MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE UNION – DISCIPLINE – TRAVAIL



N°.....

Année: 2016 - 2017

THESE

Présentée en vue de l'obtention du

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

ADEPO APIE ANNICK

Evaluation de l'activité anti-inflammatoire et antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* L. Wight et Arn. (Fabaceae)

S	outenue	publiquemen	t le	·
---	---------	-------------	------	---

COMPOSITION DU JURY:

Président : Madame KOUAKOU- SIRANSY GISELE, Professeur Titulaire

Directeur de thèse : MadameIRIE-N'GUESSAN AMENAN, Maître de Conférences Agrégé

Assesseurs : Monsieur AHIBOH HUGUES, Maître de Conférences Agrégé

: MadameDIAKITE AÏSSATA, Maître -assistante

ADMINISTRATION ET PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUE

I. HONORARIAT

Directeurs/Doyens Honoraires : Professeur RAMBAUD André

Professeur FOURASTE Isabelle

Professeur BAMBA Moriféré

Professeur YAPO Abbé †

Professeur MALAN Kla Anglade

Professeur KONE Moussa †

Professeur ATINDEHOU Eugène

II. ADMINISTRATION

Directeur Professeur KONE-BAMBA Diénéba

Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie Professeur IRIE-N'GUESSAN AMENAN

Sous-Directeur Chargé de la Recherche Professeur Ag OGA Agbaya Serge

Secrétaire Principal Madame NADO-AKPRO Marie Josette

Documentaliste Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert

Intendant Monsieur GAHE Alphonse

Responsable de la Scolarité Madame DJEDJE Yolande

III. PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT

1- PROFESSEURS TITULAIRES

M. ABROGOUA Danho Pascal Pharmacie Clinique

Mmes AKE Michèle Chimie Analytique, Bromatologie

ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L. Biochimie et Biologie Moléculaire

M. DANO Djédjé Sébastien Toxicologie.

INWOLEY Kokou André Immunologie

Mme KONE BAMBA Diéneba Pharmacognosie

M. KOUADIO Kouakou Luc Hydrologie, Santé Publique

Mme KOUAKOU-SIRANSY Gisèle Pharmacologie

M. MALAN Kla Anglade Chimie Ana., contrôle de qualité

MENAN Eby Ignace Parasitologie - Mycologie

MONNET Dagui Biochimie et Biologie Moléculaire

Mme SAWADOGO Duni Hématologie

M. YAVO William Parasitologie - Mycologie

2- MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M. AHIBOH Hugues Biochimie et Biologie moléculaire

Mme AKE-EDJEME N'guessan Angèle Biochimie et Biologie moléculaire

M. AMARI Antoine Serge G. Législation

AMIN N'Cho Christophe Chimie analytique

BONY François Nicaise Chimie Analytique

DALLY Laba Ismael Pharmacie Galénique

DEMBELE Bamory Immunologie

DJOHAN Vincent Parasitologie -Mycologie

GBASSI K. Gildas Chimie Physique Générale

Mme IRIE-N'GUESSAN Amenan Pharmacologie

M. KOFFI Angely Armand Pharmacie Galénique

Mme KOUAKOU-SACKOU Julie Santé Publique

M. KOUASSI Dinard Hématologie

LOUKOU Yao Guillaume Bactériologie-Virologie

OGA Agbaya Stéphane Santé publique et Economie de la santé

OUASSA Timothée Bactériologie-Virologie

OUATTARA Mahama Chimie organique, Chimie thérapeutique

Mmes POLNEAU-VALLEE Sandrine Mathématiques-Statistiques

SANGARE TIGORI Béatrice Toxicologie

M. YAPI Ange Désiré Chimie organique, chimie thérapeutique

ZINZENDORF Nanga Yessé Bactériologie-Virologie

3- MAITRES ASSISTANTS

M. ADJAMBRI Adia Eusebé Hématologie

ADJOUNGOUA Attoli Léopold Pharmacognosie

Mmes ABOLI-AFFI Mihessé Roseline Immunologie

AKA ANY-GRAH Armelle Adjoua S. Pharmacie Galénique

ALLA-HOUNSA Annita Emeline Sante Publique

M ANGORA Kpongbo Etienne Parasitologie - Mycologie

Mmes AYE-YAYO Mireille Hématologie

BAMBA-SANGARE Mahawa Biologie Générale

BARRO-KIKI Pulchérie Parasitologie - Mycologie

M. CABLAN Mian N'Ddey Asher Bactériologie-Virologie

CLAON Jean Stéphane Santé Publique

Mmes DIAKITE Aïssata Toxicologie

FOFIE N'Guessan Bra Yvette Pharmacognosie

M. KASSI Kondo Fulgence Parasitologie-Mycologie

Mme KONAN-ATTIA Akissi Régine Santé publique

M. KONAN Konan Jean Louis Biochimie et Biologie moléculaire

Mmes KONATE Abibatou Parasitologie-Mycologie

KOUASSI-AGBESSI Thérèse Bactériologie-Virologie

M. MANDA Pierre Toxicologie

N'GUESSAN Alain Pharmacie Galénique

Mme VANGA ABO Henriette Parasitologie-Mycologie

M. YAYO Sagou Eric Biochimie et Biologie moléculaire

4- ASSISTANTS

M. ADIKO Aimé Cézaire Immunologie

AMICHIA Attoumou Magloire Pharmacologie

Mmes AKOUBET-OUAYOGODE Aminata Pharmacognosie

ALLOUKOU-BOKA Paule-MireilleLégislation

APETE Sandrine Bactériologie-Virologie

BEDIAKON-GOKPEYA Mariette Santé publique

BLAO-N'GUESSAN Amoin Rebecca J. Hématologie

M. BROU Amani Germain Chimie Analytique

BROU N'Guessan Aimé Pharmacie clinique

COULIBALY Songuigama Chimie organique, chimie thérapeutique

M. DJADJI Ayoman Thierry Lenoir Pharmacologie

DJATCHI Richmond Anderson Bactériologie-Virologie

Mmes DONOU-N'DRAMAN Aha Emma Hématologie

DOTIA Tiepordan Agathe Bactériologie-Virologie

M. EFFO Kouakou Etienne Pharmacologie

Mme KABLAN-KASSI Hermance Hématologie

M. KABRAN Tano Kouadio Mathieu Immunologie

KACOU Alain Chimie organique, chimie thérapeutique

KAMENAN Boua Alexis Thierry Pharmacologie

KOFFI Kouamé Santé publique

KONAN Jean Fréjus Biophysique

Mme KONE Fatoumata Biochimie et Biologie moléculaire

M. KOUAHO Avi Kadio Tanguy Chimie organique, chimie thérapeutique

KOUAKOU Sylvain Landry Pharmacologie

KOUAME Dénis Rodrigue Immunologie

KOUAME Jérôme Santé publique

KPAIBE Sawa Andre Philippe Chimie Analytique

Mme KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde Bactériologie-Virologie

M. LATHRO Joseph Serge Bactériologie-Virologie

MIEZAN Jean Sébastien Parasitologie-Mycologie

N'GBE Jean Verdier Toxicologie

N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul Chimie organique, chimie thérapeutique

Mmes N'GUESSAN Kakwokpo Clémence Pharmacie Galénique

N'GUESSAN-AMONKOU Anne Cynthia Législation

ODOH Alida Edwige Pharmacognosie

SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle Biochimie et Biologie moléculaire

SICA-DIAKITE Amelanh Chimie organique, chimie thérapeutique

TANOH-BEDIA Valérie Parasitologie-Mycologie

M. TRE Eric Serge Chimie Analytique

Mme TUO Awa Pharmacie Galénique

M. YAPO Assi Vincent De Paul Biologie Générale

Mme YAPO-YAO Carine Mireille Biochimie

5- CHARGEES DE RECHERCHE

Mme ADIKO N'dri Marcelline Pharmacognosie

OUATTARA N'gnôh Djénéba Santé publique

6- ATTACHE DE RECHERCHE

M. LIA Gnahoré José Arthur Pharmacie Galénique

7- IN MEMORIUM

Feu KONE Moussa Professeur Titulaire

Feu YAPO Abbé Etienne Professeur Titulaire

Feu COMOE Léopold Maître de Conférences Agrégé

Feu GUEU Kaman Maître Assistant

Feu ALLADOUM Nambelbaye Assistant

Feu COULIBALY Sabali Assistant

Feu TRAORE Moussa Assistant

Feu YAPO Achou Pascal Assistant

IV. ENSEIGNANTS VACATAIRES

1- PROFESSEURS

M. DIAINE Charles Biophysique

OYETOLA Samuel Chimie Minérale

2- MAITRES DE CONFERENCES

M. KOUAKOU Tanoh Hilaire Botanique et Cryptogamie

YAO N'Dri Athanase Pathologie Médicale

3- MAITRE-ASSISTANT

M. KONKON N'Dri Gilles Botanique, Cryptogamie

4- NON UNIVERSITAIRES

MM. AHOUSSI Daniel FerdinandSecourisme

COULIBALY Gon Activité sportive

DEMPAH Anoh Joseph Zoologie

GOUEPO Evariste Techniques officinales

Mme KEI-BOGUINARD Isabelle Gestion

MM KOFFI ALEXIS Anglais

KOUA Amian Hygiène

KOUASSI Ambroise Management

N'GOZAN Marc Secourisme

KONAN Kouacou Diététique

Mme PAYNE Marie Santé Publique

COMPOSITION DES DEPARTEMENTS DE L'UFRDES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

I. <u>BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE</u>

Professeur LOUKOU Yao Guillaume Maître de Conférences Agrégé

Chef de département

Professeurs OUASSA Timothée Maître de Conférences Agrégé

ZINZENDORF Nanga Yessé Maître de Conférences Agrégé

Docteurs CABLAN Mian N'Dédey Asher Maître-Assistant

KOUASSI AGBESSI Thérèse Maître-Assistant

APETE Sandrine Assistante

DJATCHI Richmond Anderson Assistant

DOTIA Tiepordan Agathe Assistante

KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde Assistante

LATHRO Joseph Serge Assistant

II. <u>BIOCHIMIE, BIOLOGIE MOLECULAIRE, BIOLOGIE DE LAREPRODUCTION</u> <u>ET PATHOLOGIE MEDICALE</u>

Professeur MONNET Dagui Professeur Titulaire

Chef de Département

Professeurs HAUHOUOT ép. ATTOUNGBRE M.L. Professeur Titulaire

AHIBOH Hugues Maître de Conférences Agrégé

AKE-EDJEME N'Guessan Angèle Maître de Conférences Agrégé

Docteurs KONAN Konan Jean Louis Maître-Assistant

YAYO Sagou Eric Maître-Assistant

KONE Fatoumata Assistante

SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle Assistante

YAPO-YAO Carine Mireille Assistante

III. BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Professeur SAWADOGO Duni Professeur Titulaire

Chef du Département

Professeurs INWOLEY Kokou André Professeur Titulaire

DEMBELE Bamory Maître de Conférences Agrégé

KOUASSI Dinard Maître de Conférences Agrégé

Docteurs ABOLI-AFFI Mihessé Roseline Maître-Assistant

ADJAMBRI Adia Eusebé Maitre-Assistant

AYE-YAYO Mireille Maitre-Assistant

BAMBA-SANGARE Mahawa Maitre-Assistant

ADIKO Aimé Cézaire Assistant

DONOU-N'DRAMAN Aha Emma Assistante

KABLAN-KASSI Hermance Assistante

KABRAN Tano K. Mathieu Assistant

KOUAME Dénis Rodrigue Assistant

N'GUESSAN-BLAO A. Rebecca S. Assistante

YAPO Assi Vincent De Paul Assistant

IV. CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE MINERALE ET GENERALE, TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

Professeur MALAN Kla Anglade Professeur Titulaire

Chef de Département

Professeurs AKE Michèle Professeur Titulaire

AMIN N'Cho Christophe Maître de Conférences Agrégé

BONY Nicaise François Maître de Conférences Agrégé

GBASSI Komenan Gildas Maître de Conférences Agrégé

Docteurs BROU Amani Germain Assistant

KPAIBE Sawa Andre Philippe Assistant

TRE Eric Serge Assistant

V. CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE

Professeur OUATTARA Mahama Maître de Conférences Agrégé

Chef de Département

Professeur YAPI Ange Désiré Maître de Conférences Agrégé

Docteur COULIBALY Songuigama Assistant

KACOU Alain Assistant

KOUAHO Avi Kadio Tanguy Assistant

N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul Assistant

SICA-DIAKITE Amelanh Assistante

VI. PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE

Professeur MENAN Eby Ignace H. Professeur Titulaire

Chef de Département

Professeurs YAVO William Professeur Titulaire

DJOHAN Vincent Maître de Conférences Agrégé

Docteurs ANGORA Kpongbo Etienne Maître-Assistant

BARRO KIKI Pulchérie Maître-Assistant

KASSI Kondo Fulgence Maître-Assistant

KONATE Abibatou Maître-Assistant

VANGA ABO Henriette Maître-Assistant

MIEZAN Jean Sébastien Assistant

TANOH-BEDIA Valérie Assistante

VII. PHARMACIE GALENIQUE, BIOPHARMACIE, COSMETOLOGIE, GESTION ET LEGISLATIONPHARMACEUTIQUE

Professeur KOFFI Armand A. Maître de Conférences Agrégé

Chef de Département

Professeurs AMARI Antoine Serge G. Maître de Conférences Agrégé

DALLY Laba Ismaël Maître de Conférences Agrégé

Docteurs AKA ANY-GRAH Armelle A.S. Maître-Assistant

N'GUESSAN Alain Maître-Assistant

ALLOUKOU-BOKA P.-Mireille Assistante

LIA Gnahoré José Arthur Attaché de recherche

NGUESSAN Kakwokpo Clémence Assistante

N'GUESSAN-AMONKOU A. Cynthia Assistante

TUO Awa Assistante

VIII. <u>PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE, CRYPTOGAMIE</u>

Professeur KONE BAMBA Diénéba Professeur Titulaire

Chef de Département

Docteurs ADJOUGOUA Attoli Léopold Maître-Assistant

FOFIE N'Guessan Bra Yvette Maître-Assistant

ADIKO N'dri Marcelline Chargée de recherche

AKOUBET-OUAYOGODE Aminata Assistante

ODOH Alida Edwige Assistante

IX. PHARMACOLOGIE, PHARMACIE CLINIQUE ETTHERAPEUTIQUE ET PHYSIOLOGIE HUMAINE

Professeurs ABROGOUA Danho Pascal Professeur Titulaire

Chef de Département

KOUAKOU SIRANSY N'doua G. Professeur Titulaire

IRIE N'GUESSAN Amenan G. Maître de Conférences Agrégé

Docteurs AMICHIA Attoumou M Assistant

BROU N'Guessan Aimé Assistant

DJADJI Ayoman Thierry Lenoir Assistant

EFFO Kouakou Etienne Assistant

KAMENAN Boua Alexis Assistant

KOUAKOU Sylvain Landry Assistant

X. PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE

Professeur POLNEAU-VALLEE Sandrine Maître de Conférences Agrégé

Chef de Département

Docteur KONAN Jean-Fréjus Maître-Assistant

XI. SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE

Professeur KOUADIO Kouakou Luc Professeur Titulaire

Chef de département

DANO Djédjé Sébastien Professeur Titulaire

OGA Agbaya Stéphane Maître de Conférences Agrégé

KOUAKOU-SACKOU J. Maître de Conférences Agrégé

SANGARE-TIGORI B. Maître de Conférences Agrégé

Docteurs CLAON Jean Stéphane Maître-Assistant

MANDA Pierre Maître-Assistant

DIAKITE Aissata Maître-Assistante

HOUNSA-ALLA Annita Emeline Maître-Assistante

KONAN-ATTIA Akissi Régine Maître-Assistante

OUATTARA N'gnôh Djénéba Chargée de Recherche

BEDIAKON-GOKPEYA Mariette Assistant

KOFFI Kouamé Assistant

NGBE Jean Verdier Assistant

DEDICACES

A Dieu tout puissant,

Créateur de l'univers, maître du temps et des circonstances, tu m'as soutenu depuis le commencement jusqu'à la fin, soit glorifié au travers de cette thèse. Amen!

A mon pèreADEPO BONY HYACINTHE

Cher père merci de m'avoir inscrite à l'école malgré tout.

