

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

*Union – Discipline – Travail*

-----  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique*  
-----

Université Félix Houphouët-Boigny



UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

Année Universitaire: 2017-2018

N°

**THESE UNIQUE**

Spécialité : PHARMACOLOGIE

Présentée par : EFFO Kouakou Etienne

**ACTIVITE HEPATOPROTECTRICE DE ALCHORNEA CORDIFOLIA  
(EUPHORBIACEAE) DANS UN MODELE ANIMAL D'HEPATOTOXICITE  
INDUITE PAR LES MEDICAMENTS ANTITUBERCULEUX**

Soutenue le 16 janvier 2018

devant le jury composé de :

Mme Koné-Bamba Diénéba, Professeur Titulaire,	<i>UFHB</i>	Président
Mme Kouakou-Siransy N'Doua Gisèle, Professeur Titulaire,	<i>UFHB</i>	Directeur
Mme Aké-Edjème N'Guessan Angèle, <i>MCA</i> ,	<i>UFHB</i>	Rapporteur
Mr Ouedraogo Moussa, <i>MCA</i> , Université Ouaga I Pr Joseph Ki-Zerbo		Rapporteur
Mr Diomandé Mohenou I. Jean-Marie, Professeur Titulaire, <i>UFHB</i>		Examineur

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

*Union – Discipline – Travail*

-----  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique*  
-----

Université Félix Houphouët-Boigny



UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

Année Universitaire: 2017-2018

N°

**THESE UNIQUE**

Spécialité : PHARMACOLOGIE

Présentée par : EFFO Kouakou Etienne

**ACTIVITE HEPATOPROTECTRICE DE ALCHORNEA CORDIFOLIA  
(EUPHORBIACEAE) DANS UN MODELE ANIMAL D'HEPATOTOXICITE  
INDUITE PAR LES MEDICAMENTS ANTITUBERCULEUX**

Soutenue le 16 janvier 2018

devant le jury composé de :

Mme Koné-Bamba Diénéba, Professeur Titulaire,	<i>UFHB</i>	Président
Mme Kouakou-Siransy N'Doua Gisèle, Professeur Titulaire,	<i>UFHB</i>	Directeur
Mme Aké-Edjème N'Guessan Angèle, <i>MCA</i> ,	<i>UFHB</i>	Rapporteur
Mr Ouedraogo Moussa, <i>MCA</i> , Université Ouaga I Pr Joseph Ki-Zerbo		Rapporteur
Mr Diomandé Mohenou I. Jean-Marie, Professeur Titulaire, <i>UFHB</i>		Examineur

# *DEDICACES*

*Je dédie cette thèse à...*

## *Dieu le Père, le Fils et le Saint Esprit*

« J'aime l'Éternel car il entend ma voix, mes supplications; car il a penché son oreille vers moi; Et je l'invoquerai toute ma vie ». *Psaumes 116, 1-2.*

Daigne achever en moi ce que tu as commencé, et que ta volonté s'accomplisse toujours ma vie.

***Merci Seigneur !***

## *La vierge Marie*

Ô toi Mère Divine, toi qui m'as toujours aidé à décharger mes fardeaux en intercédant auprès de ton Fils, sache que je te rendrai toujours Grâce.

Assiste-moi d'avantage dans ma vie.

***Bénie sois tu Maman MARIE !***

## *Mon défunt père*

De là où tu es, et je suis convaincu que tu es à côté du Bon Dieu, je ne doute pas que tu suis mon évolution. Dieu seul sait pourquoi je ne pourrai pas savourer cet instant avec toi.

***Repose en paix Papa !***

## *Ma mère*

Je continue ma marche sous ta protection. Merci d'être toujours là pour moi quand j'ai besoin de toi.

***Bénie sois tu Mère!***

## *Mon épouse*

Comme une hirondelle en pleine tempête, tu es le soleil qui sèche mes ailes. Ton soutien dans ma carrière universitaire est le socle de ma progression.

***Je t'aime !***

## *Mes enfants*

Vous êtes ma source de motivation !

***Je vous aime très fort !***

## ***Mes frères et sœurs***

Votre désir de me voir toujours parmi les meilleurs est comme un défi à relever pour moi chaque jour de la vie.

*Merci pour vos prières !*

## ***Mes collègues du CHU de Treichville et de l'UFR SPB***

Merci pour votre soutien et vos encouragements.

## ***Mes amis et à toutes mes connaissances***

Vous qui de près ou de loin avez contribué à la réalisation de ce travail, veuillez recevoir l'expression de ma profonde gratitude.

# *REMERCIEMENTS*

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance...

**A Madame Kouakou-Siransy N'Doua Gisèle**, Professeur Titulaire de Pharmacologie à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny, et Directeur de cette thèse, pour m'avoir indiqué la voie à suivre et m'avoir encouragé à surmonter les difficultés y afférents. Je n'y serais pas arrivé si vous n'aviez pas été là. Ce travail est le vôtre. Merci pour l'encadrement dont je bénéficie à vos côtés. Que Dieu me rende digne de tous vos apports dans ma vie. Que Dieu vous comble de ses grâces!

**A Madame Irié-N'Guessan Geneviève**, Maître de conférences Agrégé de Pharmacologie à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny, pour vos conseils pertinents et avisés dans la réalisation de ce travail.

**A Monsieur Ouattara Mahama**, Maître de conférences Agrégé de Chimie Thérapeutique à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny, pour la motivation que vous n'avez cessé de nous donner.

**A Monsieur Dally Ismaël**, Maître de conférences Agrégé de Pharmacie galénique à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny, pour les encouragements et les conseils que vous n'avez cessé de nous donner.

**A Madame Koné Bamba**, Professeur Titulaire de Pharmacognosie et Doyen à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny, pour m'avoir ouvert les portes de votre laboratoire pour le tri phytochimique de mes extraits de plante. Merci particulièrement à votre assistante Dr Ouayogodé Aminata.

**A Monsieur Ahibo Hugues**, Maître de conférences Agrégé de Biochimie à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny, Chef de l'unité de Biochimie du Centre de Diagnostic et de recherche sur le SIDA et les maladies opportunistes (CeDReS), pour la réalisation des tests biochimiques que vous avez coordonné dans votre unité, et pour les différentes orientations que vous m'avez aidé à prendre. A travers vous, je remercie tout le personnel du CeDReS, plus particulièrement votre assistante Dr Sibli.

**Aux Docteurs N'Da Justin et Abounan**, pour m'avoir encadré dans l'étude histopathologique des foies des rats de mon étude.

Au Centre Suisse de Recherche Scientifique (CSRS), pour l'assistance à la réalisation de l'étude de l'activité antioxydante *in vitro* et au dosage des groupes phytochimiques.



*A NOS EMINENTS MAITRES  
ET JUGES QUI ONT ACCEPTE  
DE JUGER CE TRAVAIL*

# *A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DU JURY*

**Madame KONE-BAMBA Diéneba**

- Professeur Titulaire de Pharmacognosie ;
- Doyen de l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny ;
- Chef de Département de Pharmacognosie de l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny ;
- Ancien Directeur de la Pharmacie de la Santé Publique (PSP) ;
- Expert à l'OMS.

