation of toxicity classes. *Am Ind Yyg Assoc Q.*, **10**(4): 93-6. DOI: 10.108000968204909344159.
- Jaballi I, Ben SH, Bkhairia I, Kammoun I, Droguet M, Magné C. 2017. Increasing maneb doses induces reactive oxygen species overproduction and nephrotoxicity in adult mice. *Toxicology Mechanisms and Methods*, **27**(5): 382-393. DOI: 10.1080/15376516.2017.1300617
- Kouadio JH, Mathieu NB, Mama K and Dano S D. 2014. Toxicity of aqueous extract of *Nauclea latifolia* in Swiss Mice and IN OFA rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **13**(1): 109-115. DOI:10.431/tjpr.v13i1L16.
- Kronh R I. 2011. The colorimetric detection and quantitation of total protein. *Current protocols in cell Biology*. Doi.org/10.1002/0471143030.cba03hs52
- Kwan Y P, Ibrahim D, Yeng C, Sreenivasan S. 2013. Cytotoxicity and Génotoxicity assessment of *Euphorbia hirta* in MCF-7 cell line model using comet assay. *Asian pacifique Journal tropicale de biornmed.*, **3**(9): 692-696. DOI: 10.1016/S2221-1691(13)60140-9.
- Lopez JC, Ruiz FJ, Feder J, Barbero-Rublo, Suarez-Aguire JJ, Rodriguez AJ, Luciano C. 2010. The role of experiential avoidance in the performance on a high cognitive demand task. *International journal of Psychology and Psychological therapy*, **10** : 475-488.
- Manda P, Manda O, Obouo M, Vangah-Manda, Kroa E, Danon D S. 2027. Etude des toxicités aigue et subaigue du remède Nature utilisé dans le traitement du paludisme. *Rev. Ivoir. Sci. Technol.*, **29**: 145-158. ISSN 1813-3290, <http://www.revist.ci>
- Mohamad F M, Dall'Acqua S, Sinan KI, Sut S, Ferrarese I, Etienne OK. 2020. Phenolic compounds analysis of tree *Euphorbia* species by LC-DAD-MSⁿ and their biological properties. *J Pharm Biomed Anal.*, **189**: 113477. DOI: 10.1016/j.jpba.2020.113477.
- Neelesh S, Kalpa W S, Rajendra G, Yan-Ho P, Sung-Jin L, Sung JO, Tae-Hoon Lee, Dong KJ. 2014. Evaluation of the Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Anticancer Activities of *Euphorbia hirta* Ethanolic Extract. *Molecules*, **19**(9) : 14567-14581. <https://doi.org/10.3390/molecules190914567>
- Organisation de coopération et de développement économique (OCDE). 2001. Lignes directrices pour l'essai des produits chimiques : Toxicité aigüe orale. N° 423. p.14
- Organisation de coopération et de développement économique (OCDE). 2008. Lignes directrices pour l'essai des produits chimiques : Toxicité subaigüe orale à dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs. N° 407. p.14.
- Organisation mondiale de la santé (OMS).

2014. Oral health (site internet) Genève. ([http://www.int/topics/oral Health](http://www.int/topics/oral%20Health)).
- Organisation mondiale de la santé (OMS) / Bureau régional de l'Afrique. 2016. Promouvoir la santé bucco-dentaire en Afrique. p.121. ISBN : 978-929031223-9 (Classification NLM : WU 140).
- Ozolua RI, Waya DO. 2013. Laboratory based safety assessment test of some Nigerian commercial herbal products. *Journal of Pharmacovigilance*, **51**: 001. DOI : 10.4172/2329-6887.S1-001.
- Porth C. 2015. Essentials of pathophysiology: Concepts of altered heart states. Philadelphia, USA 4^{ème} éd. Wolters Kluwer. p.1248. ISBN: 1496309456, 49781496309457
- Pritchard JC, Burn CC, Barr ARS, Whay HR. 2009. Hematological and serum biochemical reference values for apparently healthy working horses in Pakistan. *Research in veterinary Science*, **87** (3): 389-95. DOI: 10.1016/j.rvsc.2009.05.003.
- Roe CR, Limbird LE, Wagner GS, Nerenberg ST. 1972. Comned isoenzyme analysis in the diagnosis of myocardial injury: application of electrophoretic methods for the detection and quantitation of the creatine posphokinase MB isoenzyme. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **80** (4): 557- 590. DOI: <https://doi.org/10.5555/uri:pii:002221437290>
- Tietz NW. 1999. Textbook of clinical chemistry, 3^{ème} Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood. W.B Saunder p. 652-656. ISBN: 0721656102, 9780721656106.
- Wolf-Maier K, Cooper S, Banegas JR, Giampaoli S, Hense HW, Joffres M, Kastarinen M, Poulter N, Primatesta P, Rodriguez-ARTALEJO F, Thamm M, Tuomilehto J, Vanuzzo D, F vescio. 2003. Hypertension, prevalence and blood pressure levels in 6 European countries, Canada, and the United States. *Journal of the American Medical Association*, **29** (18): 2363-2369.