Merci pour ton soutien,

Merci pour ta présence auprès de nous,

Merci pour tout ce que tu as fait pour nous et tu continues encore de faire,

Merci pour l'amour que tu as pour chacunde tes enfants.

Pour certains tu n'es pas le meilleur, mais pour moi, tu es le meilleur papa, mon ami. Ce travail est le fruit de ce que tu as semé.

Dieu te bénisse et te garde!

A mamère KISSIEDOU ANIN SILVIE

Merci de m'avoir donné la vie et la joie, merci pour ta présence et ton soutien. Ton courage et ta détermination ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Dieu te bénisse et te garde!

A mon fiancé ARSENE BEDA N'CHO

Qui a su m'épauler et m'encouragerà aller plus loin, quoique cela nouscoûte, merci pour ton soutien.

Dieu te bénisse et te garde!

A mon fils chéri AXEL-DAVID N'CHO

Ta présence m'a toujours donné la joie et la force pour aller jusqu'au bout de ce travail. Puisse Dieu, t'accorder la santé et te permettre de grandir en intelligence et en sagesse pour réussir et faire mieux que ta maman, je t'aime!

A mon oncle **GERMAIN GOURENE**

Merci tonton pour ce grand geste d'amour et de soutien après mon BAC. Reçois ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime.

Dieu te bénisse et te garde!

A tontonLUCIEN et tontonJACOB

Merci pour le soutien scolaire que vous avez été pour moi. Dieu vous bénisse et vous garde!

A mes frères et sœurs

En témoignage de toute l'affection et de profonds sentiments que je vous porte et de l'attachement qui nous unit. Ce travail est le vôtre, prenez-en soin.

Dieu vous bénisse et vous garde!

A tous mes oncles et tantes

Merci pour votre aide et votre sollicitude et vos conseils.

Dieu vous bénisse et vous garde!

A mes amis,

AUDREY CYTHUS DINDJI"cituci", tu es spéciale pour moi, merci pour ces années d'étude que nous avons passées ensemble, merci pour ce que tu continues de faire. Loin des yeux mais près du cœur.

Dieu te bénisse et te garde!

ANTWI KARENmerci "kaka"

AKA CINTHIAmerci "cici"

CRISTINE AGOUSSImerci "kiki"

Mon groupe de travail "le gbonhi", **Kré Jonas, Menéas Mathieu, Agoussi Christine, Agnero Martine, Tchimou Suzy**merci pour lesoutien, ces moments de joie et de difficultés que nousavons passésensemble.

Dieu vous bénisse et vous garde!

A toutela famille ADEPO et KISSIEDOU.

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont à l'endroit de toutes les personnes, qui ont apporté un soutien à ce travail. Il s'agit, en particulier de :

- Professeur N'guessan-Irié pour l'encadrement et son soutien à la réalisation de ce travail;
- Docteur Kouakou Landry merci pour son aide, sa disponibilité et tous ses conseils.
- Le personnel du laboratoire de pharmacologie en particulier Clément pour sa disponibilité et son soutien

A NOS MAITRES ET JUGES

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

Madame le professeur KOUAKOU- SIRANSY GISELE

- Professeur titulaire en pharmacologie;
- Titulaire d'une thèse de doctorat unique en pharmacologie de l'université Félix Houphouët-Boigny ;
- > Titulaire d'un DEA en physiologie animale;
- ➤ Membre de la Société Française de la Pharmacologie et de la thérapeutique;
- Pharmacien hospitalier au CHU de Cocody;
- Ancien interne des hôpitaux ;
- ➤ Membre de la Société Française d'Ethnopharmacologie ;
- > Membre de la Société de Pharmacologie et de Toxicologie du Burkina Faso;
- Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie.

Honorable Maître,

Vous m'avez fait l'honneur de présider cette thèse et de juger mon travail malgré vos lourdes responsabilités. Je vous remercie pour votre disponibilité.

Veuillez trouver l'expression de mon profond respect et de ma sincère gratitude pour votre confiance. Sachez que je suis fière et heureuse d'être comptée parmi vos élèves. J'espère que ce travail répondra à vos attentes.

Je prie que les bénédictions de l'Eternel Dieu de gloire ne tarissent jamais à l'endroit de votre famille et vous.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Madame le Professeur N'GUESSAN-IRIE Geneviève

- Maître de Conférences Agrégé en Pharmacologie ;
- Enseignante-Chercheure en Pharmacologie à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY
- Vice-Doyen chargé de la pédagogie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques
- Docteur de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY en Pharmacologie ;
- DES de Pharmacothérapeutique
- > DEA de Physiologie Animale
- ➤ CES de Parasitologie
- ➤ CES d'Immunologie
- ➤ CES d'Hématologie-Biologie
- ➤ Pharmacien au Service de Pharmacie, Centre Hospitalier Universitaire de Cocody Abidjan;
- ➤ Ancien Interne des Hôpitaux d'Abidjan;
- ➤ Membre de la SOPHACI (Société Pharmaceutique de Côte d'Ivoire) ;
- ➤ Membre de la SOPHATOX-Burkina (Société de Pharmacologie et de Toxicologie du Burkina);
- ➤ Membre de la SFE (Société Française d'Ethnopharmacologie).

Chermaître,

Nous vous sommes reconnaissants pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce travail.

Notre admiration pour vous est d'autant plus grande que vous savez associer vos responsabilités administratives et celles d'enseignants.

Vous avez initié ce travail pour lequel vous n'avez ménagé ni vos efforts, ni votre temps.

Auprès de vous, nous avons toujours trouvé réconfort moral, et les conseils pour supporter les coups durs que nous réserve la vie.

Ce travail est aussi le fruit de vos efforts .Trouvez ici l'expression de nos vifs remerciements et profond respect.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Monsieur le professeur AHIBOH Hugues Franck Thierno

- ➤ Professeur Agrégé de Biochimie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan
- Docteur en Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, option biochimie, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan
- Docteur en Pharmacie, Université de Cocody Abidjan
- ➤ Pharmacien-Biologiste, responsable de l'unité de biochimie du Centre de Diagnostic et de Recherches sur le Sida et maladies opportunistes (CeDReS, CHU de Treichville)
- ➤ Membre de la société savante Pharmaceutique de CI (SOPHACI)
- > Ancien Interne des Hôpitaux d'Abidjan

Cher maitre,

Nous avons été particulièrement touchés par la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger dans le jury de cette thèse.

Nous vous sommes reconnaissants pour les conseils que vous nous avez toujours prodigués lors de vos brillants enseignements.

Permettez-nous de vous remercier et de vous exprimer notre gratitude.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Madame le Docteur DIAKITE AÏSSATA

- Ancien interne des hôpitaux de Côte d'Ivoire
- DESS de Toxicologie et Analyse des Risques Toxicologiques
- Master de Santé Environnementale et Santé au Travail : option Toxicologie
- Doctorat d'Université en Toxicologie
- Maître-Assistante en Toxicologie à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologique
- Pharmacien-Toxicologue au Laboratoire National de la Santé Publique
- Membre de la Société Ivoirienne de Toxicologie (SITOX)
- Membre de l'African Society for Toxicological Sciences (ASTS)
- Membre de la Société Française Santé Environnement (SFSE)
- Membre de la Coalition Canadienne de Recherche en Santé Mondiale (CCRSM)

Cher Maître,

C'est pour nous un grand honneur que vous acceptez de siéger parmi cet honorable jury. Nous avons toujours admiré vos qualités humaines et professionnelles ainsi votre modestie qui reste exemplaire.

Qu'il nous soit permis de vous exprimer notre reconnaissance et notre grand estime.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION1		
I. INFL	AMMATION	5
I.1 D	éfinition	5
I.2 R	éactions inflammatoires	5
I.3 M	lédicaments de l'inflammation	8
I.4 M	lédicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	9
I.4.1	Mécanisme d'action	9
I.4.2	Classification	11
I.4.3	Effets secondaires des AINS	12
I.5 M	lédicaments anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)	13
I.5.1	Mécanisme d'action	13
I.5.2	Classification	15
I.6 A	nti-inflammatoires d'origine végétale	17
II. STRI	ESS OXYDATIF	18
II.1 D	éfinition	18
II.2 C	onséquences du stress oxydatif	19
II.3 A	ntioxydants	21
II.4 M	Iécanisme d'action	21
П5 С	lassification	21

III.DIC	CHROSTACHYS CINEREA (FABACEAE)	22
III.1	Description de la plante	22
III.2	Répartition géographique	23
III.3	Usages traditionnels	23
III.4	Composition chimique	24
III.5	Etudes pharmacologiques	24
IV. OBJ	JECTIFS	26
V. CAI	DRE ET TYPE D'ETUDE	26
V.1	Cadre de l'étude	26
V.2	Type et durée de l'étude	26
VI. MA	ATERIEL ET METHODES	27
VI.1	Extrait végétal	27
VI.2	Récolte	27
VI.3	Matériels de laboratoire utilisés	28
VI.4	Méthode d'extraction	28
VI.5	Evaluation de l'activité pharmacologique	30
VI.5	5.1 Etude de l'activité anti-inflammatoire	30
V	T.5.1.1 Matériel animal	30
V	7I.5.1.2 Réactifs utilisés	31
V	7I.5.1.3 Matériel de laboratoire	31
V]	71.5.1.4 Préparation de la solution de l'extrait hydro-éthanolic	que31
VI.5	5.2 Méthodologie	32
V]	71.5.2.1 Test d'irritation de la patte du rat induit par le formal	déhyde 32

VI.5.2.2 Test de l'œdème induit par la carragénine	35
VI.5.3 Etude de l'activité antioxydante	38
VI.5.3.1 Description des méthodes	40
VI.5.4 Etude de la toxicité subaigue	43
VI.5.4.1 Animaux utilisés	43
VI.5.4.2 Principe de l'essai	43
VI.5.4.3 Mode opératoire	44
VII. STATISTIQUES	45
VIII. RESULTATS	46
VIII.1 Rendement	46
VIII.2 Etude de l'activité anti-inflammatoire	46
VIII.2.1 Test au formaldéhyde	46
VIII.2.2 Test à la carragénine	48
VIII.3 Etude de l'activité antioxydante	50
VIII.4 Etude de la toxicité subaigue	52
IX. DISCUSSION	59
IX.1 Activité anti-inflammatoire	59
IX.2 Activité antioxydante	62
IX.3 Toxicité subaigue	63
CONCLUSION	64
PERSPECTIVES	66
REFERENCES	68
ANNEXES	78

SIGLES, ACRONYMESET ABREVIATIONS

AAS : Acide acétylsalicylique

ABTS: Acide 2,2-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-Sulfonique)

ACTH: Adreno Cortico Trophic Hormone

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique

AINS: Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien

AIS: Anti-Inflammatoire Stéroïdien

ARN_m: Acide Ribo-Nucléique Messager

Béta: Bétamethasone

CHU: Centre Hospitalier et Universitaire

COX: Cyclo-Oxygenase

DC : Dichrostachys cinerea

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DO : Densité Optique

EDTA: Acide éthylène Diamine Tétra - Acétique

ERO : Espèce Réactive de l'Oxygène

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

GSH: Glutathion

g: gramme

HCl : Acide Chlorydrique

HHSR: Hypothalamo Hypophyso Surrénalien

IL : Interleukine

J : Jour

Keto: Kétoprofène

Kg: kilogramme

LT : Leucotriène

mg : Milligramme

ml : Millilitre

mm : Millimètre

mM : Milli mole

mg/kg: Milligramme par kilogramme

min : Minute

NS : Non significatif

nm : Nanomètre

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economiques

pc: Poids corporel

PG : Prostaglandine

pH : Potentiel Hydrogène

μl : Microlitre

umol : Micromole

TPTZ : 2,2,6-Tri(2-Pyridyl)-S-Triazine

TX: Thromboxane

V : Volume

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

WHO: World Health Organization

° : Degré

% : Pourcentage

LISTE DES FIGURES

Figure 1: formation de transudat et d'exsudat	6
Figure 2 : migration trans-endothéliale des leucocytes	6
Figure 3 : processus général des différentes étapes de la réaction inflammatoire	7
Figure 4: mécanisme de la réaction inflammatoire	8
Figure 5: sites d'actiondes médicaments anti-inflammatoires	9
Figure 6 : mécanisme d'action des AINS	10
Figure 7a: mécanisme d'action des glucocorticoïdes	14
Figure 7b: mécanisme d'action des glucocorticoïdes(suite)	15
Figure 8: balance radicaux libres / anti-oxydant	19
Figure 9: Dichrostachys cinerea (L.) Wight et arn. (Fabaceae)	22
Figure 10 : écorce de racines pulvérisée de <i>Dichrostachys cinerea</i>	27
Figure 11 : extrait de <i>Dichrostachys cinerea</i> après filtration	29
Figure 12: évaporation du solvant d'extraction au rotavapor	29
Figure 13 : extrait pulvérulent de Dichrostachys cinerea	29
Figure 14 : schéma synoptique de l'extraction hydro-éthanolique à froid	30
Figure 15 : rat (<i>Rattus norvegicus</i>)	31

Figure16 : cage d'observation munie de trois miroirs (arrière, gauche et droit)	34
Figure 17: injection intra plantaire dans la patte gauche du rat	34
Figure 18 : patte arrière gauche levée du rat	35
Figure 19 : léchage de la patte gauche du rat	35
Figure 20 : injection sous-plantaire dans la patte arrière gauche de rat	37
Figure 21 : œdème de la patte postérieure gauche du rat	37
Figure 22 : micromètre électronique (pied à coulisse)	37
Figure 23 : rat recevant de l'eau distillée par gavage	44
Figure 24 : évolution du temps de léchage de la patte irritée	47
Figure 25 : pourcentage d'inhibition du temps de léchage de la patte de rat irritée	47
Figure 26 : évolution de l'épaisseur de la patte irritée	49
Figure 27 : pourcentage d'inhibition des substances sur l'œdème induit par la Carragénine	50
Figure 28 : effet de l'extrait hydro-éthanolique du DC sur les espèces radicalain ABTS•+ et DPPH•	51
Figure 29 : pouvoir de réduction Fe ²⁺ en Fe ³⁺	51
Figure 30 : évolution du poids corporeldes rats en fonction du temps	52
Figure 31 : évolution de la température corporelle des rats en fonction du temps	53
Figure 32 : évolution du nombre de leucocytes en fonction du temps	55

Figure 33 : évolution du nombre de globule rouges en fonction du temps	56
Figure 34 : évolution du taux d'hémoglobine en fonction du temps	57
Figure 35 : effet de l'extrait hydro-éthanolique des écorces de racines de DC sur les plaquettes en fonction du temps	58

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : classification des AINS	11
Tableau II : principales molécules des AIS et leurs effets secondaires	16
Tableau III : exemples de plantes médicinales douées d'activité	
anti-inflammatoire	17
Tableau IV : principales caractéristiques de quelques tests d'évaluation de l'activité antioxydante	39
Tableau V: perte à la dessiccation et le rendement	. 46
Tableau VI : effet de l'extrait hydro-éthanolique sur les autres signes du toxidrome	54
81211C8 UU 10X1UI 0111C	.)4

INTRODUCTION

Les plantes médicinales ont gagné au fil des années un intérêt de plus en plus croissant pour le traitement de certaines pathologies humaines du fait de leuraccessibilité géographique aisée et des coûts de traitement amoindris(Salhi et al, 2010).

En Afrique particulièrement, plus de 80% de la population font essentiellement recours à la médecine traditionnelle pour leur besoin de santé primaire en raison de leurs moyens économiques limités (WHO, 2002). Par ailleurs, les plantes constituent le lot le plus important de l'arsenal thérapeutique de la médecine traditionnelle africaine (Adjanohoun et al, 1986).

En Côte d'Ivoire, pour valoriser la pharmacopée africaine et permettre une collaboration étroite entre les acteurs de la médecine traditionnelle et ceux de la médecine conventionnelle, le Ministère en charge de la santé, en 2001, a intégré dans son plan national de développement sanitaire le Programme National de Promotion de la Médecine Traditionnelle.