*Cher Maître,*

*C'est un grand honneur pour nous de vous avoir en ce jour comme le président du jury de notre travail. Vos qualités humaines, surtout maternelles à tous égards, ne cesseront d'édifier tous ceux qui vous côtoient.*

*Merci Cher Maître et recevez l'expression de notre très haute considération.*

# *A NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THÈSE*

**Madame KOUAKOU-SIRANSY N'Doua Gisèle**

- Professeur Titulaire en Pharmacologie ;
- Enseignant-Chercheur à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan ;
- Pharmacien au Service de Pharmacologie Clinique du Centre Hospitalier Universitaire de Cocody Abidjan;
- Titulaire d'une thèse de doctorat unique en pharmacologie de l'université Félix Houphouët-Boigny ;
- Titulaire d'un DES de Pharmacologie clinique, option Pharmacothérapeutique ;
- Titulaire d'un DEA en physiologie animale ;
- Membre de la Société Française de la Pharmacologie et de la thérapeutique ;
- Ancien interne des hôpitaux ;
- Vice-présidente de la Société Savante Pharmaceutique de Côte d'Ivoire (SOPHACI).
- 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.

***Cher Maître,***

*Ce travail n'aurait pas connu cet aboutissement si vous n'aviez pas été là. Vous n'avez hésité à aucun moment à répondre à nos sollicitations pour un travail de qualité scientifique. Vos qualités humaines, votre rigueur et votre amour du travail bien accompli ne sont plus à démontrer. Vous nous avez fait un grand honneur en nous acceptant dans votre Département et surtout en acceptant la direction de ce travail.*

*Nous vous en remercions et vous prions de bien vouloir accepter à travers ces mots, le témoignage de notre profonde gratitude.*

## *A NOTRE MAÎTRE ET JUGE*

**Madame AKE-EDJEME N'Guessan Angèle,**

- Maître de Conférences Agrégé de Biochimie clinique et Biologie moléculaire à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny ;
- Docteur de l'Université de Reims Champagne Ardenne (France) ;
- DEA de conception, réalisation et évaluation de médicaments issus de la pharmacopée traditionnelle ;
- CES de Biochimie Clinique ;
- Responsable chargée de la formation à l'unité Biochimie Clinique et Hématologie à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire ;
- Pharmacienne Biologiste des hôpitaux à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire et au CHU de Cocody ;
- Membre de l'Observatoire de la Résistance aux Anti-infectieux en Côte d'Ivoire (ORMICI) ;
- Membre de la Société Médicale d'Afrique Noire de Langue Française.

*Cher Maître,*

*Nous avons été édifiés par le regard que vous avez porté sur notre travail, en votre qualité de rapporteur. Vos observations plus que pertinentes ont contribué à nous amener devant ce jury dont vous êtes membre. Nous vous sommes reconnaissants pour votre prestigieuse contribution pour l'amélioration de notre travail.*

*Merci cher maître et recevez l'expression de notre profonde gratitude.*

## *A NOTRE MAÎTRE ET JUGE*

**Monsieur OUEDRAOGO Moussa,**

- Maître de Conférences Agrégé en Pharmacologie ;
- Enseignant-Chercheur à l'UFR Sciences De la Santé (SDS) de l'Université Ouaga I Pr Joseph Ki-Zerbo ;
- Directeur adjoint de l'école doctorale à l'UFR/SDS ;
- Chef de service de la pharmacie du Centre Hospitalier Universitaire Pédiatrique Charles De Gaulle de Ouagadougou (CHUP/CDG).

*Cher Maître,*

*Nous vous sommes sincèrement reconnaissants pour votre prestigieuse contribution pour l'amélioration de notre travail, en votre qualité de rapporteur. C'est un grand honneur pour nous de vous avoir en ce jour comme membre du jury de notre thèse.*

*Merci cher maître et recevez l'expression de notre très haute considération.*

## *A NOTRE MAÎTRE ET JUGE*

**Monsieur Diomandé Mohenou Isidore Jean-Marie,**

- Professeur Titulaire d'Anatomie Pathologique ;
- Chef de service du laboratoire d'Anatomie Pathologique du CHU de Cocody ;
- Doyen honoraire de l'UFR Sciences Médicales d'Abidjan ;
- Président de la Société Ivoirienne de Pathologie;
- Expert près de la cour d'appel et des tribunaux de Côte d'Ivoire ;
- Président Honoraire de la Conférence Africaine des Doyens des Facultés de Médecine d'Expression Française (CADMEF) ;
- Président Honoraire de la Conférence Internationale des Doyens des Facultés de Médecine d'Expression Française (CIDMEF) ;
- Vice-Président du West African College of Physicians (WACP) ;
- Vice-Président pour l'Afrique de l'Académie Internationale de Pathologie;
- Officier de l'Ordre de l'Education Nationale de Côte d'Ivoire ;
- Chevalier de légion d'honneur de France.

*Cher Maître,*

*Vous avez spontanément accepté de siéger dans ce jury en qualité d'examineur. Cela témoigne de votre simplicité, de votre humilité et de votre intérêt pour la recherche.*

*Veillez recevoir Cher Maître, l'expression de notre profonde gratitude et que Dieu vous bénisse abondamment.*

# *Table des matières*

	<u>Pages</u>
Dédicaces.....	I
Remerciements .....	IV
Table des matières.....	XIII
Liste des abréviations.....	XXI
Liste des figures.....	XXIV
Liste des tableaux.....	XXX
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>5</b>
<b>I.1. PRESENTATION DE ALCHORNEA CORDIFOLIA</b> .....	<b>6</b>
I.1.1. Botanique.....	6
I.1.1.1. La systématique.....	6
I.1.1.2 Noms vernaculaires.....	6
I.1.1.3 Description botanique.....	7
I.1.1.4. Habitat et répartition géographique.....	7
I.1.2. Utilisations en médecine traditionnelle.....	10
I.1.3. Constituants chimiques.....	11
I.1.4. Activités pharmacologiques.....	12
I.1.4.1. Activités antiparasitaires.....	12
I.1.4.2- Activités antibactériennes.....	13
I.1.4.3. Activité antifongique.....	13
I.1.4.4. Activité anti-inflammatoire.....	13
I.1.4.5. Activité hépatoprotectrice.....	14
I.1.4.6. Activité antioxydante.....	14
I.1.4.7. Activité cicatrisante.....	14
I.1.4.8. Activité antidiarrhéique.....	14
I.1.4.9. Activité anti dépressive.....	14
I.1.4.10. Activité anti drépanocytaire.....	14
I.1.4.11. Activité anti VIH.....	15
I.1.4.12. Activité anxiolytique.....	15
I.1.4.13. Activité antidiabétique.....	15