La valorisation de la pharmacopée africaine commence par le recensement des plantes médicinales. En Cote d'Ivoire, nombre d'entre elles, déjà utilisées traditionnellement, ont été répertoriées (Adjanohoun et Aké-Assi 1979). Parmi ces plantes médicinales, figure *Dichrostachys cinerea(L.)Wight et Arn* (Fabaceae) pour laquelle les récents travaux réalisés par Irié-Nguessan et al(2011), ont clairement établi l'effet relaxant d'un extrait brut hydro-éthanolique de l'écorce de racines sur la trachée isolée de souris, justifiant probablementl'usage traditionnel de cette drogue végétale pour traiter l'asthme. En effet, l'asthme est une affection respiratoire dont la physiopathologie est principalement caractérisée par le bronchospasme et l'inflammation chroniquedes voies aériennes. Ainsi, le bronchospasme pourrait être levé par l'écorce de racine de D. cinerea.

Outre les aspects liés aux bronchospasme, nous nous sommes interrogés sur la probabilité d'implication de *D.cinerea* dans la prise en charge du volet inflammatoire de l'asthme en relation avec une hyperactivité bronchique pouvant être induite par des agents oxydants du fait d'un état de stress oxydatif. (Zemmouriet al, 2015).

Très peu d'études expérimentales ont rapporté les propriétés anti-inflammatoires de l'écorce de racines de *D.cinerea*.

Notre étude se propose alors d'évaluer les propriétés anti-inflammatoires d'une part et anti-oxydantes d'autre part d'un extrait brut hydro-éthanolique de l'écorce de racines de *D. cinerea*, sachant que les espècesréactives de l'oxygène interviennent dans les processus inflammatoires de l'asthme. En plus de cette évaluation d'activité pharmacologique, nous nous proposons d'étudier la toxicité subchronique de cet extrait végétal dans le but, non seulement de prévoir son usage en tant qu'agent anti-inflammatoire et anti-oxydant, mais d'assurer sa sécurité d'emploi chronique.

La rédaction de ce travail s'articule autour du plan suivant : dans une première partie, nous aborderons les généralités sur l'inflammation, le stress oxydatif et la plante à l'étude. La deuxième partie consacrée à l'étude expérimentale, décrira les objectifs, le cadre et le type d'étude, puis le matériel et les méthodes utilisés. Nous y présenterons ensuite les résultats obtenus ainsi que la discussion qui en découle, et avant de formuler les perspectives d'étude, nous allons conclure.

PREMIERE PARTIE: GENERALITES

I. INFLAMMATION

I.1 Définition

L'inflammation est une réaction de défense des êtres vivants consécutiveà une lésion tissulaire ou une agression cellulaire excessive ayant plusieurs origines (**Schorderet,1992**):

- mécanique ou physique (radiations, électricité, froid, chaleur, piqure, coupure, contusion);
- chimique (acides, bases, substances minérales diverses);
- biologique ou immunologique (virus, bactéries, parasites, champignons et les antigènes.

I.2 Réactions inflammatoires

La réaction inflammatoire est la réponse normale de l'organisme à des agressions d'origine immunitaire ou non. C'est aussi une réaction du tissu conjonctif et des vaisseaux (**Touitou**,1997). Le déclenchement et le déroulement de l'inflammation sont gouvernés par des réflexes nerveux et surtout par des médiateurs chimiques endogènes(**Grufeed**,1994).

Les réactions inflammatoires se déroulent en trois (3) phases :

- la phase précoce ou phase vasculaire (**figure 1**) qui aboutit à la dilatation et la perméabilité des vaisseaux responsable de quatre phénomènes (la tétrade) : œdème, douleur, rougeur, chaleur;
- la phase secondaire ou phase cellulaire(**figure2**) qui est marquée par un afflux de polynucléaires (notamment neutrophiles) et de macrophages tissulaires aboutissant à la formation d'un granulome ;
- la phase terminale ou phase de régénérescence qui abouti à la cicatrisation.

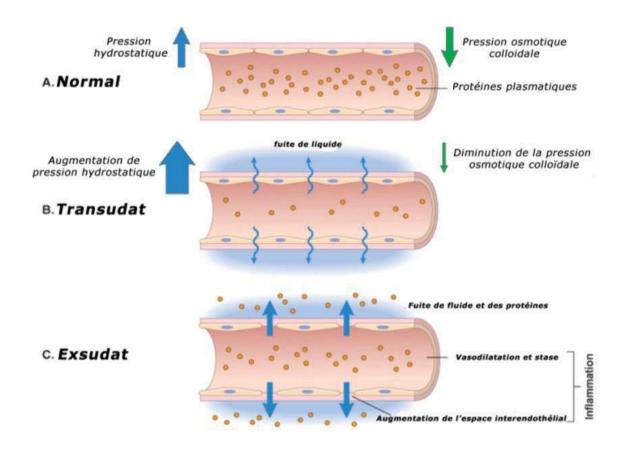


Figure 1: formation de transudat et d'exsudat(Kumar et al, 2007)

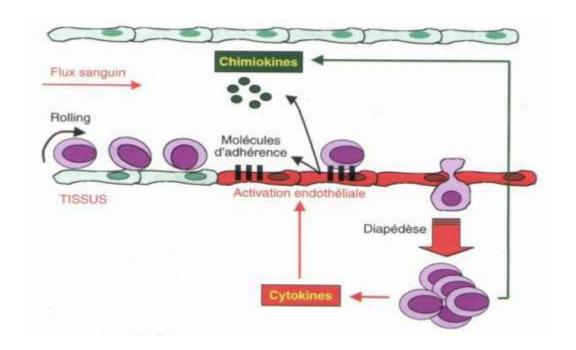


Figure 2 : migration trans-endothéliale des leucocytes (Weill et al, 2003)

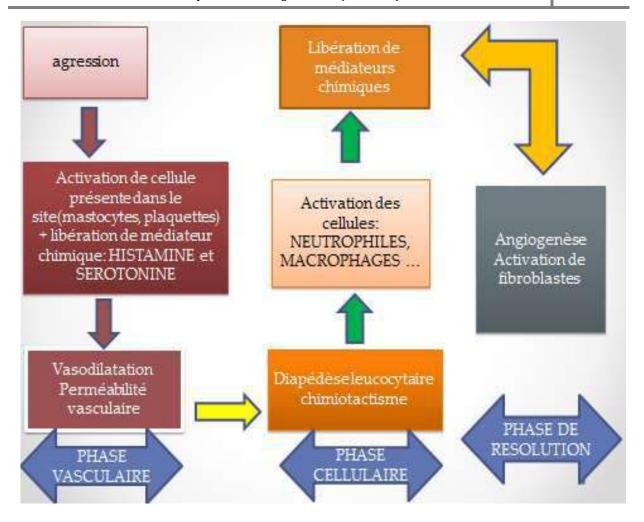


Figure 3 : processus général des différentes étapes de la réaction inflammatoire(Andonirina, 2013)

Ainsi, en réponse à une perturbation physique ou chimique, il se produit une activation de la phospholipase A2 qui hydrolyse les liaisons esters des phospholipides membranaires avec production de l'acide arachidonique. Ce dernier, à son tour, est métabolisé selon deux voies possibles : la voie de la lipoxygénase qui le transforme en leucotriènes (LTC4, D4-E4,LTB4) et la voie de la cyclo-oxygénase qui le transforme principalement en prostaglandines (PGD2, PGE1, PGF1 α), prostacyclines (PGI2) et thromboxanes A_2 (TX A_2)(**figure4**).

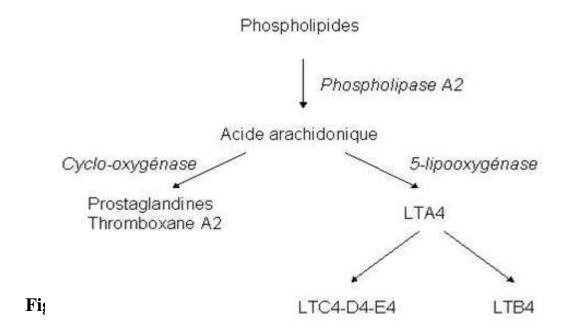


Figure 4 : mécanisme de la réaction inflammatoire

Ces médiateurs jouent différents rôles :

- les leucotriènes augmentent la perméabilité capillaire et exercent une chimio-attractivité sur les polynucléaires;
- les prostaglandines produisent une vasodilatation locale, favorisent l'œdème et l'afflux leucocytaire. En outre, elles dépriment certains mécanismes immunitaires et potentialisent les effets algogènes de la bradykinine;
- les thromboxanes stimulent les mécanismes de l'agrégation plaquettaire.

I.3 Médicaments de l'inflammation

Les anti-inflammatoires sont des médicaments capables d'atténuer ou de supprimer le processus inflammatoire. On en distingue deux grands groupes les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS), dont les cibles pharmacodynamiques sont différents (**Figure5**)

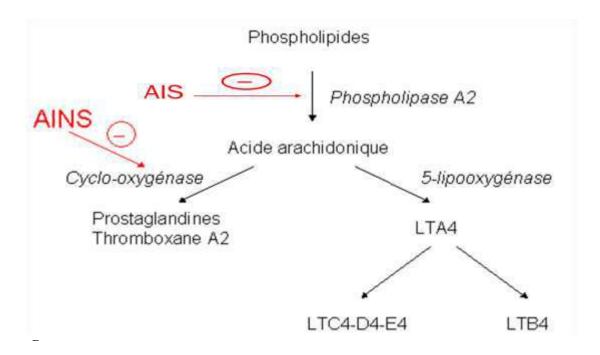


Figure 5 : sites d'actiondes médicaments de l'inflammation

I.4 Médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens(AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens constituent une classe thérapeutique de médicaments couramment utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et antalgiques. Actuellement, plus de 50 différents AINS sont sur le marché mondial (**Blain** *et al*, **2000**).

I.4.1 Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action des AINS a été précisé par les travaux de Vane en1971, et repose en grande partie sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclo-oxygénase (COX), une enzyme qui permet la production de prostaglandines, à partir de l'acide arachidonique. La production de prostaglandines participe à l'inflammation (vasodilatation, augmentation de la perméabilité capillaire), à la douleur (sensibilisation des nocicepteurs) mais contribue également, en dehors de toutes situations pathologiques, à la production basale au niveau de la muqueuse gastrique, de mucus et de

bicarbonates intervenant dans le maintien de l'hémodynamique rénale et l'homéostasie tissulaire (Nicolas et al, 2001).

Cette caractéristique commune à tous les AINS d'inhiber la COX conduit à une réduction d'importants médiateurs de l'inflammation notamment les prostaglandines (PGE2, PGI2)(**Figure6**).

La cyclo-oxygénase comporte deux (2) iso-enzymes :

- cyclo-oxygénase 1 (COX-1) : constitutive
- cyclo-oxygénase 2 (COX-2) :inductible

Certains AINS inhibent les deux (2) COX, ils sont dits classiques ou non sélectifs. D'autres inhibent sélectivement la COX-2, ils sont dits sélectifs, ce sont les coxibs.

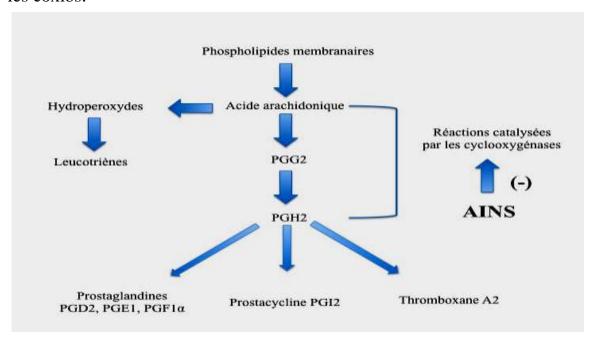


Figure 6: Mécanisme d'actions des AINS(Nicolaset al, 2001)

I.4.2 Classification

Tableau I: classification des AINS

		DCI				
FAMILLES CHIMIQUES						
		Acide acétylsalicylique				
	Salicylés	Acétylsalicylate de				
		lysine Carbosalate				
		Diflunisal				
		Ibuprofène				
Œ		Fenoprofène				
lQ	Propioniques	Naproxène				
\mathbf{SS}		Kétoprofène				
NON -SELECTIFS = CLASSIQUES		Acide tiaprofénique				
		Alminifène				
		Acide niflumique				
	Fenamates	Acide méfénamique				
	Arylacetates	Diclofénac				
		Indométacine				
	Indoliques	Sulindac				
		Etodolac				
		Piroxicam				
	Oxicams	Tenoxicam				
		Meloxicam				
	Pyrazoles	Phénylbutazone				
	Sulfonanilides	Nimésulide				
SELECTIFS = COXIBS	inhibiteurs sélectifs de la cox-2	Célécoxib				

Acide acétyl salicylique

Kétoprofène

I.4.3 Effets secondaires des AINS

Les effets secondaires des AINS dérivent soit de l'inhibition de la synthèse des Prostaglandines, soit de la déviation du métabolisme de l'acide arachidonique vers une voie autre que celle de la cyclo-oxygénase, notamment la voie de la lipo-oxygénase.

✓ inhibition de la synthèse des prostaglandines

Les conséquences sont plus ou moins importantes selon le rôle joué par ces molécules dans les tissus considérés.

- effets gastroduodénaux

Les prostaglandines de la muqueuse gastrique augmentent la production de mucus, la perfusion sanguine gastrique, et diminuent la production de radicaux libres (**Johannson** *et al*, **1980**). La conséquence de l'utilisation à long terme d'AINS est l'apparition de troubles gastro-intestinaux pouvant aller de la simple dyspepsie à la survenue d'ulcère ou d'érosions gastriques(**Bjarnason** *et al* **1993**).

- effets sur l'hémostase

L'inhibition de la synthèse des prostaglandines agit, par l'intermédiaire de la thromboxane A_2 , sur l'agrégation plaquettaire en la diminuant. Les AINS ont donc pour effet d'augmenter le temps de saignement (**Strom et al 1996**).

- effets sur le rein

Complications réno-vasculaires: œdèmes par rétention hydro sodée, oligurie par insuffisance rénale aigüe.

✓ effets secondaires liés à la déviation du métabolisme de l'acide arachidonique

La voie de la cyclooxygénase étant bloquée, le métabolisme de l'acide arachidonique est dévié vers la voie de la lipo-oxygénase, et donc vers la synthèse de leucotriènes. Ce phénomène est à l'origine de manifestations allergiques qui peuvent être importantes (crise d'asthme ou syndrome de Widal) (Kantor et al, 1988)

I.5 Médicaments anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou glucocorticoïdes

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol (glucocorticoïde surrénalien).

Les glucocorticoïdes sont des substances dérivées du cholestérol, dont la production est stimulée par l'hormone corticotrope (ACTH : Adreno Cortico Trophic Hormone) libérée, selon un cycle nycthéméral, par le lobe antérieur de l'hypophyse. Dans les tissus cibles, les glucocorticoïdes se fixent à leurs récepteurs situés dans le cytoplasme de la cellule.

I.5.1 Mécanisme d'action

Le complexe récepteur-ligand formé, pénètre dans le noyau cellulaire où il se fixe à de nombreux éléments de réponse aux glucocorticoïdes dans la région du promoteur des gènes-cibles. Le récepteur, ainsi fixé à la molécule d'ADN, interagit avec les facteurs de transcription basiques, provoquant une augmentation de l'expression génique de gènes-cibles spécifiques. Ce processus est appelé transactivation et conditionne la plupart des effets secondaires métaboliques et cardiovasculaires des glucocorticoïdes (**Figure 7**).

La transcription de l'ADN en ARN_m , permet la synthèse de protéines spécifique dont la lipocortine qui a une action inhibitrice sur la phospholipase A_2 membranaire, bloque la formation d'acide arachidonique.

Le mécanisme opposé est appelé transrépression, où le récepteur hormonal activé interagit avec des facteurs de transcription spécifiques et prévient la transcription des gènes-cibles.

Les glucocorticoïdes sont capables d'empêcher la transcription de tous les gènes immuns, incluant celui codant interleukine 2(IL-2)(Barnes, 1998).Les glucocorticoïdes ordinaires ne font pas de différence entre la transactivation et la transrépression, et influencent à la fois les gènes immuns "voulus" et ceux "non voulus "régulant les fonctions métaboliques et cardiovasculaires. Actuellement, les efforts de recherche visent à découvrir des glucocorticoïdes qui agissent sélectivement sans réprimer le système immunitaire (Henzen, 2003).

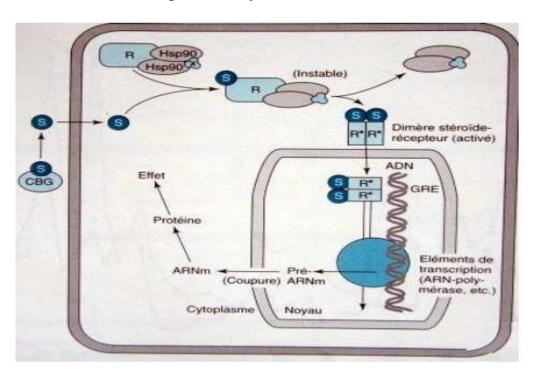


Figure7a: mécanisme d'action des glucocorticoïdes

S: substrat (glucocorticoïde) \rightarrow traversée membrane plasmique

R: récepteur

CBG: cortisol binding globulin (transcortine)

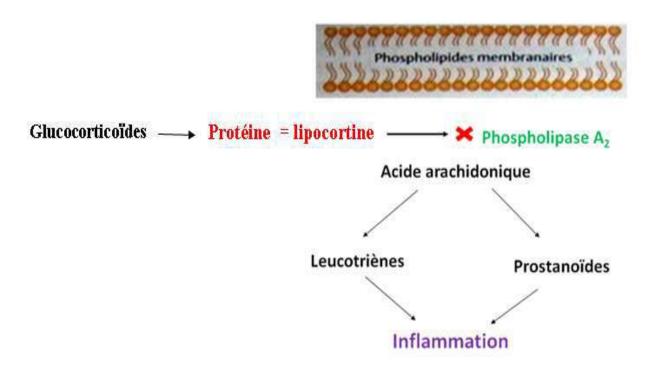


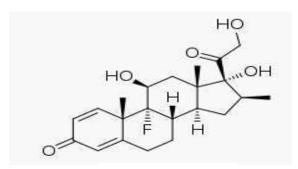
Figure 7b: mécanisme d'action des glucocorticoïdes (suite)

I.5.2 Classification

Le **Tableau II**, résume la plupart des glucocorticoïdes ainsi que leurs principaux effets secondaires

Tableau II:principales molécules des AIS et leurs effets secondaires (Henzen, 2003)

Glucocorticoïdes	Temps de demi-vie	Effets secondaires
Cortisol Cortisone Prednisone Prednisolone Methylprednisolone	Courte	Complications aigues - décompensation d'un diabète sucré préexistant - hypertension artérielle (rétention hydro sodée) - euphorie, insomnie - suppression de l'axe HHSR
Triamcinolone	Moyenne	- aménorrhée- acnéComplications chroniques
Bétaméthasone Dexaméthasone	Longue	 - ostéoporose - suppression de l'axe HHSR - prise pondérale - glaucome - immunosuppression



Bétamethasone

I.6 Anti-inflammatoires d'origine végétale

On retrouve de nombreuses plantes anti-inflammatoires inscrites à la pharmacopée. La plupart d'entre elles contiennent des composés phytochimiques qui agissent en bloquant les voies de la cyclo-oxygénase et de la lipoxygénase.

Le **tableau III**regroupe quelques exemples de plantes douées de propriétés antiinflammatoires

Tableau III : exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-Inflammatoires(Barnes,1998).

Nom scientifique	Famille	Drogue	Nom commun	Utilisation
				arthrose, migraine,
Zingiber officinale	Zingiberaceae	Rhizome	Gingembre	douleurs rhumatismales
Zingiber ojjiemare	Zingiberaceae	Milzonic	dingemore	Œdèmes, douleurs
Helleborus orientalis	Ranunculaceae	Racines	Lenten-rose	rhumatismales
				Rhinite allergique,
Urtica dioica	Urticaceae	Feuilles,	Ortie	eczéma goutte, douleurs
		Racines		rhumatismales
				Fièvre, pharyngite,
Laurocerasus	Rosaceae	Feuilles	Laurier	douleurs, d'estomac,
officinalis R.				hémorroïdes
				Douleurs rhumatismales,
6 1	7 ' 'l	Dh	6	lupus, systémique,
Curcuma longa	Zingiberaceae	Rhizome	Curcuma	psoriasis, infections rénales
				Terrales
Nerium oleander L.	Apocynaceae	Fleures	Laurier rose	Douleurs, maux de tête
Harpagophytum				Arthrose, lombalgie,
procumbens	Pédaliacées	Tubercule	Griffe du diable	neuvralgie, maux de tête,
,				fièvre
Rhododendron	Ericaceae	Feuilles	Rhododendron	Œdèmes, états grippaux,
ponticum L.			pontique	mal de dents
Juglans regia L.	Juglandaceae	Feuilles,		Douleurs rhumatismales,
		fruits	Noyer commun	fièvre, eczéma, paludisme
Oenothera biennis	Onagraceae	Graines	Onagre	Davida vona oda vona attiano el es
			bisannuelle	Douleurs rhumatismales

II. STRESS OXYDATIF

II.1 Définition

L'oxygène, élément essentiel pour les organismes multicellulaires, permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Les cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques, nommés radicaux libres organiques (Meziti, 2007).

Ces radicaux libres, avec un ou plusieurs électrons non appariés (électron célibataire) sont d'origines diverses :

Origine endogène :

- au cours du métabolisme de l'oxygène (réduction de l'oxygène en eau) dans les mitochondries;
- lors de la défense antibactérienne:
- pendant la réaction inflammatoire;
- lors de la régulation des fonctions cellulaires létales telle que la mort cellulaire programmée (l'apoptose) (Pincemail, 2002; Valko et al, 2006).
- > origine exogène : les espèces oxygénées réactives proviennent de différents agents extérieurs :
 - le rayonnement ultra violet (UV) et les radiations ionisantes;
 - l'ingestion d'alcool;
 - certains médicaments anticancéreux, certains antibiotiques(Favier,
 2003);
 - l'infection à VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine);
 - certaines particules inhalées (amiante, silice...)

Dans les conditions physiologiques, les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (espècesradicalairesou radicaux libreset les espèces non radicalaires) sont

produites en permanence et en faible quantité. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, de sorte que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre.

Dans les conditions pathologiques, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant ou stress oxydatif (Favier, 2003).



Figure 8: balance radicaux libres /antioxydants (Shimizu, 2004)

II.2 Conséquences du stress oxydatif

Les conséquences du stress oxydatif peuvent s'observer à plusieurs niveaux, car de nombreux constituants de l'organisme sont la cible des ERO.

Parmi ceux-ci nous pouvons citer : les lipides, les protéines, l'ADN.

Concernant les lipides, l'agression par les radicaux libres des doubles liaisons lipidiques membranaires, induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane, altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information (**Koechlin-Ramonatxo**, 2006).

Au niveau des protéines, les ERO sont capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction.

Les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, la cystéine et la méthionine. Les ERO sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques. L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des ERO. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN, mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales, lorsqu'elles ne sont pas "réparées", entraînent au long cours des altérations géniques (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Les conséquences biologiques du stress oxydant sont très variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmentent la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion. Les stress d'intensité moyenne facilitent l'apoptose, alors que les plus forts provoquent une nécrose et des stress violents, qui désorganisent la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates.

De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogenèse, malformation de fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppressions (Favier, 2003).

Les conséquences de toutes ces agressions et le vieillissement, concourentà l'apparition de plusieurs maladies, comme le cancer, la cataracte, la sclérose latérale amyotrophique, le syndrome de détresse respiratoire aigüe, l'œdème pulmonaire, le diabète, la maladie d'Alzheimer, les Rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

II.3 Antioxydants

Un antioxydant est une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie, et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substancesqui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (Park et al, 2001).

II.4 Mécanisme d'action

Les antioxydants peuvent agir en dismutant les ERO, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant les métaux de transition libres ou en générant du glutathion (GSH).

II.5 Classification

Les antioxydants peuvent être classés en deux groupes selon leur origine et leur nature :

✓ Les antioxydants naturels

- les antioxydants enzymatiques : la super-oxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase
- les antioxydants non enzymatiques : la vitamine C,la vitamine E, la beta-carotène, leglutathion, lesoligoéléments (cuivre, zincsélénium, manganèse, et le fer), les poly-phénols, (flavonoïdes,les acides phénoliques, les tanins,la coumarine...)

✓ Les

antioxydantssynthétiques: lebutylhydroxyanysole, lebutylhydroxytoluéne

III. DICHROSTACHYS CINEREA (FABACEAE)



Figure 9: *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight et arn. (Fabaceae)(Source : Centre National de Floristique d'Abidjan)

III.1 Description de la plante

Précédemment appelée *Dichrostachys glomerata* Keay, la place de cette espèce dans la taxonomie est la suivante :

Règne:	Végétal
Embranchement:	Spermaphytes
Sous-embranchement:	Angiosperme
Classe:	Dicotylédones
Sous-classe:	Dialypétales
Ordre:	Leguminosea

Famille : Fabaceae

Sous-famille : Mimosoideae

Tribu : Mimoseae

Genre : Dichrostachys

Espèce : cinerea

Quelques noms vernaculaires de la plante, en Cote d'Ivoire, sontnotamment : N'gbagbé Moto(Adioukrou) et gboro (Malinké).

C'est un arbuste épineux, dont les feuilles sont bipennées, avec 10 paires de pennes opposées, une glande entre chaque paire. Les feuilles comportent de nombreuses folioles linéaires, de taille variable (environ 8 mm de long, et 2,5 mm de large), etlégèrement pubescentes. Le rachis est pubescent, et on note des épines axillaires. Les inflorescences sont spiciformes à 2 couleurs(jaune et violette) de fleurs odorantes.

III.2 Répartition géographique

Il s'agit d'une espèce de savane, formant parfois des fourrés broussailleux, et répandue du Sénégal au Nigeria. En Cote d'Ivoire, elle est présente dans toutes les savanes, depuis celles de la zone pré lagunairejusqu'à celles du nord.

III.3 Usages traditionnels

En Cote d'Ivoire, les Adjoukrous (peuple du sud) utilisent l'écorce des racines triturées avec un peu d'eau et administrées en instillation nasalepour traiter l'asthme (**Adjanohounet Aké-Assi, 1979**).

Les Malinkés (peuples du nord) emploient la décoction des racines pour faire des bains de bouches dans les cas des caries dentaires. Pour cicatriser les plaies (en particulier les plaies de la circoncision), les Malinkés calcinent l'écorce de tige et les feuilles, pilent le charbon obtenu et ajoutent de l'huile de palme, ce mélange est utilisé pour des applications locales. Ce peuple soulage les

douleursintercostales en buvant et en se lavant avec la décoction de l'écorce des tiges.(Adjonohoun et Aké Assi, 1979)

III.4 Composition chimique

La littérature indique que la plante contient des tanins (Banso et al, 2007), des composés triterpéniques (Jain et al, 2003), le 3-acyl-2,3-trans-3',4',7,8-tétrahydroxyflavane-3-ol, la composante (-) épicatéchine de l'isomère du flavanol mesquitol (Jagadeeshwar et al, 2003) et des dérivés méroterpéniques (Long et al,2009). Il a été montré également la présence d'alcaloïdes et de saponosides dans l'écorce de racines (Irié,2013)

III.5 Etudes pharmacologiques

Des propriétés antibactériennes (Banso et al,2007), anti-lithiasiques, et diurétiques (Jayakumari et al, 2007), ont été mises en évidence pour cette plante. Une étude a également montré une activité biphasique (contracturante, puis relaxante), d'un extrait méthanolique d'écorce de racines de D. cinerea, sur la trachée isolé de cobaye, dénotant ainsi des propriétés tantôt spasmogènes, tantôt antispasmodiques, de cette drogue végétale (Aworset-Samseny et al,2011).Irié-N'guessan et al, (2010) ont quant à eux, montré des propriétés antispasmodiques sur la trachée de souris, favorables à un effet anti-asthmatique.

DEUXIEME PARTIE: NOTRE ETUDE

IV. OBJECTIFS

L'objectif général était de rechercher les propriétés anti-inflammatoire et antioxydante, ainsi que la toxicité subchronique de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea*.

Pour atteindre cet objectif général, nous nous sommes fixé les objectifs spécifiques suivants :

- réaliser un extrait hydro-éthanolique de l'écorce de racines de D.cinerea
- mesurer le pouvoir anti-inflammatoirel'écorce de racines de *D. cinerea*
- évaluer l'activité antioxydantel'écorce de racines de D. cinerea
- déterminer la toxicité subchronique l'écorce de racines de D. cinerea

V. CADRE ET TYPE D'ETUDE

V.1 Cadre de l'étude

Notre études'est déroulée à Abidjan(Coted'Ivoire)au sein de plusieurs unités de recherche, dont :

- l'Unité de Formation et de Recherche enSciences Pharmaceutiques et Biologiques (UFR SPB) de l'Université Félix Houphouët-Boigny précisément au laboratoire de pharmacologie.
- le laboratoire de phytochimie du centre suisse de recherche scientifique en Cote d'Ivoire sis à ADIOPODOUME (yopougon)
- le laboratoire d'hématologie et immunologie du Centre Hospitalier et Universitaire de cocody (CHU).

V.2 Type et durée de l'étude

L'étude, de typeexpérimentale, s'est déroulée sur une période de 4 mois d'Avril 2017 à Août 2017.

VI. MATERIEL ET METHODES

VI.1 Extrait végétal

VI.2 Récolte

Les racines de *Dichrostachys cinerea* ont été récoltées, le 15 avril 2017dans les buissons du sud-est de la Côte d'Ivoire, prés de Grand-Bassam. Les plantes ont été identifiées par un taxonomiste au Centre National de Floristique d'Abidjan (Cote d'Ivoire), en comparaison avec les spécimens des herbiers du Centre (*Dichrostachys cinerea* (L.) Wight & Arn Adjanohoun E. et Aké Assi L. 29, foret du Banco Cote d'Ivoire 20 mars 1972).

Les écorces ont été prélevées des racines, puis lavées à l'eau distillée, et séchées sous air conditionné (18°C) sur les paillasses du laboratoire de pharmacologie de l'UFRSPB de l'Université Félix Houphouët-Boigny, pendant deux semaines.

La différence entre les poids frais et sec de l'écorce de racines rapporté au poids frais a fourni la perte à la dessiccation.

Les écorces sèches obtenues ont été pulvérisées au laboratoire de galénique (Broyeuse Retsch type GM300), pour obtenir une poudre qui a été conservée dans des bocaux en plastiques.



Figure 10 : écorce de racines pulvérisées de Dichrostachys cinerea

VI.3 Matériels de laboratoire utilisés

- broyeuse Retsch (type GM300)
- balance de précision (OHAUS model : AX523/E)
- balance de précision (Denver instrument SI -602)
- filtre à usage unique (Dumas diamètre 400mm)
- agitateur magnétique (Ibx : instrument séries S03)
- barreaux magnétiques
- verrerie
- évaporateur rotatif : Rotavapor (Heidoph RZ 2,5)

VI.4 Méthode d'extraction

Il s'est agit d'un extrait hydro-éthanolique (50/50), obtenu par extraction douce mimant les conditions de macération traditionnelle.

✓ Solvants

- eau distillée
- éthanol à 96°

✓ Protocole d'extraction

Nous avons pesé deux fois 200g de poudre de la drogue végétale dans deux erlenmeyersde 2,5 ou 3 litres, puis ajouté 2 litres d'un mélange équivolumétrique d'éthanol à 96% et d'eau distillée dans chaque erlenmeyer. Après avoir ajouté un barreau aimanté, et couvert l'erlenmeyer avec du papier aluminium pour éviter la perte de composés photolabiles. Ensuite nous avons porté la suspension sur un agitateur magnétique à froid pendant 24 heures. Le filtrat obtenu après décantation passive et filtration (coton + papier filtre) a été évaporé sous pression réduite, à 45°C pour obtenir un extrait pulvérulent qui a été conservé dans un récipient en verre recouvert de papier parafilm et gardé au réfrigérateur entre 7-8°C.