I.1.4.14. Activité antipyrétique.....	15
<b>I.2. PHARMACOLOGIE DES MEDICAMENTS ANTITUBERCULEUX .....</b>	<b>15</b>
I.2.1. Classification des médicaments.....	16
I.2.2. Pharmacocinétique.....	16
I.2.3. Indications et schéma thérapeutique.....	18
I.2.4. Effets indésirables et interactions médicamenteuses des antituberculeux majeurs.....	20
I.2.4.1. l'isoniazide.....	20
I.2.4.1.1. les effets indésirables hépatiques.....	20
I.2.4.1.2. les effets indésirables neurologiques.....	20
I.2.4.1.3. Autres effets indésirables.....	21
I.2.4.1.4. Interactions médicamenteuses.....	21
I.2.4.2. la rifampicine.....	22
I.2.4.2.1. Effets indésirables hépatiques.....	22
I.2.4.2.2. Effets digestifs.....	22
I.2.4.2.3. Réactions d'hypersensibilité immédiate.....	22
I.2.4.2.4. Interactions médicamenteuses.....	22
I.2.4.3. Le pyrazinamide.....	23
I.2.4.3.1. Effets indésirables hépatiques.....	23
I.2.4.3.2. Autres effets indésirables.....	24
I.2.4.4. L'éthambutol.....	24
<b>I.3. LE FOIE.....</b>	<b>25</b>
I.3.1. Anatomie.....	25
I.3.2. Histologie.....	25
I.3.3. L'hépatotoxicité.....	31
I.3.3.1. Définition.....	31
I.3.3.2. Mécanisme d'action hépatotoxique.....	31
I.3.4. Le stress oxydatif dans les affections hépatique.....	35
I.3.4.1. origines et conséquences.....	35
I.3.4.2. Mécanisme du stress oxydatif hépatique.....	36
I.3.4.3. Evaluation du stress oxydatif hépatique.....	36
I.3.4.4. Les lésions hépatiques.....	37

I.3.4.4.1. La stéatose.....	37
I.3.4.4.2. La cholestase.....	37
I.3.4.4.3. La nécrose.....	38
I.3.4.4.4. La cirrhose.....	38
I.3.5. Le traitement d'une hépatite toxique.....	38
I.3.5.1. Les antioxydants de synthèse.....	39
I.3.5.2. Les vitamines et oligoéléments.....	39
<b>I.4. LE STRESS OXYDATIF ET LES ANTIOXYDANTS.....</b>	<b>40</b>
I.4.1. le stress oxydatif et radicaux libres.....	40
I.4.1.1. Définition.....	40
I.4.1.2. Nature des radicaux libres.....	40
I.4.1.3. Principales sources de production des radicaux libres.....	41
I.4.1.4. Rôles physiologiques des radicaux libres.....	43
I.4.1.5. Conséquence du stress oxydatif.....	43
I.4.2. Antioxydants et systèmes de défense.....	45
I.4.2.1. Caractéristiques des antioxydants.....	45
I.4.2.2. Classification des antioxydants.....	46
I.4.2.2.1. Antioxydants endogènes.....	46
I.4.2.2.1.1. Antioxydants enzymatiques.....	46
I.4.2.2.1.1.1. Les superoxydes dismutases.....	48
I.4.2.2.1.1.2. La catalase.....	48
I.4.2.2.1.1.3. Les glutathions peroxydases.....	48
I.4.2.2.1.1.4. Les thiorédoxines.....	48
I.4.2.2.1.2. Antioxydants non enzymatiques.....	49
I.4.2.2.2. Antioxydants exogènes.....	49
I.4.2.2.2.1. L'acide ascorbique ou vitamine C.....	49
I.4.2.2.2.2. Les tocophérols.....	50
I.4.2.2.2.3. Les caroténoïdes.....	50
I.4.2.2.2.4. Les oligoéléments.....	50
I.4.2.2.2.5. Les polyphénols.....	51
I.4.2.2.2.6. Les antioxydants de synthèse.....	52

<b>II. MATERIEL ET METHODES</b> .....	53
<b>II.1. MATERIEL</b> .....	54
II.1.1. Matériel végétal.....	54
II.1.2. Matériel animal.....	54
II.1.3. Matériel technique.....	55
II.1.4. Produits chimiques et solvants utilisés.....	59
<b>II.2. METHODES</b> .....	62
II.2.1. Préparation des extraits.....	62
II.2.2. Etude de l'activité anti-oxydante de <i>A. cordifolia</i> .....	64
II.2.2.1. Mesure du pouvoir réducteur.....	64
II.2.2.2. Mesure de l'activité anti radicalaire DPPH.....	65
II.2.2.3. Méthode ABTS.....	66
II.2.3. Tri phytochimique.....	67
II.2.3.1. Caractérisation des groupes phytochimiques.....	67
II.2.3.1.1. les polyphénols totaux.....	67
II.2.3.1.2. les flavonoïdes.....	67
II.2.3.1.3. les tanins.....	68
II.2.3.1.4. les alcaloïdes.....	68
II.2.3.1.5. les saponosides.....	69
II.2.3.2. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes.....	69
II.2.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	69
II.2.3.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	70
II.2.4. Etude de l'activité hépatoprotecteur de <i>A. cordifolia</i> chez le rat.....	71
II.2.4.1. Principe.....	71
II.2.4.2. Mode opératoire.....	71
II.2.4.2.1. Effet des extraits aqueux et méthanolique de <i>A. cordifolia</i> seuls sur les paramètres hépatiques d'hépatotoxicité.....	71
II.2.4.2.2. Etude de l'hépatotoxicité induite par l'isoniazide .....	72
II.2.4.2.3. Etude de l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide et rifampicine.....	72
II.2.4.2.4. Etude de l'hépatotoxicité par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide.....	73
II.2.4.2.5. Évaluation de la fonction hépatique.....	74

II.2.4.2.5.1. Détermination de l'activité enzymatique sérique des paramètres biochimiques d'hépatotoxicité.....	74
II.2.4.2.5.1.1. Détermination de l'activité enzymatique des transaminases.....	74
II.2.4.2.5.1.2. Détermination de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline.....	76
II.2.4.2.5.1.3. Détermination de l'activité enzymatique de la lactate déshydrogénase.....	77
II.2.4.2.5.1.4. Dosage de la bilirubine directe .....	79
II.2.4.2.5.1.5. Dosage de la bilirubine totale.....	79
II.2.4.2.5.2. Etude histologique des foies des rats.....	80
II.2.4.5. Considérations éthiques.....	81
II.2.4.6. Analyse et traitement des données.....	81
<b>III. RESULTATS.....</b>	<b>80</b>
<b>III.1. Rendements.....</b>	<b>83</b>
III.1.1. Rendement de séchage.....	83
III.1.2. Rendement d'extraction.....	83
<b>III.2. Résultats sur l'activité antioxydante <i>in vitro</i>.....</b>	<b>83</b>
III.2.1. Pouvoir réducteur.....	83
III.2.2. Activité antiradicalaire DPPH.....	84
III.2.3. Activité antiradicalaire ABTS.....	84
<b>III.3. Résultats du tri phytochimique.....</b>	<b>88</b>
III.3.1. Caractérisation phytochimique.....	88
III.3.2. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes.....	88
<b>III.4. Résultats de l'activité hépatoprotectrice.....</b>	<b>92</b>
III.4.1. Résultats sur les dosages biochimiques.....	92
III.4.1.1. Effet sur les transaminases.....	92
III.4.1.1.1. Effets des extraits seuls sur les valeurs normales des transaminases sériques.....	92
III.4.1.1.2. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'isoniazide.....	95
III.4.1.1.2.1. Effet sur l'alanine amino-transférase.....	95
III.4.1.1.2.2. Effet sur l'aspartate amino-transférase.....	95
III.4.1.1.3. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide et rifampicine.....	98
III.4.1.1.3.1. Effet sur l'alanine amino-transférase.....	98
III.4.1.1.3.2. Effet sur l'aspartate amino-transférase .....	98