Figure 11 : extrait de *Dichrostachyscinerea* après filtration



Figure 12 : évaporation du solvant d'extraction au rotavapor



Figure 13: extrait pulvérulent de D.cinerea

Le rapport du poids initial de la poudre d'écorces séchés au poids final de l'extrait hydro-éthanolique, après évaporation constitue le rendement d'évaporation

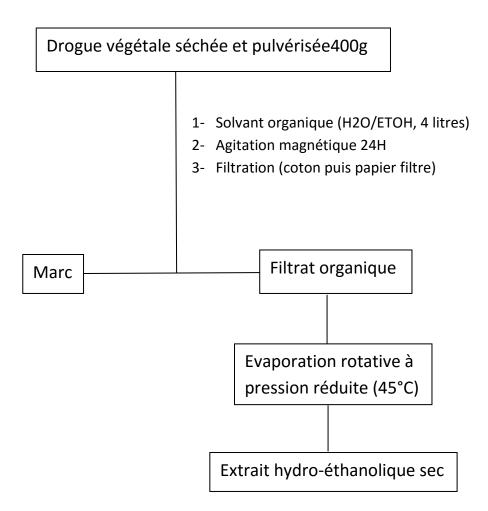


Figure 14 :schéma synoptique de l'extraction hydro-éthanolique àfroid

VI.5 Evaluation de l'activité pharmacologique

VI.5.1 Etude de l'activité anti-inflammatoire

VI.5.1.1 Matériel animal

L'étude a porté sur des rats de l'espèce *Rattusnorvegicus* de souche Wistar dont le poids était compris entre 150 et 200 grammes. Les animaux ont été mis à jeun douze heures avant l'expérimentation tout en ayant un libreaccès à l'eau.



Figure 15: rat (Rattus norvegicus)

VI.5.1.2 Réactifs utilisés

- chlorure de sodium (PHARMIVOIRE®)
- méthanal ou Formaldéhyde (SHARLAU®)
- carragénine (SIGMA-ALDRICH®)
- kétoprofène (SIGMA-ALDRICH®)
- bétamethasone (CELESTENE®, MSD)
- acide acétylsalicylique (ASPIRINE®, UPSA)

VI.5.1.3 Matériel de laboratoire

- cage de contention pour rats ;
- bac d'observation en plexiglas
- micromètre électronique

VI.5.1.4 Préparation de la solution de l'extrait hydro-éthanolique

Le mélange de 2000mg de poudre sèche de l'extrait obtenu après extractionadditionnée à 20 ml d'eau distillée, nous a permis d'obtenir 20ml d'une solution-mère concentrée à 100mg/ml.

La dilution de la solution mère au dixième (1/10)par la méthode de la double dilution en progression géométrique a permis d'obtenir 2 solutions filles à 10 et 1 mg/ml de notre extrait végétal, constituant ainsi la gamme de concentrations.

VI.5.2 Méthodologie

VI.5.2.1 Test d'irritation de la patte du rat induit par leformaldéhyde

• Principe

Il est basé sur l'œdème induit par le formaldéhyde selon la méthode de (Dubuissonet al, 1977) et modifiée par (Tjölsenet al, 1992).

L'injection d'une substance étrangère de référence, le formaldéhyde, sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure d'un rat entraine l'apparition d'un syndrome inflammatoire douloureux à deux (2) phases :

- une phase neurogène allant de 0 à 5 min après l'application du stimulus avec une période intermédiaire de 10 min. Cette phase correspond à une stimulation centrale de la douleur.
- une phase inflammatoire allant de 15 min à 30 min après l'application du stimulus.

L'administration préventive d'une substance anti-inflammatoire inhibe de façon significative la deuxième phase (les opioïdes inhibent les deux (2) phases).

Il s'agit donc d'un test d'orientation.

• Constitution des lots

Les rats sont repartis en sept (7) lots homogènes en poids de six rats comme suit :

Lot 1 : constitué d'animaux ayant reçu l'extrait à 10 mg/kg pc

Lot 2: constitué d'animaux ayant reçu a reçu l'extrait à 100 mg/kg pc

Lot 3 : constitué d'animaux ayant reçua reçu l'extrait à 1000 mg/kg pc

Lot4 : constitué d'animaux ayant reçu uniquement l'eau distillée à 1ml/100g (solvant de l'extrait)

Lot 5:lot de référence ayant reçulekétoprofène à 10 mg/kg pc.

Lot6:lot de référence ayant reçu la bétaméthasone à 4 mg/kg pc.

Lot 7 : lot de référence ayant reçu l'acide acétylsalicylique à 100 mg/kgpc

• Mode opératoire

La mise en œuvredu test à consister à :

- préparer une solution à 2,5% de formaldéhyde dans une solution physiologique de NaCl 0,9%
- placer le rat avant l'expérimentation dans une cage transparente en plexiglas (20cm x 20cm x 30cm) pendant 30 min afin qu'il se familiarise à l'environnement. La cage est munie sur trois côtés d'un miroir incliné de 45° par rapport au sol, ce qui permet de bien observer le comportement nociceptif des rats (**figure16**).
- injecter 50µl de formaldéhyde dans l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche du rat 30 minutes après gavage par la substance appropriée selon le lot(**figure 17**).
- placer le rat dans la cage d'observation
- compter pendant les 5 premières minutes (première phase)la durée de léchage de la patte (le temps que le rat passe à lécher sa patte, (figure 19).
- compter la durée de léchage (deuxième phase) de la patte en trois temps de 5 minutes (1^{ère} tranche: 15^{ème}à la 20^{ème}minutes, 2^{ème} tranche: 20^{ème} à la 25^{ème}minutes et 3^{ème} tranche: 25^{ème}à la 30^{ème}minutes).

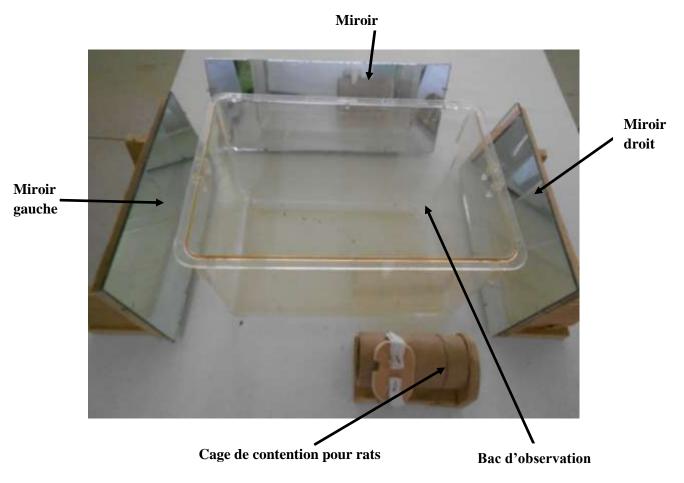
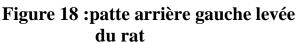


Figure 16: cage d'observation munie de trois miroirs (arrière, gauche et droit)



Figure 17: injection intra plantaire dans la patte gauche du rat





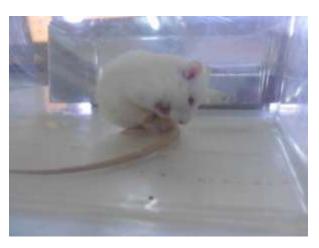


Figure 19 : léchage de la patte arrière gauche

VI.5.2.2 Test de l'œdème induit par la carragénine

• Principe:

Il est basé sur l'œdème induit par la carragénine selon la méthode de Winter et Porter(1962). L'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure d'un rat entraîne l'apparition d'un œdème dans la région métatarsienne. L'intensité de cet œdème peut être évaluée par l'augmentation du volume de la patte en pourcentage par rapport au volume initial. L'administration préventive d'un produit anti-inflammatoire réduit de façon significative le développement de l'œdème.

C'est un test spécifique de l'exploration de l'activité anti-inflammatoire.

• Constitution des lots

Les rats sont répartis en sept (7) lots homogènes en poids de six (6) rats :

Lot 1 : constitué d'animaux ayant reçu l'extrait à 10 mg/kg pc

Lot 2 : constitué d'animaux ayant reçu l'extrait à 100 mg/kg pc

Lot 3 : constitué d'animaux ayant reçu l'extrait à 1000 mg/kg pc

Lot4 : constitué d'animaux ayant reçu uniquement l'eau distillée à 1ml/100g (solvant de l'extrait)

Lot 5 : lot de référence ayant reçu le kétoprofène à 10 mg/kg pc.

Lot6 : lot de référence ayant reçu la bétamethasone à 4 mg/kg pc.

Lot 7 : lot de référence ayant reçu l'acide acétylsalicylique à 100 mg/kg pc

Mode opératoire

La mise en œuvre du test a consisté à :

- préparer une solution à 1% de carragénine dans de l'eau distillée
- mesurer pour chaque rat la circonférence de la patte arrière gauche avant l'injection de la carragénine
- administrer les différentes substances par gavage à raison de 1 ml pour100 g de poids corporel
- provoquer l'œdème en injectant à chaque rat, trente minutes après le gavage,50 μl de la solution de carragénine à 1% sous le coussinet plantaire de la patte arrière gauche, les animaux sont ensuite remis dans leur cage (**figure 20 et 21**).
- Mesurer l'évolution de l'œdème 1 heure, 2 heures et 3 heures après l'injection de la carragénine à l'aide d'un micromètre digital à affichage électronique (pied à coulisse) (figure 22) (Gentili et al,1997).
- calculer le pourcentage d'inhibition de l'œdème(**Nongoniermar et** *al*, **2006**)selon la formule suivante :

% inhibition = [(volume moyen lot témoin- volume moyen lot essai)/ volume moyen lot témoin] ×100.



Figure 20 : injection sous-plantaire dans la patte arrière gauche de rat



Figure 21: œdème de la patte postérieure gauche derat



Figure 22: micromètre numérique (pied à coulisse)

VI.5.3 Etude de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodessont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de plantes. Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydant peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise (**Popoviciet** al,2009).

Le plus souvent, il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester (**Popoviciet** al, 2009).La plupart de ces méthodes sont colorimétriques.

Dans notreétude, nous avons utilisé trois différents tests à savoir :

- Le test DPPH (2,2 diphényl1-1-picryl-hydrazyl) qui mesure l'effet (piégeur) d'un antioxydant à inhiber le radical DPPH•.
- Le test ABTS qui mesure l'activité d'un antioxydant à inhiber le radical ABTS•+
- le test FRAP (Feric Reducing Antioxydant Power assay) qui apprécie la capacité anti-oxydante totale par le pouvoir de réduction des ions ferriques;

Les caractéristiques de ces tests sont résumées dans le tableau IV.

TableauIV : principales caractéristiques de quelques tests d'évaluation de l'activitéantioxydante

Tests Caractéristiques	DPPH	ABTS	FRAP
Mécanismes réactionnels	-transfert d'électron majoritaire	-transfert d'électron et de proton	-transfert d'électron
Nature des molécules testées	-hydrophiles et lipophiles	-hydrophiles et lipophiles	-hydrophiles
Expression des résultats	-CI 50 et /ou en mg μmol équivalent Trolox®	-CI 50 et /ou μmol équivalent Trolox®	-en mg μmol équivalent Fe ⁺²
Avantages	très facile à mettre en œuvrepeu couteux	 très facile à mettre en œuvre cinétique de la réaction très rapide peu couteux 	très faciles à mettre en œuvrepeu couteux
Inconvénients	-encombrement stérique de molécules à haut poids moléculaires -interférences possible à 515 nm -forte décondense au pH et au solvant -radical inexistant <i>in vivo</i>	-produit de dégradation antioxydant -radical inexistant <i>in vivo</i>	-ph utilisé non physiologique - interférences possibles à 595nm
Références	(Brand-William <i>et al.</i> , 1995 Pinelo <i>et al.</i> ,2004)	(Awika <i>et al.</i> , 2003; Arts <i>et al</i> , 2004; Osman <i>et al</i> , 2006)	(Benzie et Strain,1996 ;Ou <i>et al</i> ,2002)

Matériel

- tubes Eppendorf
- tubes à hémolyse
- portoirs
- micropipettes
- spectrophotomètre UV-visible

Réactifs

- solvant DMSO (diméthylsulfoxyde)
- acétate de sodium (C₂H₃NaO₂)
- chlorure de fer (FeCl₃)
- acide chlorhydrique (HCl)
- persulfate de potassium $(K_2S_2O_8)$
- solution de TPTZ (2,2,6-tri(2-pyridyl)-S-triazine
- solution de DPPH (2,2-diphényl-2-picrylhydrazyl)
- solution de ABTS(2,2'-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

VI.5.3.1 Description des méthodes

• ProtocoleFRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

La capacité de réduction des composés a été mesurée suivant la méthode de (Thaipong et al, 2006)

Nous avons utilisé une solution fraichement préparée de FRAP composée de:

- 25 ml d'acétate de sodium 30mM (pH 3.6),
- 2,5 ml de solution de TPTZ à 10mM dans une solution de Hcl à 40mM
- 2,5 ml d'une solution de chlorure de fer à 20mM.

Le mélange à été incubé à 37°C durant la manipulation, puis nous avons :

- prélever 40 mg de l'extrait hydro- éthanolique dans un tube Eppendorf;
- Ajouté1ml de DMSO au contenu du tube Eppendorf. (solution 1 à 40 mg/ml);

- placé une série de 10 tubes à hémolyse sur un portoir;
- prélevé 200 μl de la solution 1 que nous avons mis dans le premier tube à hémolyse;
- prélevé 100 μl d'une solution de DMSO que nous avons mis dans les neuf autres tubes à hémolyse ;
- prélevé 100 μl du contenu du premier tube Eppendorf pour la mettre dans le deuxième tube à hémolyse, et ainsi de suite afin de réaliser une série de dilution au 1/10 jusqu'au tube 10
- 3 ml de réactif de FRAPmélangéà 100 μl d'échantillon à différentes concentrations et 300 μl d'eau distillée. Les tubes été incubés à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance a été lue à 593 nm.

• Protocole DPPH(Thaipong et al, 2006)

Nous avons préparé une solution méthanoïque de DPPH à 0,4 mM,ensuite nous avons :

- prélevé 40 mg du composé à doser dans un tube Eppendorf.
- ajouté 1ml de DMSO au contenu du tube Eppendorf (solution 1 à 40 mg/ml)
- placé une série de 10 tubes à hémolyse ;
- prélevé 200 μl de la solution 1 pour la mettre dans le premier tube à hémolyse ;
- prélevé 100 μl d'une solution de DMSO que nous avons la mettre dans les neuf autres tubes à hémolyse ;
- prélevé 100μl du premier tube Eppendorf qu'on a mis dans le deuxième tube et ainsi de suite afin de réaliser une série de dilution au 1/10 jusqu'au tube 10;
- mélangé 3 ml de réactif de DPPH à 100 μl d'échantillon à différente concentrations et 300 μl d'eau distillée. Les tubes ont été incubés à 30°C à l'obscurité pendant 30 min.

- l'absorbance est lue à 517 nm

• Protocole ABTS(Thaipong et al, 2006)

Nous avons produit le radical ABTS•+ en mélangeant une solution de ABTS 7 mM à une solution de persulfate de potassium 2.6 mM. Le mélange a été conservé à l'obscurité à la température ambiante toute une nuit. Le ratio du mélange était 1:1 (v/v).

Ensuite nous avons mélangé1 ml de la solution fraichement préparée avec 60 ml de méthanol pour avoir une solution dont la DO était comprise entre 1 et 1.5 à 734 nm.

Une solution fraiche a été préparée pour chaque essai, puis nous avons :

- prélevé 40 mg du composé à doser dans un tube Eppendorf.
- ajouté 1ml de DMSO au contenu du tube Eppendorf (solution 1 à 40 mg/ml)
- placé une série de 10 tubes à hémolyse sur un portoir ;
- prélevé 200 μl de la solution 1 pour la mettre dans le premier tube à hémolyse ;
- prélevé 100 μl d'une solution de DMSO que nous avons la mettre dans les neuf autres tubes à hémolyse ;
- prélevé 100µl du premier tube Eppendorf qu'on a mis dans le deuxième tube et ainsi de suite afin de réaliser une série de dilution au 1/10 jusqu'au tube 10;
- mélangé 3 ml de réactif de FRAP à 100 μl d'échantillon à différente concentrations et 300 μl d'eau distillée. Les tubes ont été incubés à l'obscurité pendant 120 min.
- l'absorbance a été lue à 734 nm.

VI.5.4 Etude de la toxicité subaigüe

L'étude de la toxicité subaigüe par voie orale s'est faite conformément aux lignes directrices de l'OCDE 407 (OCDE2008).La méthode est basée sur l'administration orale répétée de la substance étudiée pendant une période limitée (un niveau de dose quotidiennement pendant 28 jours).