III.4.1.1.4. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide .....	101
III.4.1.1.4.1. Effet sur l'alanine amino-transférase.....	101
III.4.1.1.4.2. Effet sur l'aspartate amino-transférase.....	101
III.4.1.2. Effet sur la phosphatase alcaline.....	105
III.4.1.2.1. Effets des extraits seuls.....	105
III.4.1.2.2. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'isoniazide.....	105
III.4.1.2.3. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide et rifampicine.....	108
III.4.1.2.4. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide.....	108
III.4.1.3. Effet sur la lactate déshydrogénase.....	112
III.4.1.3.1. Effets des extraits seuls.....	112
III.4.1.3.2. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'isoniazide.....	112
III.4.1.3.3. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide et rifampicine.....	115
III.4.1.3.4. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide.....	115
III.4.1.4. Effet sur la bilirubine directe.....	119
III.4.1.4.1. Effets des extraits seuls.....	119
III.4.1.4.2. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'isoniazide.....	119
III.4.1.4.3. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide et rifampicine.....	122
III.4.1.4.4. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide.....	122
III.4.1.5. Effet sur la bilirubine totale.....	126
III.4.1.5.1. Effets des extraits seuls.....	126
III.4.1.5.2. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'isoniazide.....	126
III.4.1.5.3. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide et rifampicine.....	129
III.4.1.5.4. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide.....	129
III.4.2. Résultats de l'étude histologique.....	133

III.4.2.1. Résultats de l'examen histologique du foie non intoxiqué.....	135
III.4.2.2. Résultats de l'effet des extraits seuls sur l'examen histologique du foie.....	135
III.4.2.3. Résultats de l'examen histologique du foie intoxiqué par l'isoniazide et ayant reçu les extraits de <i>A. cordifolia</i> .....	139
III.4.2.4. Résultats de l'examen histologique du foie intoxiqué par l'association isoniazide+rifampicine et ayant reçu les extraits de <i>A. cordifolia</i> .....	147
III.4.2.5. Résultats de l'examen histologique du foie intoxiqué par l'association isoniazide+rifampicine+pyrazinamide et ayant reçu les extraits de <i>A. cordifolia</i> .....	154
III.5. Résultats sur la mortalité des rats.....	160
 <b>IV. DISCUSSION</b> .....	 162
IV.1. Activité antioxydante <i>in vitro</i> et tri phytochimique.....	163
IV.2. Activité hépatoprotectrice.....	165
IV.2.1. Effets des extraits seuls sur les paramètres biochimiques d'hépatotoxicité.....	166
IV.2.2. Hépatotoxicité induite par l'isoniazide.....	167
IV.2.3. Hépatotoxicité induite par l'association isoniazide et rifampicine.....	168
IV.2.4. Hépatotoxicité induite par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide.....	168
IV.2.5. effets des extraits sur l'histologie du foie .....	170
 <b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b> .....	 173
Références.....	176
Annexe.....	i
Publications issues de la thèse.....	viii

# *Liste des abréviations*

ABTS :	2,2'- Azino-Bis (3 - éthylbenzoThiazoline -6- Sulfonique acide)
ALAT :	Alanine amino-transférase
ASAT :	Aspartate amino-transférase
BIL D :	Bilirubine directe
BIL T :	Bilirubine totale
CAT :	Catalase
CCl <sub>4</sub> :	Tétra chlorure de carbone
CSRS :	Centre Suisse de Recherche Scientifique
DPPH :	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle
EAAC :	Extrait aqueux de <i>Alchornea cordifolia</i>
EMAC :	Extrait méthanolique de <i>Alchornea cordifolia</i>
ERO :	Espèces Réactives de l'Oxygène
FACI :	Fabrication d'Aliments d'Animaux de Côte d'Ivoire
FRAP :	Ferric reducing-antioxidant power
GPx :	Glutathion peroxydase
GSH :	Glutathion réduit
GSSG :	Glutathion oxydé
GST :	Glutathion-S-transférase
INH :	Isoniazide
LDH :	Lactate déshydrogénase
LPO :	Peroxydation lipidique



MDH :	Malondialdehyde
Min :	Minutes
PAL :	Phosphatase alcaline
PZA :	Pyrazinamide
RIF :	Rifampicine
SILYM :	Silymarine
SOD :	Superoxyde dismutase
TG :	Triglycérides
UI/L :	Unité internationale par litre
UV-VIS :	Ultraviolet- visible
Vit C :	Vitamine C
$\gamma$ -GT :	Gamma-glutamyl transférase

# *Liste des figures*

	Pages
<b>Figure 1 :</b> <i>Alchornea cordifolia</i> .....	8
<b>Figure 2 :</b> Feuilles de <i>Alchornea cordifolia</i> .....	9
<b>Figure 3:</b> Anatomie du foie .....	26
<b>Figure 4 :</b> Vascularisation du foie .....	27
<b>Figure 5 :</b> Lobule hépatique .....	29
<b>Figure 6:</b> Les cellules hépatiques .....	30
<b>Figure 7 :</b> Localisation histologique préférentielle au sein du lobule hépatique, de certaines atteintes hépatiques toxiques .....	32
<b>Figure 8 :</b> Voies de formation des ERO, processus de peroxydation des lipides et le rôle du glutathion (GSH) et autre antioxydants dans le management du stress.....	42
<b>Figure 9:</b> Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène .....	47
<b>Figure 10 :</b> Préparation des extraits aqueux et méthanoliques de feuilles de <i>A. cordifolia</i> .....	63
<b>Figure 11:</b> Pouvoir réducteur des extraits de feuilles de <i>A. cordifolia</i> et du trolox.....	85
<b>Figure 12:</b> Pourcentage d'inhibition du radical DPPH des extraits de feuilles de <i>A. cordifolia</i> et de la vitamine C .....	86
<b>Figure 13:</b> Pourcentage d-inhibition du radical ABTS des extraits de feuilles de <i>A. cordifolia</i> et de la vitamine C .....	87
<b>Figure 14:</b> Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux des extraits aqueux et méthanolique de <i>A. cordifolia</i> .....	90
<b>Figure 15:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les valeurs normales de l'alanine aminotransférase chez le rat .....	93
<b>Figure 16:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les valeurs normales de l'aspartate aminotransférase chez le rat .....	94

<b>Figure 17:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de l'alanine amino-transférase par l'isoniazide .....	96
<b>Figure 18:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de l'aspartate amino-transférase par l'isoniazide.....	97
<b>Figure 19:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de l'alanine amino-transférase par l'association isoniazide et rifampicine .....	99
<b>Figure 20:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de l'aspartate amino-transférase par l'association isoniazide et rifampicine.....	100
<b>Figure 21:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de l'alanine amino-transférase par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide.....	102
<b>Figure 22:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de l'aspartate amino-transférase par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide.....	103
<b>Figure 23 :</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> seuls sur les valeurs normales de la phosphatase alcaline .....	106
<b>Figure 24:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de la phosphatase alcaline par l'isoniazide .....	107
<b>Figure 25:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de la phosphatase alcaline par l'association isoniazide et rifampicine .....	109
<b>Figure 26:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> et sur les perturbations des valeurs sériques de la phosphatase alcaline par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide .....	110
<b>Figure 27:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> seuls sur les valeurs normales de la lactate déshydrogénase .....	113
<b>Figure 28:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de la lactate déshydrogénase par l'isoniazide .....	114
<b>Figure 29:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de la lactate déshydrogénase par l'association isoniazide et rifampicine .....	116

<b>Figure 30:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de la lactate déshydrogénase par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide .....	117
<b>Figure 31:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> seuls sur les valeurs normales de la bilirubine directe .....	120
<b>Figure 32:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de la bilirubine directe par l'isoniazide .....	121
<b>Figure 33:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de la bilirubine directe par l'association isoniazide et rifampicine .....	123
<b>Figure 34:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de la bilirubine directe par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide .....	124
<b>Figure 35:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> seuls sur les valeurs normales de la bilirubine totale .....	127
<b>Figure 36:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de la bilirubine totale par l'isoniazide .....	128
<b>Figure 37:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de la bilirubine totale par l'association isoniazide et rifampicine .....	130
<b>Figure 38:</b> Effet des extraits de <i>A. cordifolia</i> sur les perturbations des valeurs sériques de la bilirubine totale par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide .....	131
<b>Figure 39:</b> (HE x 250) : microphotographie du foie du rat témoin non intoxiqué montrant un parenchyme hépatique normal avec un espace porte et une veine centrolobulaire.....	136
<b>Figure 40</b> (HE x 250): microphotographie du foie du rat ayant reçu l'extrait méthanolique de feuilles de <i>A. cordifolia</i> seul à 800 mg/kg montrant un parenchyme hépatique normal avec un espace porte et une veine centrolobulaire.....	137
<b>Figure 41</b> (HE x 250) : microphotographie du foie du rat ayant reçu l'extrait aqueux de feuilles de <i>A. cordifolia</i> seul à 800 mg/kg montrant un parenchyme hépatique normal avec un espace porte, une veine centrolobulaire et des travées hépatocytaires.....	138

<b>Figure 42</b> (HE x 400) : microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'isoniazide, montrant une nécrose acidophile et un infiltrat inflammatoire.....	140
<b>Figure 43</b> (HE x 400): microphotographie du foie intoxiqué par l'isoniazide et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de <i>A. cordifolia</i> à 800 mg/kg, montrant un espace porte et une disparition de la nécrose induite par l'isoniazide.....	141
<b>Figure 44</b> (HE x 250): microphotographie du foie intoxiqué par l'isoniazide et traité par l'extrait aqueux de feuilles de <i>A. cordifolia</i> à 800 mg/kg, montrant une structure normale...142	142
<b>Figure 45</b> (HE x 250): microphotographie du foie intoxiqué par l'isoniazide et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de <i>A. cordifolia</i> à 400 mg/kg, montrant une structure normale.....	143
<b>Figure 46</b> (HE x 400) : microphotographie du foie intoxiqué par l'isoniazide et traité par l'extrait aqueux de feuilles de <i>A. cordifolia</i> à 400 mg/kg, montrant une stéatose micro et macrovacuolaire.....	144
<b>Figure 47</b> (HE x 400) : microphotographie du foie intoxiqué par l'isoniazide et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de <i>A. cordifolia</i> à 200 mg/kg, montrant une stéatose micro et macrovacuolaire.....	145
<b>Figure 48</b> (HE x 400): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'isoniazide et traité par l'extrait aqueux de feuilles de <i>A. cordifolia</i> à 200 mg/kg, montrant une dilatation sinusoïdale et une stéatose.....	146
<b>Figure 49</b> (HE x 400) : microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide et rifampicine, montrant une nécrose acidophile, une stéatose micro et macrovacuolaire et des lésions de clarification.....	148
<b>Figure 50</b> (HE x 250) : microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide et rifampicine et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de <i>A. cordifolia</i> à 800 mg/kg, montrant des travées hépatocytaires régulières et un espace porte.....	149
<b>Figure 51</b> (HE x 400): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide et rifampicine et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de <i>A. cordifolia</i> à 400 mg/kg, montrant une stéatose minime.....	150

<b>Figure 52</b> (HE x 400): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide et rifampicine et traité par l'extrait aqueux de feuilles de <i>A. cordifolia</i> à 800 mg/kg, montrant des lésions de clarification et de ballonisation.....	151
<b>Figure 53</b> (HE x 400) : microphotographie du foie intoxiqué par l'association isoniazide et rifampicine et traité par l'extrait aqueux de feuilles de <i>A. cordifolia</i> à 400 mg/kg, montrant des foyers de nécrose acidophile, de clarification et de ballonisation avec désorganisation trabéculaire.....	152
<b>Figure 54</b> (HE x 400) : microphotographie du foie intoxiqué par l'association isoniazide et rifampicine et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de <i>A. cordifolia</i> à 200 mg/kg, montrant des foyers de nécrose acidophile, de clarification et de ballonisation avec désorganisation trabéculaire.....	153
<b>Figure 55</b> (HE x 400): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide, montrant une péliose, des foyers de dilatation des capillaires sinusoides et une nécrose acidophile .....	155
<b>Figure 56</b> (HE x 250): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de <i>A. cordifolia</i> à 800 mg/kg, avec une dilatation de la veine centrolobulaire.....	156
<b>Figure 57</b> (HE x 400): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de <i>A. cordifolia</i> à 400 mg/kg, montrant une stéatose.....	157
<b>Figure 58</b> (HE x 400): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide et traité par l'extrait aqueux de feuilles de <i>A. cordifolia</i> à 800 mg/kg, montrant une clarification et une péliose.....	158
<b>Figure 59</b> (HE x 400): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide et traité par l'extrait aqueux de feuilles de <i>A. cordifolia</i> à 400 mg/kg, montrant une stéatose et une péliose.....	159

# *Liste des tableaux*



	Pages
<b>Tableau I</b> : Résumé de la pharmacocinétique des antituberculeux.....	17
<b>Tableau II</b> : Prescription du régime de première ligne avec les formes combinées d'antituberculeux chez l'adulte.....	19
<b>Tableau III</b> : Critères diagnostiques d'une hépatite aiguë toxique.....	33
<b>Tableau IV</b> : Mécanismes moléculaires pouvant aboutir à une lésion cellulaire hépatique toxique.....	34
<b>Tableau V</b> : Caractérisation chimiques des extraits aqueux et méthanolique de <i>A.</i> <i>cordifolia</i> .....	89
<b>Tableau VI:</b> Lésions élémentaires observées avec les antituberculeux et les effectifs de foies .....	134
<b>Tableau VII:</b> Pourcentage de mortalité au cours de l'étude de l'effet hépatoprotecteur des extraits aqueux et méthanolique de feuilles de <i>A. cordifolia</i> .....	161