Cette Ligne directrice recommande l'utilisation d'au moins 10 rongeurs (de préférence des rats : 5 femelles et 5 mâles) pour chaque dose évaluées. Le composé d'essai est administré par gavage ou via la nourriture ou la boisson. Un essai limite peut être effectué si on n'attend pas d'effet à une dosede1000 mg/kg/pc/j. La présentation des résultats inclus les signes d'observations cliniques et fonctionnelles, des mesures de poids corporel et de consommation de nourriture/d'eau, des données d'hématologie et de biochimie clinique, ainsi que d'autopsie générale et d'histopathologie.

VI.5.4.1 Animaux utilisés

Notre étudea été effectuée sur des rats de l'espèce *Rattusnorvegicus* de souche Wistar dont le poids était compris entre 150 et 200 grammes. Les animaux ont été mis à jeun douze heures avant l'expérimentation tout en recevant l'eau en libre accès.

VI.5.4.2 Principe de l'essai

L'étude consiste à observer les animaux sur une période relativement longue (28 jours), et rechercher, après l'administration de différentes doses répétées de l'extrait (10mg/kg, 100mg/kg, 1000mg/kg pc), des signes cliniques et/ou biologiques d'intoxication. Les animaux qui meurent ou qui sont euthanasiés au cours de l'essai sont autopsiés et, au terme de l'essai, les animaux survivants sont également euthanasiés et autopsiés.

VI.5.4.3 Mode opératoire

Dans le cadre de cette étude, 40 rats Wistar de sexe mâle et femelle ont servi d'animaux d'expérience. Les animaux ont été repartis en 4 lots de 10 animaux chacun (5 femelles et 5 mâles).

- lot 1 : constitué de rats ayant reçu de l'eau distillée sous un volume de 1ml/100g de PC.
- lot 2 : constitué de ratsayant reçu l'extrait à la dose 10mg/kg de PC.
- lot 3 : constitué de rats ayant reçu l'extrait à la dose100 mg/kg de PC.
- lot 4 : constitué de rats ayant reçu l'extrait à la dose1000 mg/kg de PC.

Les bilans sanguins hématologiques (taux d'hémoglobine, taux de globules rouges, taux de globules blancs, nombres de plaquettes) ont été effectués le premier jour avant toute administration de substance à J0, puis au cours de l'étude à J10, J20 et J29.

Par ailleurs, chaque jour le poids et la température ont été relevés, d'autres paramètres du toxidrome ont été recherchés (apathie, excitation, trouble de la respiration, toilettage excessif, refus de nourriture, refus de boisson, saignement buccal, saignement nasal, douleurs abdominales, coma, diarrhée, tremblements, convulsions, décès).

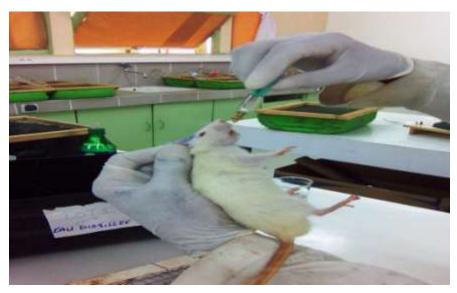


Figure 23: rat recevant de l'eau distillée par gavage

VII. STATISTIQUES

Les données ont été traitées sur le logiciel Graph Pad Prism (version 7.0). La comparaison des différents pourcentages d'inhibition a été faite par l'analyse des variances (ANOVA) et le test de Dunnett's au risque α égal à0.05.

VIII. RESULTATS

VIII.1 Rendement

Les résultats du calcul de la perte àla dessiccation et du rendement d'extraction sont consignés dans le **tableau V**

Tableau V:perte à la dessiccation et le rendement

Poid	s initial (g)	Poids final (g)	Rendement (%)	
Ecorce	6178	2853	53,82	
Extrait	400	25,47	6,36	

VIII.2 Etude de l'activité anti-inflammatoire

VIII.2.1 Test au formaldéhyde

Les figures 24 et 25 représentent les effets de l'extrait hydro-éthanolique de *D.cinerea* sur le temps de léchage de la patte irritée par l'injection intra plantaire de formaldéhyde aux rats 35 minutes et 1 heure après administration des substances.

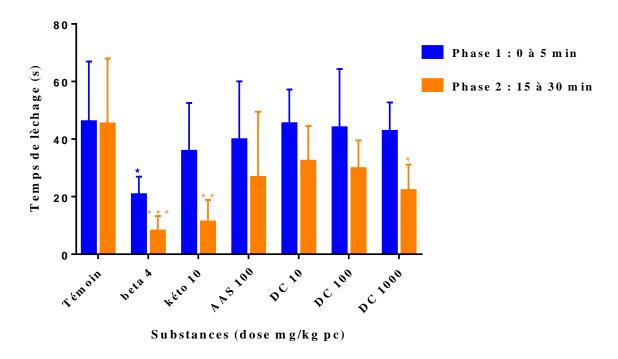


Figure 24: Evolution du temps de léchage de la patte irritée

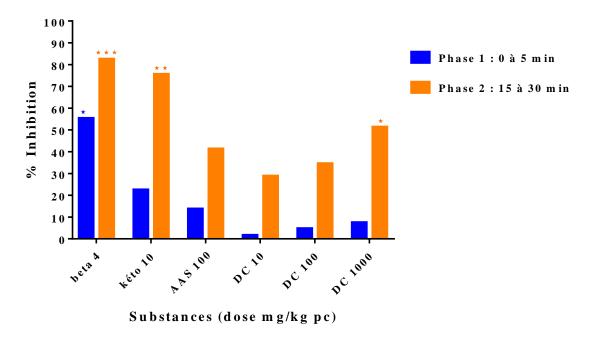


Figure 25 : pourcentages d'inhibition du temps de léchage de la patte

Par rapport au témoin blanc, la bétamethasone a réduit faiblement le temps de léchage (20,55s \pm 6,37) à la phase 1 de l'irritation de la patte du rat. Elle a fortement réduit ce temps à la phase 2(7,95s \pm 7,30).

Le kétoprofène a réduit moyennement le temps de léchage à la phase 2 (11,1s \pm 7,670). Les différentes doses de l'extrait de la plante, à l'instar de l'aspirine n'ont réduit le temps de léchage à aucune phase, à l'exception de la plus forte concentration testée (1000 mg/kg pc) qui a faiblement réduit le temps de Léchage à la phase 2 (22,03s \pm 9,05) (**Figure 24**).

35min après l'administration des substances, (phase 1:0-5min) seule la bétamethasone a inhibé le temps de léchage à hauteur de 55,26% à la première phase.

Une heure après l'administration des substances, (phase 2:15-30min) l'inhibition développée par la bétamethasone se situe à 82,41%, suivi du kétoprofène 100mg/kg PC à hauteur de 75,44% et de l'extrait de DC à 1000mg/kg PC à 51,25% (**Figure25**).

VIII.2.2 Test à la carragénine

Les figures 26 et 27 représentent les effets de l'extrait hydro-éthanolique de *D. cinerea* sur l'œdème provoqué par l'injection intra- plantaire de la carragénine aux rats, 1, 2 et 3heures après administration des produits.

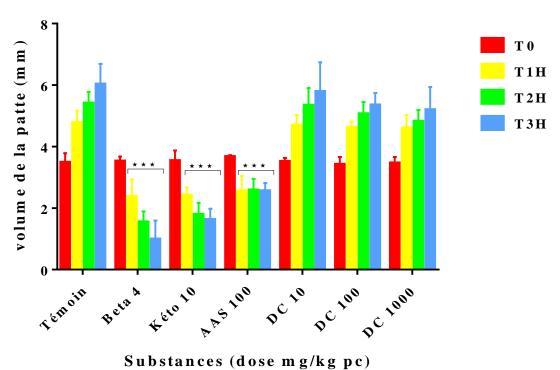


Figure 26 : évolution de l'épaisseur de la patte irritée

Par rapport au témoin blanc, Au boutde 3 heures d'observation après l'administration des substances, seules les anti-inflammatoires de référence ont réduit dans le temps l'œdème induit par l'injection intra- plantaire.

L'évolution du volume de la patte du rat sous bétaméthasoneétait de 2,36mm \pm 0,55 à T1H, puis 1,54mm \pm 0,54 à T2H et 0,98mm \pm 0,61 à T3H.

Concernant le kétoprofène le volume est passé de 2,41mm \pm 0,25 à T1H, puis 1,78mm \pm 0,38 à T2H et 1,61mm \pm 0,36 à T3H.

Pour l'AAS le volume est passé de 4,68mm \pm 0,33 à T1H, puis 5,33mm \pm 0,57 à T2H et 5,78mm \pm 0,96 à T3H.

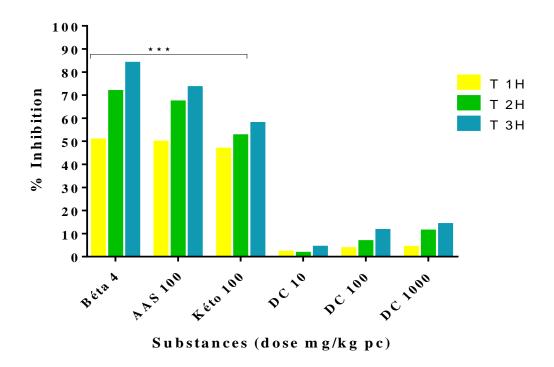


Figure 27 : Pourcentage d'inhibition des substances sur l'œdème induit par l'administration de la carragénine

Trois (3) heures après l'administration des substances de référence, labétamethasone, l'aspirine, le kétoprofène ont inhibé l'œdème provoqué par l'injection de la carragénine à hauteur de 82%, 75% et 60% respectivement. L'extraithydroéthanolique de *Dichrostachys cinerea* n'a eu aucun effet significatif sur l'apparition de l'œdème (inhibition de 5-12%).

VIII.3 Etude de l'activité antioxydante

La figure 28 représente les effets de l'extrait hydro-éthanolique de Dichrostachys cinereasur les espèces radicalaires DPPH• et ABTS•+.

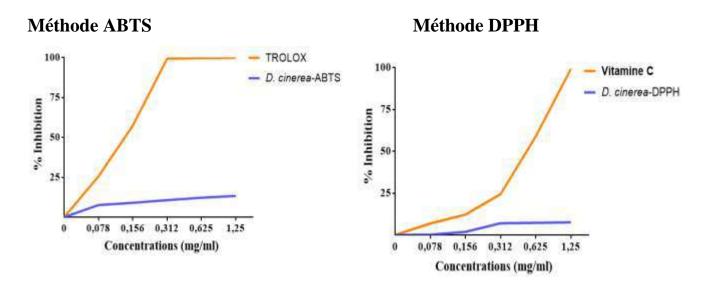


Figure 28 :effet de l'extrait hydro-éthanolique de D.cinerea sur les espèces radicalaires DPPH• et ABTS•⁺

Le pouvoir maximum anti- radicalaire par la méthode ABTS du Trolox (98%), était largement supérieur à celui de l'extrait qui avoisinait 13,64%. Le même constat a été observé par la méthode DPPH avec 7,61% pour l'extrait contre 97,81% pourla vitamine C.

La figure 29 représente le pouvoir de réductionpar l'extrait hydro-éthanolique de *Dichrostachys cinerea* selon la méthode FRAP

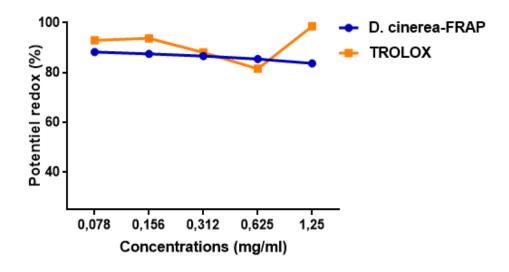


Figure 29 : pouvoir de réduction du Fe²⁺ en Fe³⁺ par D. cinerea

T

Aux très faibles concentrations, le pouvoir réducteur de l'extrait de *D. cinerea* est comparable à celui du Trolox et se situent à plus de 85% (**Figure 29**)

VIII.4 Etude de la toxicité subaigue

✓ Effets de l'extrait hydro-éthanolique de l'écorce de racines de Dichrostachys cinerea sur le poids

La **figure 30** présente l'évolution du poids des animaux durant la période de 28 jours d'observation.

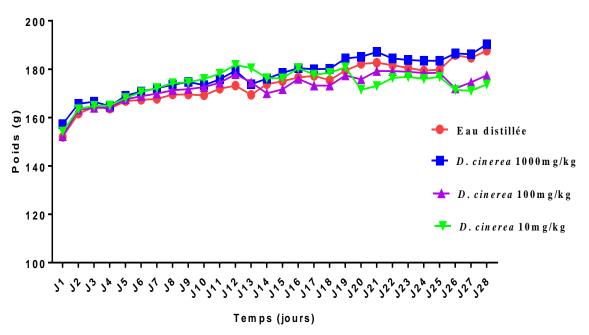


Figure 30:évolution du poids corporel des rats en fonction du temps

Nous avons noté une augmentation, toutefois non significative, du poids des animaux traités avec l'extrait végétal comparativement au lot témoin.

✓ Effets de l'extrait hydro-éthanolique de l'écorce de racines de Dichrostachys cinerea sur la température corporelle

La **figure 31**décrit l'évolution de la température corporelle des rats après administration de l'extrait hydro-éthanolique de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* durant 28 jours.

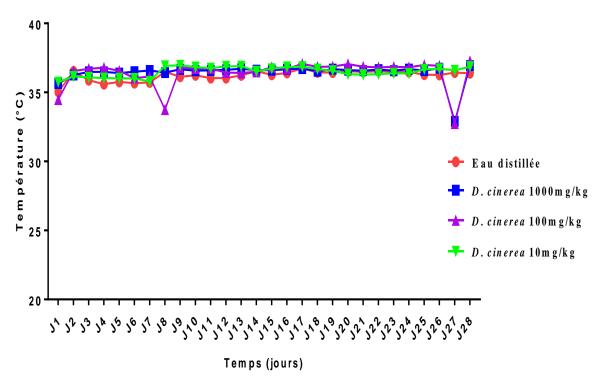


Figure 31 : évolution de la température corporelle la température en fonction du temps

L'administration de l'extrait hydro-éthanolique del'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea*, n'a pas modifié la température chez les rats. Dans les différents lots qui ont reçu l'extrait, aucune différence significative n'a été constatée comparativement au lot témoin.

✓ Effets de l'extrait hydro-éthanolique de l'écorce de racines de Dichrostachys cinera sur les autres signes du toxidrome

L'administration de l''extrait hydro-éthanoliquen'a occasionné aucune anomaliedes paramètres du toxidrome. Les résultats obtenus sont consignés dans le **tableau VI**.

TableauVI: Résultat des observations

Signes	Observations
Apathie	Absent
Excitation	Absent
Trouble de la respiration	Absent
Toilettage excessif	Absent
Refus de nourriture	Absent
Saignement buccal	Absent
Douleur abdominale	Absent
Coma	Absent
Diarrhée	Absent
Tremblement	Absent
Convulsion	Absent
Décès	Absent

✓ Effets de l'extrait hydro-éthanolique des écorces de *Dichrostachys* cinerea sur les paramètres hématologiques

La **figure 32**décrit l'évolution du nombre de leucocytes pendant 28 jours après l'administration de l'extrait hydro-éthanolique del'écorces de racines de *Dichrostachys cinerea*.

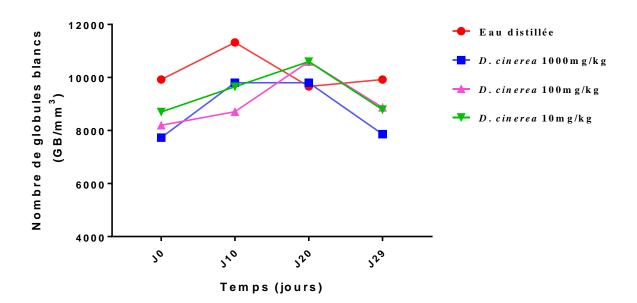


Figure 32 :évolution du nombre de leucocytes en fonction du temps

L'administration de l'extrait de *D.cinerea* aux différentes doses, n'a pas influencée le nombre de globule blancs par rapport au témoin.

La **figure 33**décrit l'évolution du nombre de globules rouges pendant 28 jours d'administration de l'extrait hydro-éthanolique del'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea*.