# *Introduction*

Les traitements à base de plantes occupent de plus en plus une place très importante au sein des populations. Quant à la recherche, elle est basée couramment orientée vers la mise en évidence des propriétés antioxydantes de ces plantes qui pourraient leur permettre d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules (**Iserin, 2001**). Les radicaux libres, en cas de production excessive, sont impliqués dans un certain nombre de processus pathologiques, tels que l'asthme, le cancer, les maladies cardio-vasculaires, la cataracte, le diabète, les maladies inflammatoires, les maladies du foie et les maladies dégénératives (**Dash et al., 2007**). La réduction des radicaux libres par des antioxydants permettrait de réduire le stress oxydatif associé à ces pathologies. Les antioxydants sont des agents qui peuvent inhiber ou retarder l'oxydation d'un substrat oxydable dans une réaction en chaîne (**Alan et Miller, 1996**). De nombreuses plantes se sont révélées antioxydantes. Les propriétés de ces plantes utilisées en médecine traditionnelle ont été attribuées principalement à la présence de polyphénols (**Shiney et Ganesh, 2012**). Cette activité antioxydante pourrait contribuer à conférer un effet hépatoprotecteur à ces plantes. Le foie est en effet le principal organe impliqué dans le métabolisme et la détoxification pour l'excrétion de diverses substances endogènes et exogènes (**Santhosh et al., 2007; Akindele et al., 2010**). Cette fonction expose le foie à de nombreuses attaques y compris une attaque par les xénobiotiques médicamenteux. L'hépatotoxicité des médicaments est une cause majeure d'hépatite. Dans certains cas, cette hépatite progresse vers une cirrhose irréversible et peut être associée à un cancer du foie (**Wang et al., 2009**). Parmi les médicaments hépatotoxiques, les antituberculeux présentent un risque majeur car le foie constitue le principal site de leur biotransformation (**Santhosh et al., 2007**).

Les radicaux libres étant couramment impliqués dans les mécanismes d'agressions, réalisant une nécrose hépatique (**Georgieva et al., 2004 ; Santhosh et al., 2007 ; Pramod et al., 2008**), l'administration de substances antioxydantes pourraient contribuer à limiter les dommages oxydatifs liés à ces hépatites médicamenteuses.

La médecine conventionnelle fournissant à l'heure actuelle très peu de médicaments qui pourraient protéger efficacement le foie contre les hépatites induites par les médicaments, de nombreux travaux scientifiques ont été menés à la recherche de substances naturelles hépatoprotectrices. A cet effet, plusieurs plantes médicinales ont fait l'objet d'investigations. Ce sont, par exemple *Trichilia roka* (**Germano et al., 2004**), *Hemidesmus indicus* (**Prabakan et al., 2004**), *Cassia fistula* (**Bhakta et al., 2004**), les légumineuses (**Wu et al., 2004**), *Acanthus ilicifolius* (**Babu et al., 2004**) et *Alchornea cordifolia* (**Olaleye et al., 2006 ; Kouakou-Siransy et al., 2010 ; Osadebe et al., 2012**).

*Alchornea cordifolia* est une plante couramment utilisée en médecine traditionnelle africaine pour ses nombreuses propriétés. Elle est utilisée entre autres dans le traitement des troubles gastro-intestinaux, du paludisme, des infections des voies respiratoires et urinaires, et comme anti-inflammatoire dans de nombreuses affections telles que les douleurs dentaires, l'arthrite et les rhumatismes (**Adjanohoun, 1994 ; Adjanohoun et Aké Assi, 1979**).

De nombreux travaux scientifiques ont étudié les propriétés anxiolytiques (**Kamenan et al., 2013**) et antipyrétiques (**Effo et al., 2013**) des feuilles de *A. cordifolia*.

Les propriétés antioxydantes d'un extrait aqueux, d'un extrait méthanolique, d'un extrait éthanolique et d'un extrait acétate éthyle de *A. cordifolia* ont été étudiées (**Olaleye et al., 2006 ; Olaleye et Rocha, 2007 ; Kouakou-Siransy et al., 2010; Osadebe et al., 2012**). Cette activité antioxydante de *Alchornea cordifolia* est liée à son pouvoir de piégeage des radicaux libres (**Lin et Huang, 2002; Repetto et Llesuy, 2002**) pouvant contribuer à lui conférer un effet hépatoprotecteur (**Olaleye et al., 2006 ; Olaleye et al., 2007 ; Osadebe et al., 2012**). Les propriétés hépatoprotectrices des extraits méthanolique et éthanolique ont également été recherchées dans un modèle animal d'hépatotoxicité telle que l'hépatotoxicité induite par le paracétamol à forte dose ou par le tétrachlorure de carbone (**Olaleye et al., 2006 ; Olaleye et al., 2007; Jacob et al., 2014**). Cependant il est connu que les antituberculeux sont également à l'origine d'hépatotoxicité.

### **Problématique :**

Les médicaments antituberculeux majeurs, en l'occurrence l'isoniazide (INH), la rifampicine (RIF) et le pyrazinamide (PZA) sont responsables, de nombreux effets indésirables hépatiques (**Blumberg et al., 2003; Yee et al., 2003**). Ces effets sont de nature cytolytique et se traduisent par une augmentation des transaminases sériques (**Nolan et al., 1999; Shakya et al., 2004**). La peroxydation des lipides endogènes pourrait être un facteur majeur dans l'action cytotoxique de l'INH ou de l'association INH+RIF. Les dommages oxydatifs des antituberculeux sont généralement attribués à la formation d'espèces oxygénées très réactives qui stimulent la peroxydation des lipides et provoquent la destruction des membranes cellulaires hépatiques (**Georgieva et al., 2004; Santhosh et al., 2007**). La problématique d'utilisation des antituberculeux montre en effet des aspects d'hépatotoxicité. **Aouam et al. (2007)** ont rapporté des troubles hépatiques chez 10 à 20% des utilisateurs en Tunisie, de l'INH à dose thérapeutique quand **Blumberg et al. (2003)** rapportaient des perturbations des marqueurs hépatiques chez

0,5 à 2% des malades sous INH aux USA. Lorsque la RIF a été associée à l'INH, les perturbations hépatiques ont touché un plus grand nombre de malades (**Aouam et al., 2007**). Dans l'étude de **Blumberg et al. (2003)**, la fréquence des hépatites a été majorée à 2,5 à 6% chez les malades ayant associé l'INH à la RIF.

En Côte d'Ivoire, une étude réalisée au centre antituberculeux d'Adjamé a montré une perturbation des transaminases chez 2,8% des patients sous traitement (**Coulibaly, 2004**). Les travaux de **Assagou (2015)** ont révélé une cytolysse hépatique légère chez 6,4% des patients sous traitement antituberculeux de deuxième ligne. Les médicaments impliqués sont l'isoniazide, le pyrazinamide, les thionamides et les fluoroquinolones (**Perriot et al., 2011**).

Ce travail avait pour objectif général d'évaluer l'activité hépatoprotectrice d'un extrait aqueux et d'un extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* au cours de l'hépatotoxicité induite par les médicaments antituberculeux chez le rat.

Les objectifs spécifiques étaient de :

- Rechercher l'activité anti oxydante *in vitro* des extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia*;
- Identifier les groupes phytochimiques présents dans les extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* ;
- Déterminer l'effet des extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* sur la perturbation des marqueurs biochimiques de l'hépatotoxicité induite par les antituberculeux chez le rat ;
- Etudier les modifications histologiques des antituberculeux sur le foie des rats et leurs évolutions sous les extraits aqueux et méthanoliques de feuilles de *A. cordifolia*.

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

- Une première partie consacrée à une revue bibliographique sur *A. cordifolia*, la pharmacologie des antituberculeux, le foie, le stress oxydatif et les antioxydants;
- Une deuxième partie présentant le matériel et les méthodes utilisés dans ce travail, les résultats obtenus et les commentaires qu'ils suscitent, une conclusion et des perspectives.