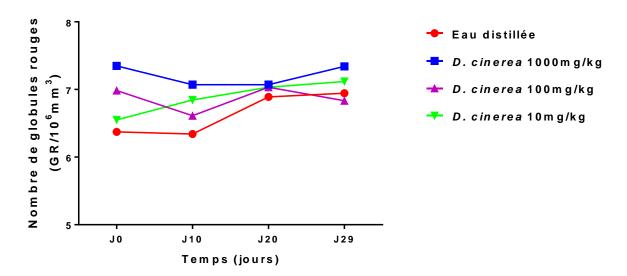
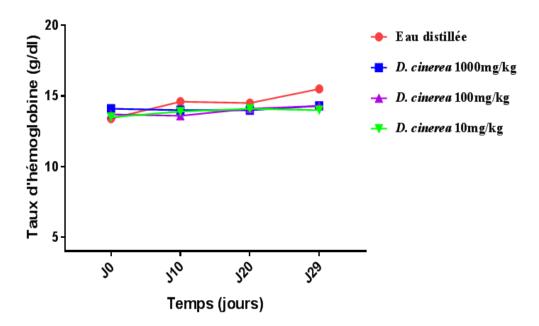


Figure 33 :évolution du nombre de globules rouges en fonction du temps

L'administration de l'extrait (10 mg/kg, 100 mg/kg, 1000 mg/kg PC) a occasionné durant la première quinzaine d'observation une augmentation non significative du nombre de globules rouges. Cette hausse s'est normalisée dans la dernière semaine d'observation comparativement au lot témoin.

La **figure 34**décrit l'évolution du taux d'hémoglobine pendant 28 jours d'administration de l'extrait hydro-éthanolique de l'écorce de racines *de Dichrostachys cinerea*.



L'évolution du taux d'hémoglobine chez les rats traité par l'extrait de D. cinerea

Figure 34 : évolution du taux d'hémoglobine en fonction du temps et ceux non traités était similaire : nous n'avons pas notéde différence significative.

La **figure 35** décrit l'évolution du nombre de plaquettes pendant 28 jours d'administration de l'extrait hydro-éthanolique del'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea*.

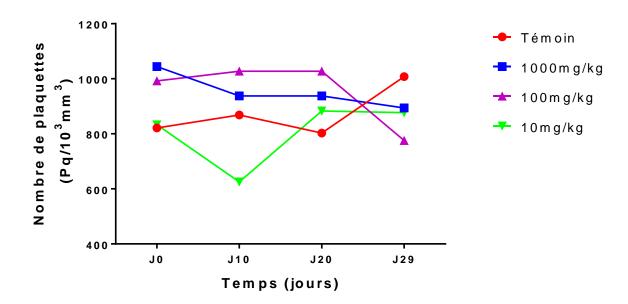


Figure 35 : évolution du nombre de plaquettes en fonction du temps

L'administration de l'extrait à la dose de 10 mg/kg pc a occasionné durant les dix premiers jours une diminution non significative du nombre de plaquettes. Cette baisse s'est normalisée dès la deuxième semaine d'observation, comparativement au lot témoin.

IX. DISCUSSION

L'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* est utilisée traditionnellement en Côte d'Ivoire pour traiter l'asthme. Dans une étude réalisée par **Irié-N'guessan etal (2011)** il a été démontré l'effet antispasmodique de l'extrait brut hydroéthanolique de *D.cinerea* sur la trachée isolée de souris. L'asthme comportant un volet inflammatoire, nous nous sommes intéressés à l'effet anti-inflammatoire que pourrait avoir les écorces de *D.cinerea* lors du traitement de l'asthme.

Cette étude a connu des limites, notamment :

- le kétoprofène a été le seul produit de référence utilisé à l'état pur. La bétamethasone et l'aspirine ont été achetés dans le commerce, les excipients ont donc pu influencer l'effet anti-inflammatoire escompté de ces produits.
- l'exploration spécifique de l'activité anti-inflammatoire n'a pu être faite par le pléthysmomètre qui fourni des résultats plus fiables que le micromètre à affichage électronique.

Toutefois, nous avons obtenu des données reproductibles qui nous permettent de faire l'analyse qui suit.

IX.1 Activité anti-inflammatoire

✓ Test au formaldéhyde

Le texte au formaldéhyde est un modèle expérimental couramment utilisé pour provoquer un syndrome inflammatoire douloureux cliniquement observable. Au cours de ce test on distingueune phase précoce (0 à 5min) et une phase tardive (10 à 15min).

La première phase est liée à une stimulation chimique directe des terminaisons nerveuses libres (nocicepteurs) avec libération de médiateurs de la douleur comme la substance P et la bradykinine dont les effets peuvent être antagonisés par les substances qui agissent comme les opioïdes (**Tjölsen 1992**). Notre extrait durant cette première phase, n'a développé aucune capacité à inhiber la phase précoce, nous amenant à déduire qu'elle est dénuée d'effets analgésique de type morphinique.

Durant la deuxième phase, des phénomènes inflammatoires (œdème, chaleur, douleur) s'observent et s'accompagnent aussi de la libération de la bradykinine et d'autres médiateurs comme l'histamine, les amines sympathomimétiques, le facteur de nécrose tumorale, les interleukines et les prostaglandines (Hong 1996, Jourdan 1997, Hama 2001, Le Bars 2001, Parada 2001).

Les effets de ces substances, particulièrement les prostaglandines, à l'origine de l'inflammation peuvent être bloqués par les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

L'extrait à la dose de 1000mg/kg pc s'est révélé faiblement efficace contre cette phase tardive comparativement à la bétamethasone 4 mg/kg pc et le kétoprofène 10 mg/kg pc. La bétamethasone est un AIS qui a fortement inhibé cette phase et le kétoprofène,un AINS l'a moyennement inhibée.

Le test au formaldéhyde est un test non spécifique car les substances douées de propriétés analgésiques ou anti-inflammatoires peuventinhiberla phase tardive. Ainsi la faible activité de l'extrait végétal à sa plus forte dose testée, notamment à la deuxième phase, peut suggérer un potentiel analgésique non morphinique ou anti-inflammatoire.

Aux fin de préciser l'activité de l'extrait, nous avons mis en œuvre le test de l'œdème induit par la carragénine qui lui est plus spécifique des substances douées de propriétés anti-inflammatoires.

✓ Test à la carragénine

L'injection de la carragénine dans le coussinet plantaire chez le rat provoque un processus inflammatoire accompagné d'un œdème évoluant en deux (2) phases. Au cours de la première phase c'est-à-dire durant la première heure, on assiste à la synthèse et libération de médiateurs chimiques tels que l'histamine et la sérotonine qui entretiennent l'inflammation (**Di Rosa, 1972**). Après une heure jusqu'à 3 heures, l'inflammation atteint son maximumet est corrélée à la formation de prostaglandines et de leucotriènes due à l'activation des cyclo-oxygénase et lipoxygénase (**Di Rosa, 1972**)

Au cours de cette deuxième période, les phénomènes inflammatoires peuvent être antagonisés par les anti-inflammatoires naturels, les anti-inflammatoires stéroïdiens tels que bétamethasone (**Della loggia et al, 1968**; **Alcaraz et Jimenez, 1988**), et les anti-inflammatoires non stéroïdiens tels que le kétoprofène, (**hunskaar, 1987**).

L'effet inhibiteur de l'extrait hydro-éthanolique de *D.cinerea* sur l'œdème induit par la carragénine avoisinait, aux temps 1 heure, 2 heures et 3 heures, seulement (1,84%; 1,35%; 3,98%) pour la dose de 10 mg/kg pc; (3,34%; 6,44%; 11,24%) pour la dose de 100mg/kg pc et (3,94%; 10,98%; 13,81%) pour la dose de 1000 mg/kg pc respectivement.

A l'opposé, les substances anti-inflammatoires de référence ont significativement inhibé l'œdème induit par la carragénine à hauteur de 50,45%; 71,46%; 83,69% pour la bétamethasone 4 mg/kg pc, 49,51%; 66,96%; 73,17% pour le kétoprofène 10mg/kg pc et (46,54%; 52,31%; 57,61%) pour l'aspirine 100 mg/kg pc aux temps 1 h, 2h, et 3h respectivement.

L'extrait végétal indépendamment de sa dose, n'a exercé aucune inhibition significative de l'apparition de l'œdème.

L'extrait de l'écorce de racines de *D.cinerea* serait alors dénué d'effet antiinflammatoire.

Nos résultats diffèrent de ceux d'Hassanet al en (2012) qui, par le même test à la carragénine, ont révélé que les feuilles de *D.cinerea* avaient une activité anti-inflammatoire. Cette propriété serait due à la forte teneur en métabolites secondaires (les saponosides) des extraits de feuilles de *D.cinerea* connu dans la littérature comme de puissants inhibiteurs des prostaglandines (Chattopadhyay et al, 2004, Arula et al,2005; Araico et al,2007).

Cependant, les travaux de**Irié-N'guessan** (2013) ont révélé que les saponosides sontretrouvés en abondance dans l'écorce de racines que nous avions étudiés. Ces discordances observées avec nos résultats pourraient être attribués à une biodisponibilité insuffisante des composés responsables de l'effet anti-inflammatoire, après administration *in vivo*.

IX.2 Activité antioxydante

Les plantes regorgent de nombreuses substances qui jouent un rôle important dans le traitement et la prévention des dysfonctions oxydatives (Cole, 2005; Riboli, 2003; Liu, 2003).

Par la méthode FRAP, l'activité antioxydante de l'extrait était supérieure à celle de la vitamine C (puissant antioxydant) aux faibles concentrations. Ce pouvoir de l'extrait serait lié à la richesse des racines de *D.cinerea* en polyphenols dont les flavonoïdes qui ont la propriété de donner des électrons et piéger les

radicaux libres comme l'ont montré de nombreux travaux (Ou et al, 2002; Yang et al, 2002, Nagai et al, 2003). Par ailleurs le solvant hydroéthanolique constitue un bon solvant pour extraire la majorité des constituants chimiques

doués de propriétés anti-radicalaires tels que les composés polyphénoliques hydrosolubles.

Par contre, les résultats obtenus ont révélé une faible activité antioxydantede l'extrait de l'écorce de racines de *D. cinerea* par les tests ABTS et DPPH comparativement au Trolox et à la vitamine C qui a été utilisé comme substance anti-oxydante de référence. Cette faible activité pourrait s'expliquer par des interférences de molécules à haut poids moléculaires (**Brand-William et** *al*, 1995; **Pinelo et** *al*, 2004)duea l'utilisation du diméthyle sulfoxide (DMSO) comme solvant pour obtenir une solubilisation aisée de la poudre de l'extrait.

IX.3 Toxicité subaigüe

L'administration orale répétée, pendant 28 jours, de l'extrait aux doses de 10, 100, 1000 mg/kg pc, n'a occasionné aucun décès chez les 40 rats initialement sélectionnés. Le toxidrome n'a montré aucune anomalie aussi bien dans le lot témoin que dans les lots tests. La température corporelle non plus n'a subi devariation sous *D.cinerea*

Toutefois, nous avons noté une augmentation non significative du poids des animaux qui ont reçu les différentes doses de l'extrait durant toute la durée d'observation. Cette légère hausse de poids pourrait être liée à une stimulation de l'appétit par l'extrait en relation avec une augmentation de leur consommation de nourriture. Ce même constat a été fait par **PIEME et** *al*, (2006) qui pendant26 jours de gavage avec un extrait aqueux de *Senna alata* a enregistré une prise de poids équivalente chez les animaux d'étude.

Ailleurs, l'analyse hématologique n'a révéléaucune modification significative des paramètres mesurés chez les rats traités (leucocytes, globules rouges, hémoglobine, plaquettes). Cependant on a noté une augmentation non significative du nombre de globules rouges dans la première quinzaine, qui tend à se normaliserdans la dernière semaine d'observation, comparativement au témoin. Concernant le nombre de plaquettesla dose de 10 mg/kg pc de l'extrait a occasionné, dans la première semaine, une diminutiondu nombre qui s'est rapidement normalisé à la deuxième semaine d'observation.

CONCLUSION

Au terme de notre étude, l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea*, d'usage antiasthmatique en médecine traditionnelle ivoirienne, n'a pas montré d'activité anti-inflammatoire, par les tests au formaldéhyde et à la carragénine.

Cette drogue végétale ne pourrait donc pas être indiquée dans le traitement d'entretien à visée anti-inflammatoire de l'asthme.

Par contre, la recherche par la méthode FRAP a révélé une activité antioxydante intéressante de l'extrait qui pourrait être favorable à la neutralisation des radicaux libres intervenant dans les phénomènes d'hyperactivité bronchique au cours de l'asthme.

La somme des résultats pharmacodynamiques obtenus serait en faveur du traitement de la crise d'asthme comme l'indique la médecine traditionnelle chez les peuples Adioukrou en Côte d'Ivoire.

Par ailleurs, l'absence de toxicité subaigüe à la dose de 1000 mg/kgpc selon les paramètres étudiés, est un support favorable à la sécurité d'emploi de cette plante médicinale.

PERSPECTIVES

- L'asthme étant souvent sujet à des surinfections bactériennes et des effets anti-bactériens ayant été attribués à la drogue végétale ailleurs, nous envisageons de rechercher des propriétés antibactériennes de l'écorce de racines de *D.cinerea*.
- Nous nous proposons également de rechercher les effets de l'écorce de racines de *D.cinerea* dans un modèle de crise d'asthme *in vivo* pour mimer la réalité biologique de cette pathologie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **1. Adjanohoun E.J., Ahji A.M.R., Ake Assi L.** (1986): Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. *Paris*: ACTT, 121-33
- **2. AdjanohounE.j., Aké-Assi L.,** (1979).Contribution au recensement des plantes médicinales de cotes d'ivoire. *Centre national de floristique Abidjan*: Editions CRESS, 238p
- **3.** Alcaraz M.J., Jimenez M.J.: (1988). Flavonoïd and anti-inflammatory agent. *Fitoterapia* 59: 25-38.
- **4. Andonirina Ratsilefitra** (2013) : Etude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait NNI 0413 F1. *Medicinal plant pharmacology*. P.6.
- **5. Araico A.**, **Terencio M.C.**, **Alcaraz M.J.**, *et al* (2007): Evaluation of the anti-inflammatoryand analgesic activity of Me-UCH9, a dual cyclooxygenase-2/5-lipoxygenase inhibitor. *Life Sciences* 80:2108-2117.
- **6. Arula V.B., Miyazakib S., Dhananjayana R.:**(2005). Studies on the anti-inflammatory, antipyretic and analgesic properties. Of the leaves of Aegle marmelos Corr. *Journal of Ethnopharmacology 96: 159-163*.
- **7. Awika, J. M., Rooney, L. W., Wu, X.,** *et al* (2003): Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (Sorghum bicolor) and sorghum products. *Journal of agricultural and food chemistry*, *51*(23), 6657-6662.
- **8. Awooret-Samseny R.R.,Kaphé F., konaté K.** *et al*(2001): *Dichrostachys cinerea* (*L*) wight et Arn (Mimosaceae) hydro-alcoholic extractaction on the contractility of trachel smooth muscle isolated from guinea-pig. BMC *complementary and alternative medecine, 11,23.*
- **9. Banso A., Adeyemo S.O.** (2007): Evaluation of antibacterial properties of tannins isolated from *Dichrostachys cinerea.African Journal of Biotechnology*, 6(15), 1785-1787.

- **10.Barnes, P.J**. (1998): Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical science*, *94*(6), 557-572.
- **11.Blain, H., Jouzeau, J. Y., Netter, P.,** *et al* (2000): Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. *La revue de médecine interne*, 21(11), 978-988.
- **12.Bjarnason I., Hayllar J., McPherson A.J., Russell A.S**. (1993): Side effects of non steroidal anti-inflammatory drugs on the small and large intestine in humans. *Gastroenterology*;104:1832-1847
- **13. Bourin M., Lèvre M., Herv A**. (1993). Cours de pharmacologie. *Ellipses*, 3^{ème} édition, Paris, p.351.
- **14.Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset,** *et al*(1995): Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- **15. Chanda S. and Dave R.** (2009): In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *African Journal of MicrobiologyResearch*, 3, 981-996.