# **I. Revue bibliographique**

**I.1. PRESENTATION DE ALCHORNEA CORDIFOLIA (Schumach. &Thonn.) Müll.  
Arg. (Euphorbiaceae)**

**I.1.1. Botanique**

**I.1.1.1. Systématique de *Alchornea cordifolia* (Crete, 1965)**

**Règne** : Eucaryotes

**Embranchement** : Spermaphytes

**Sous embranchement** : Angiospermes

**Série** : Thalamiflores

**Sous série** : Meristememes

**Classe** : Dicotylédones

**Sous classe** : Dialypétales

**Ordre** : Euphorbiales

**Famille** : Euphorbiaceae

**Sous famille** : Crotonoïdes

**Genre** : *Alchornea*

**Espèce** : *cordifolia*

**I.1.1.2 Noms vernaculaires (Crete, 1965)**

La plante étudiée est connue sous plusieurs noms : *Kimbusila* en République Démocratique du Congo ; *Christmas bush* ou *Ipa* au Nigeria ; *Ira* au Sénégal ; *Koy iran*, *Gargasaki*, ou *Bolonta* en Guinée. Les bambaras la connaissent sous le nom de *Ko gira*, *Kounaninkala*, *Dunféké*, *Konossasa*, *Moridaba* et les Ashanti sous le nom de *Yama*.

En Côte d'Ivoire elle est appelée *Vidjo* par les Abbey, *Djeca* par les agni et baoulé, *N'dzé* par les attié, *Féllémé* par les gouro et *Bourounei* par les bété.

### **I.1.1.3 Description botanique**

C'est un petit arbre ou arbuste plus ou moins sarmenteux parfois grimpant de 4 à 5 m de haut, aux branches dressées partant dès la base, au port évasé et retombant. L'écorce est lisse, grise à tranche brun rougeâtre ; le rameau est pubescent à glabre, gris à marron (**Arbonnier, 2002**).

Les feuilles sont alternes, longuement pétiolées (pétiole de 5 à 15 cm), largement ovales de 10 à 28 cm de long sur 6,5 à 16,5 cm de large, cordées à la base, acuminées au sommet, à bords parfois entiers mais le plus souvent dentées, finement pubescentes dessous avec des poils étoilés devant plus ou moins glabre. Le limbe est triverné avec quatre glandes à la base sur la face inférieure, (**Arbonnier, 2002**).

Plante dioïque, les fleurs femelles de gris à verdâtres sont très petites et en grappes pendantes sur les branches ou sur le tronc d'environ 25 cm. Les fleurs mâles sont en panicule axillaire de 8 à 36 cm de long et de couleur verte (**Arbonnier, 2002**).

Les fruits sont capsulaires à deux ou trois loges plus ou moins aplaties d'environ 1 cm de diamètre et couverts de fins poils étoilés, plus ou moins rougeâtres à maturité, très caractéristiques à cause des deux très longs styles persistants à l'extrémité, laissant apparaître des graines rouges (**Arbonnier, 2002**) (**figure 1**).

### **I.1.1.4. Habitat et répartition géographique**

*Alchornea cordifolia* est une espèce de formation secondaire répandue dans toute l'Afrique intertropicale au Sud du Sahara. Elle a été décrite pour la première fois en 1865 par Müller Argoviensis Johannes. On la rencontre surtout dans les formations anthropiques et dans les galeries forestières, au bord des rivières et des marécages (**Arbonnier, 2002**). En Côte d'Ivoire, on la trouve abondamment depuis la forêt jusqu'à la savane.





**Figure 1** : *Alchornea cordifolia* (Müller Argoviensis Johannes (1865), *image prise sur internet*)



**Figure 2** : Feuilles de *Alchornea cordifolia* (Müller Argoviensis Johannes (1865), photographiée par nous même)

### **I.1.2. Utilisations en médecine traditionnelle**

*Alchornea cordifolia* est largement utilisée en Afrique, seule ou en association avec d'autres plantes. Toutes les parties de la plante peuvent être utilisées, cependant, les feuilles sont les plus utilisées ( **Adewunmi et al., 2001; Marva et al, 2007**). Toutes ces parties de la plante sont utilisées soit à l'état frais, soit à l'état sec.

Les feuilles ou les tiges feuillées, sous forme d'une infusion ou mâchées frais, sont utilisées pour leurs effets sédatifs, antispasmodiques et pour traiter les problèmes respiratoires (**Osadebe et Okoye, 2003**).

Sous forme de décocté, les feuilles sont utilisées en Côte d'Ivoire, au Burkina et en Centrafrique comme antidysentérique (**Kerharo et Bouquet, 1950**). Au Ghana on l'utilise pour soulager les maux de ventre, aussi comme emménagogue et hémostatique et surtout pour traiter la dermatite. Les tribus de la région du delta du Niger et celles de la République de Guinée utilisent les feuilles pour traiter les maladies sexuellement transmissibles (**Ajibesin et al., 2017**). Le décocté des feuilles est également utilisé par les herboristes yoruba pour calmer les convulsions (**Adeneye et al., 2014**). En Côte d'Ivoire, les guérisseurs traditionnels utilisent habituellement les feuilles et l'écorce de tige pour traiter le paludisme et l'hypertension artérielle ( **Yapi et al., 2000; Ranson al, 2011**). Aussi, le décocté des racines ou des feuilles est appliqué dans le vagin pour arrêter les hémorragies du post-partum et pour traiter les vaginites (**Okoye et al., 2011**).

Le décocté des feuilles et de l'écorce de tige est utilisé dans le traitement de la diarrhée, de la dermatite et des maux de dents en Sierra Leone et au Cameroun (**Betti al., 2013**).

La poudre de feuilles appliquée localement produirait une rapide cicatrisation des plaies et ulcères (**Kerharo et Bouquet, 1950**). L'écorce du tronc, selon le même auteur, est utilisée en association avec celle de *Symphonia lobulifera* (Clusiaceae), comme apéritif.

Les feuilles, les racines, et les rameaux sont utilisées sous forme de décocté pour traiter les caries après un lavage buccal (**Idu et al., 2009**). Lorsqu'elles sont fumées seules ou en combinaison avec le tabac, les feuilles guériraient la toux (**Ishola et al., 2012**).

Les feuilles et les tiges sont utilisées au Sénégal pour traiter certains cas de pneumonies et tachycardies (**Kapnang-Jepang, 1997**).

Les feuilles séchées sont utilisées pour atténuer la prostatite (**Emmanuel, 2010**). L'écorce de racine est appliquée comme antidote du venin de serpent (**Neuwinger, 2000**). L'écorce de la tige et les graines sont utilisées pour faciliter l'accouchement tandis que les feuilles sont utilisées comme abortif et aussi pour le traitement du diabète. Les racines seraient utilisées pour soigner la lèpre (**Abbiw, 1990**).

Une infusion de feuilles de *Alchornea cordifolia*, en association avec d'autres plantes est utilisée en lavement et bain de vapeur contre les fortes fièvres, tandis que les feuilles jeunes enroulées sont utilisables en suppositoire. La décoction des feuilles est aussi appréciée en bain de bouche, trois fois par jour (**Aké-Assi et al., 1985**).