- **16.** Chattopadhyay P., Besra S. E., Gomes A., *et al* (2004): Anti-inflammatory activity of tea(Camellia sinensis) root extract. *Life Sciences* 74 (15): 1839-1849.
- **17. Cole, G.M., Lim, G.P., Yang, F.,** *et al*(2005):Prevention of Alzheimer's disease: omega-3 fattyacid and phenolicantioxidant interventions. *Neurobiol. Aging*, 26: S133 S136
- **18.Della Loggia A., Tubaro A., Dri P., Zilli C.,** *et al*: (1968). The role of flavonoids in the anti-inflammatory activity of Chamomilla recutita. *Clin and Biol Res* 213:481-486.
- **19.Di Rosa M.**(1972): Biological properties of carrageenan. *J Pharma and Pharmacol* 24:89-102.
- **20. Favier A.,** (2003) : Stress oxydant et pathologies humaines. Mémoire des activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. *Ann. Pharm. Fr.* p 64: 390-396.
- **21. Festing M.F.W**. (1979): Suitability of the Rat for Different Investigations. In: Inbred and Genetically Defined Strains of Laboratory Animals, Part I, Mouse and Rat (P.L Altman, D.D. Katz, eds.). *Fed. Am. Soc. Exper. Biol.* Bethesda, MD. p. 237-238.
- **22. Gentili M., Fletcher D., Mazoit X.,** *et al* (1997):Influence d'un bloc ou d'une section de nerf périphérique sur l'inflammation à la carragénine chez le rat. Annales françaises d'anesthésie et de réanimation 16 (6) : R285.
- **23. Grünfeed J.**(1994) : Dictionnaire de Médecine. *Flammarion*. 5^{ème} édition, Paris, p.1010.

- **24.Hama A. et Menzaghi F.,**(2001): Antagonist of nicotinic acetylcholine receptors (nAChR) enhances formalin induced nociception in rats: tonic role of nAChRs in the control of pain following injury, *Brain Research* 888: 102–6
- **25. Hassan et al.,** (2012): Anti-inflammatory activity of crude saponin extracts from five Nigerian medicinal plants. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 9(2):250-255
- **26.Henzen C, Suter A, Lerch E, Urbinelli R, Schorno XH, Briner** VA (2000). Suppression and recovery of adrenal response after short-term, highdoseglucocorticoid treatment. *Lancet*; 355; 542–5.
- **27. Hong Y.et Abbott F.V.** (1996):Contribution of peripheral alpha 1A-adrenoceptors to pain induced by formalin or by alpha-methyl-5-hydroxytryptamine plus noradrenaline, *European Journal of Pharmacology* 301: 41–8.
- **28.Irié-N'guessan, G., Champy P., Kouakou-Siransy, G.,** *et al*(2011):Tracheal relaxation of five Ivorian anti-asthmatic plants: Role of epithelium and K+ channels in the effect of the aqueous-alcoholic extract of Dichrostachys cinerea root bark. *Journal of ethnopharmacology*, *138*(2), 432-438.
- **29. Irié-N'guessan** (2013) : Rôle des ions potassium et de l'épithélium dans la relaxation du muscle lisse trachéale : application à la propriété antispasmodique de cinq plantes antiasthmatique issues de la pharmacopée ivoirienne, *thèse de Doctorat*. Sciences pharmaceutiques, Côte d'Ivoire p.107
- **30.Jain R., Saxena U.** (2003): Aliphatics and titerpenoids from the heartwood of *Dichrostachys cinerea*. *Journal of the Indian chemical Society*, 80(6),656-658.

- **31. Jagadeeshwar-R., Tiwari A.K., Kumar U.S.**, *et al* (2003): Novel 3-O-acyl mesquitol analogues as free-radical scavenger and enzyme inhibitors: Synthesis, biological evaluation and tructure-activity relationship. *Bioorganic Medicinal Chimistry letters*, 13(16), 2777-2780.
- **32.Jayakumari S., Srinivassa R.G.** (2007): Effet of *Dichrostachys cinerea* (Linn) root extract on ethylene glycol induced urolithiasis in rats. *Natural product sciences*, 13(3), 180-185.
- **33. Johannson C., kollberg B., Nordemar R.**(1980):Protectiveeffect of prostaglandine2 in the gastrointestinal tract during indomethacin treatment of rheumatic diseases. *Gastroenterology* 78:479-483
- **34. Jourdan D., Ardid D., Bardin L.,** *et al* (1997): A new automated method of pain scoring in the formalin test in rats, *Pain* 71: 265–70.
- **35. Kantor T. G.** (1988): New strategies for the use of anti-inflammatory agents. In: Proceedings of the Vth World congress on pain. Dubner R, Gebhart GF, Bond M. eds, *Elsevier Science Publisher*:80-86
- **36.Koechlin Ramonatxo C.,** (2006) :Oxygène, stress oxydant et supplémentations anti-oxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. 20: 165-177.
- **37. Kumar V., Abul K. A., Nelson F.** *et al* (2007): Robbins Basic Pathology, 8th Edition, p.20-60
- **38.** Le Bars D., Gozariu M., et Cadden S.W.(2001): Animal models of nociception. *Pharmacological reviews*; 53: 597-652.

- **39.Liu R.H.** (2003):Healthbenefits of fruit and vegetables are from additive and synergisticcombinations of phytochemicals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 78: 517S –520S
- **40. Long C., Marcourt L., Raux R.,** *et al*(2009): Meroterpnes from *Dchrostachys cinerea* inhibit protein farnesyltransferase activity. *Journal of natural products*, 72(10),1804-1815.
- **41.Meziti .A.** (2007) : Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* étude in vitro et in vivo. *Mémoire de Magister Université de Batna*.p 30-35-49-67.
- **42.Nagai, Takeshi, et al.** (2003): "Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis." *Food chemistry* 80.1 29-33.
- **43.Nicolas J-F., Florence C. et Jean T.**(2001): Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS: intolérance et allergie. *John Libbey Eurotext*, p.55-58.
- **44. Nongonierma R., Ndiaye A., Ndiaye M.,** *et al*: (2006):Activité anti-inflammatoire des décoctés aqueux et alcoolique des feuilles de *Boscia senegalensis* (Pers) Lam. Ex. poir.Capparridaceae. *Méd Afri Noire* 53 : 557-563.
- **45.OCDE** (2008) : Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : étude de toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs. *OCDE* 407.14p.
- **46.Osman, A. M., Wong, K. K. Y., Hill, S. J.,** *et al*(2006): Isolation and the characterization the degradation products of the mediator ABTS-derived radicals formed upon reaction with polyphenols. *Biochemical and biophysical research communications*, *340*(2), 597-603.

- **47.Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill M.,** *et al*(2002): Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of agricultural and food chemistry*, *50*(11), 3122-3128.
- **48. Packer L., Kraemer K. and Rimbach G.** (2001): Molecular aspects of lipoic acid in the prevention ofdiabetes complications. *Nutrition*, **17**, 888-895.
- **49. Parada, C. A., Tambeli, C. H., Cunha, F. Q.,** *et al*(2001): The major role of peripheral release of histamine and 5-hydroxytryptamine in formalininduced nociception. *Neuroscience*, *102*(4), 937-944.
- **50. Pincemail J., Bonjean K., Cayeux, K.,** *et al*(2002) : Mécanismes physiologiques de la défense anti-oxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme*. 16: 233-239.
- **51.Pieme C.A., Penlap V.N., Nkegoum B.,** *et al* (2006): Evaluation of acute and subacute toxicities of aqueous ethanolic extract of leaves of *Senna alata* (L.) Roxb (Ceasalpiniaceae). *Afr. J. Biotechnol.*, 5(3): 283-289.
- **52.Pinelo, M., Rubilar M., Sineiro J.,** *et al*(2004): Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (Prunus amygdalus) and pine sawdust (Pinus pinaster). *Food Chemistry*, 85(2), 267-273.
- **53.Popovici** Cristina; Ilonka Saykova ; Bartek Tylkowski (2009): Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel* 2009, 4, 25-39.

- **54.Riboli, E. et Norat, T.** (2003). Epidemiologicevidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. *Am. J. Clin. Nutr.*, 78: 559S 569S
- **55. Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L.**, *et al*(2010): Floristic and ethnobotanical study of medicinal plants of Kénitra (Maroc). *Lazaroa* 31: 133-146
- **56. Schorderet M**. (1992): Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. *Editions Frison-Roche*. (Paris) et slatkine (Genève). 2^{ème} édition, p.932.
- **57.Shibata M., Ohkubo T., Takahashi H., et al**(1989): Modified formalin test: characteristic biphasic pain response, *Pain* 38: 347–52.
- **58.Soro T Y., et al**(2015): Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de Ximenia americana (Linné) (Olacaceae): *Journal of Animal & Plant Sciences*, 2015. Vol.24, Issue 3: 3802-3813
- **59.Strom B L, Jesse AB, Kinman JL**, *et al*. (1996) Parenteral ketorolac and risk of gastrointestinal and operative site bleeding: apostmarketing surveillance study. *JAMA*; 275(5):376-382
- 60.Thaipong K., Unaroj B., Kevin C., Luis C.Z., David H. B. (2006)

 Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 669–675.
- **61. Tjolsen A., Berge O.G., Hunskaar S.,** *et al*(1992): The formalin test: an evaluation of the method. *Pain;* 51: 5-17.
- **62.TouitouY.**(1997): Pharmacologie Diplôme d'état d'infirmier, Professionnel. 8^{ème} édition, *Masson*, Paris, 388.

- **63.** Valko M., Rhodes C.J. B., Moncol J., *et al*(2006): Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160:1-40.
- **64.Vane, J. R.** (1971). Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature*, *231*(25), 232-235.
- **65. Winter C.A., Risley EA. and Nuss G.W.**(1962): Carrageenan-induced edema in hind pawsof the rats as an assay of anti-inflammatory drugs. *Proceed Soc Exper Biol and Med* 3: 544-547.
- **66.World heath Organization**. (2002): "WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005", World Health Organization, 74p. (Ref: WHO/ EDM/ TRM/2002.1(http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_EDM_TRM_2002.1
- **67.Yang, J. H., Lin, H. C., et Mau, J. L.** (2002) :Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food chemistry*, 77(2), 229-235.
- **68.Zemmouri A., Boumendjel M., Messarah** (2015) : Effet de l'extrait de feuilles *d'Urtica dioica* sur les paramètres du stress oxydants dans un modèle murin d'asthme expérimental, *Revue Française d'Allergologie*, Volume 55, Issue 3, Page 238

ANNEXES

ANNEXE 1 : résultats du test d'irritation de la patte au formaldéhyde

	1ère Phase 2ème Phase				
	29,6	20,32			
	48,12	54,85			
Témoin	62,14	20,43			
	19,18	61,94			
	40,32	37,87			
	76,31	75,76			

	1ère Phase 2ème Phase		
	14,55	7	
	24,57	3,8	
beta 4	16,67	7	
	25,71	4,6	
	28,3	6,9	
	13,53	18,4	

	1ère Phase 2ème Phase			
	24,26	9,2		
	26,95	12,9		
Kéto 10	59,43	0		
	26,12	18,5		
	55,16	20,4		
	21,93	5,6		

	1ère Phase 2ème Phase			
	9,22	0		
	42,13	31,78		
AAS 100	20,1	0		
	56,53	57,57		
	55,25	28,44		
	54,96	41,61		

	1ère Phase 2ème Phase				
	61,07	38,09			
	54,62	37,22			
DC 10	35,42	51,66			
	44,25	23,92			
	28,49	24,02			
	47,51	18,33			

	1ère Phase 2ème Phase			
	20,22	12,75		
	44,61			
DC 100	18,38	29,56		
	66,73	36,28		
	61,38	34,41		
	51,7	24,38		

	1ère Phase 2ème Phase			
	48,39	15,2		
	53,29	17		
DC 1000	52,9	27,5		
	37,11	34,9		
	33,23	26,6		
	30,52	11		

ANNEXE 2 : résultats test de l'œdème induit par la carragénine

	Rats	T0	T1	T2	Т3
		(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
	R1	3,2	4,8	5,27	5,92
	R2	3,24	4,6	4,97	5,41
TEMOIN	R3	3,26	4,34	5,31	5,87
1 Elvion	R4	3,52	5,27	5,9	6,47
	R5	3,64	5,22	5,83	7,11
	R6	3,99	4,43	5,14	5,34

	Rats	T0 (mm)	T1 (mm)	T2 (mm)	T3 (mm)
	R1	3,36	1,37	1,76	1,54
	R2	3,39	2,62	1,91	1,35
beta 4	R3	3,67	2,76	1,45	0,33
	R4	3,74	2,07	1,12	0,19
	R5	3,42	2,52	1,85	1,6
	R6	3,52	2,86	1,16	0,88

	Rats	T0	T1	T2	Т3
		(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
	R1	3,28	2,16	2	1,24
	R2	2,97	2,68	1,24	2
Kéto 10	R3	3,74	2,48	1,45	1,47
Reto 10	R4	3,56	2,17	2,12	2,03
	R5	3,77	2,74	1,7	1,74
	R6	3,87	2,24	2,2	1,21

	Rats	T0	T1	T2	Т3
		(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
	R1	3,65	2,75	2,16	2,15
	R2	3,66	2,96	2,95	2,95
AAS 100	R3	3,62	2,09	3,08	2,58
AA3 100	R4	3,76	2,14	2,27	2,57
	R5	3,6	2,15	2,6	2,44
	R6	3,69	3,23	2,4	2,62

	Rats	T0	T1	T2	Т3
		(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
	R1	3,41	4,81	5,02	5,33
	R2	3,68	4,18	5,39	6,61
DC 10	R3	3,52	4,82	4,89	4,87
DC 10	R4	3,32	4,54	4,97	4,8
	R5	3,52	4,6	6,43	7,17
	R6	3,59	5,18	5,28	5,9

	Rats	T0	T1	T2	Т3
		(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
	R1	3	4,77	4,99	5,03
	R2	3,36	4,48	4,58	4,76
DC 100	R3	3,27	4,3	4,87	5,45
DC 100	R4	3,61	4,66	4,97	5,38
	R5	3,61	4,72	5,17	5,57
	R6	3,62	4,77	5,75	5,87

	Rats	T0	T1	T2	Т3
		(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
	R1	3,07	4,43	4,58	5,26
	R2	3,57	4,41	4,24	3,98
DC 1000	R3	3,46	5,09	,09 5,28	6,27
DC 1000	R4	3,54	5,17	5,07	5,32
	R5	3,5	4,38	4,98	5,4
	R6	3,61	4,05	4,71	4,9

ANNEXE 3 : p value du pourcentage d'inhibition test au formaldéhyde

		1 ^{ère}	Phase		2 ^{ème} Phase			
TE	9	intensité de la	%	p	intensité de	%		
Traitement	Dose	douleur	inhibition	value	la douleur	inhibition	p value	
Témoin	10 ml/kg PC	$2,83 \pm 0,40$	-	ns	$2,5 \pm 0,83$	-	-	
DC 1000	1000 mg/kg PC	2 ± 0.89	39,81	ns	$1,33 \pm 0,51$	51,25 *	0,0421	
DC 100	100 mg/kg PC	$2,83 \pm 0,40$	4,58	ns	$2,16 \pm 0,75$	34,45	ns	
DC 10	10 mg/kg PC	$2,83 \pm 0,40$	1,56	ns	$2,5 \pm 0,83$	28,74	ns	
BETA 4	4 mg/kg PC	$2,66 \pm 0,81$	6,4	ns	$1 \pm 0,63$	82,41 ***	0,0005	
KETO 10	10 mg/kg PC	$2,83 \pm 0,40$	21,10	ns	$1,5 \pm 1,04$	75,44 **	0,0014	
AAS 100	100 mg/kg PC	$2,83 \pm 0,40$	10,00	ns	$1,66 \pm 0,81$	41,22	ns	

p value du pourcentage d'inhibition test de l'œdème induit par la carragénine

		T1H		T2H		ТЗН	
Traitement	Dose	% inhibition	p value	% inhibition	p value	% inhibition	p value
Témoin	10 ml/kg PC	-	-	-	-	-	-
DC 1000	1000 mg/kg PC	3 ,94	Ns	10,98	ns	13,81	ns
DC 100	100 mg/kg PC	3,34	Ns	6,44	ns	11,24	ns
DC 10	10 mg/kg PC	1,84	Ns	1,35	ns	3,98	ns
BETA 4	4 mg/kg PC	50,45 ***	0,0001	71,46 ***	0,0001	83,69 ***	0,0001
KETO 10	10 mg/kg PC	49,51 ***	0,0001	66,96 ***	0,0001	73,17 ***	0,0001
AAS 100	100 mg/kg PC	46,54 ***	0,0001	52,31 ***	0,0001	57,61 ***	0,0001