*Alchornea cordifolia* est également utilisé traditionnellement dans le traitement des douleurs inflammatoires (**Adewunmi et al., 2001**), pour le traitement des pathologies génito-urinaires, ainsi que pour l'amélioration de la fécondité (**Ajibade et Olayemi, 2015**).

Dans la médecine vétérinaire, une infusion de feuilles ou de racines est donnée au bétail pour traiter la trypanosomiase (**Kerharo et Adam, 1974**).

### **I.1.3. Constituants chimiques**

Des équipes de recherche ont analysé les constituants chimiques de *Alchornea cordifolia* et ont pu identifier:

- **Des acides gras** : l'huile essentielle obtenue à partir des feuilles de *A. cordifolia* est dominée par des matières volatiles, (4,78%), y compris le 1-heptatriacontanol; l'octène-3-ol et le farnésanol ainsi que des hydrocarbures saturés à longue chaîne incluant le nonacosane et le 3-Octadécycloxy propyle (**Ogunbamila et Samuelsson, 1989**) ;
- **Des acides phénoliques** : un très grand nombre d'acides phénoliques a été isolé dont les majeurs sont l'acide éllagique et l'acide gallique (**Ogunbamila et Samuelsson, 1989**) ;
- **Des flavonoïdes** : la quercétine, l'hyperine et la guaijaverine ont été isolées dans les feuilles (**Ajali, 2000**). De nouveaux flavonoïdes, à savoir 1-O-galloyl-6-O-luteoyl-β-D-glucopyranoside, la myricentine-3-O-β-D-glucopyranoside, la myricentine-3-O-β-D-galactopyranoside, la myricentine-3-O-α-L-

rhamnopyranoside, la quercétine-3-O-bêta - D-glucopyranoside ont été isolés à partir de l'extrait méthanolique des feuilles;

- **des stéroïdes** : la présence de bêta-sitostérol et daucostérol a été signalée dans l'écorce de racine de *A. cordifolia* (**Mavar-Manga et al., 2008**). Deux stéroïdes à savoir le stigmastérol et Stigmasta-4,22-dien-3-one ont récemment été mis en évidence dans la tige (**Osadebe et Okoye, 2003**);
- **des terpénoïdes** : la présence de mono-, sesqui- et triterpénoïdes dans des feuilles de *A. cordifolia* a été rapportée (**Okoye et al., 2011**). En 2016, une étude a montré que l'huile essentielle de *A. cordifolia* était dominée par de multiples terpénoïdes, y compris le terpinolène, la calacorène, l'isogéraniol, le bicycliermacrène, le Nerol (**Essien et al., 2015**)
- **des alcaloïdes** : une imidazopyrimidine, à savoir l'alchornéine et un alcaloïde guanidine nommé la yohimbine ont été isolés (**Lamikanra et al., 1990**). Dans une autre étude, deux autres alcaloïdes guanidines le N1, N2-diisopenténylguanidine et le N1, N2, N3-triisopenténylguanidine, et un indole alcaloïde appelé indométacine ont également été isolés à partir des feuilles et de l'écorce de la tige (**Mavar-Manga et al., 2008**).
- **Des tanins** : **Bennet (1950)** a mentionné la présence de tanins à un taux de 10 % dans les feuilles et 11 % dans les écorces de tiges.

#### **I.1.4. Activités pharmacologiques**

##### **I.1.4.1. Activités antiparasitaires**

L'activité antiplasmodiale des extraits de *A. cordifolia* a été examinée sur trois souches de *Plasmodium falciparum* FcB1-Colombia et FcM29-Cameroun (chloroquino-résistantes) et une souche nigériane (chloroquino-sensible).

Des extraits éthanoliques et de pentane ont été examinés. Les concentrations inhibant 50% de la croissance des parasites (CI50) sont comprises entre 0,35 et 43,40µg/ml (**Mustofa et al., 2000**).

La spécificité de l'extrait éthanolique de *A. cordifolia* sur le cycle érythrocytaire du parasite a été déterminée. L'extrait éthanolique a démontré une grande activité sur la phase de transition de trophozoïte au stade de schizonte (**Mustofa et al., 2000**).

#### **I.1.4.2- Activités antibactériennes**

Des études menées sur l'activité antimicrobienne de la plante ont montré que les feuilles de *A. cordifolia* présentent un pouvoir antimicrobien moyen vis-à-vis de *Escherichia coli*, *Citrobacta diversus* et une faible activité vis-à-vis de *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri* et *Staphylococcus aureus*.

D'autres études ont démontré que l'écorce de tige possède une activité antimicrobienne sur *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* (**Ebi, 2001**).

Des études réalisées sur les bactéries aérobies facultatives et anaérobies ont démontré que l'extrait hydro-alcoolique de *A. cordifolia* possède un spectre d'activité très large et les résultats ont suggéré qu'on puisse utiliser cet extrait dans le traitement de diverses infections microbiennes (**Okeke et al., 1999**).

L'extrait méthanolique s'est également montré actif sur *Enterobacter aerogenes*, et, *Providencia stuartii* (**Mambe et al., 2016**).

Il a été démontré au Nigeria que les extraits de *A. cordifolia* ont montré une activité inhibitrice significative contre les bactéries pathogènes, dans certains cas, l'activité antibactérienne était comparable à celle de l'ampicilline et de la gentamicine.

#### **I.1.4.3. Activité antifongique**

La feuille de *A. cordifolia* a montré une activité antifongique (**Kad'Abo et Ashidi, 1999**). Les extraits aqueux et éthanoliques de *A. cordifolia* posséderaient une activité antifongique sur *Fusarium verticillioides* et *Macrophomina phaseolina*, en plus l'extrait aqueux s'était montré plus actif que par l'extrait éthanolique attestant l'utilisation traditionnelle du décocté dans le traitement de certaines infections fongiques (**Enikuomehin et Oyedeji, 2010**). Deux champignons *Candida albicans* et *Aspergillus niger* se sont montrés sensibles au pouvoir antifongique de l'huile essentielle des fruits de *A. cordifolia* (**Essien et al., 2015**).

#### **I.1.4.4. Activité anti-inflammatoire**

Le potentiel anti-arthritique de *Alchornea cordifolia* a été confirmé à travers le test de l'œdème de la patte du rat (**Adeyemi et al., 2008**).

#### **I.1.4.5. Activité hépatoprotectrice**

Une étude de l'effet hépatoprotecteur de *A. cordifolia* a montré que l'extrait éthanolique des feuilles de *A. cordifolia* était protecteur du foie vis-à-vis de l'hépatotoxicité induite par l'administration du paracétamol à forte dose chez les rats (**Jacob et al., 2014**).

L'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* s'est également montré hépatoprotecteur contre les dommages provoqués par le tétrachlorure de carbone chez les souris (**Osadebe et al., 2012**).

#### **I.1.4.6. Activité antioxydante**

**Kouakou-Siransy et al. (2010)** ont montré que l'extrait aqueux et l'extrait acétate éthyl des feuilles de *A. cordifolia* inhibent l'anion superoxyde. Cette activité antioxydante de *A. cordifolia* s'étend à d'autres radicaux libres tels que le radical DPPH (**Osadebe et al., 2012**).

#### **I.1.4.7. Activité cicatrisante**

Une activité cicatrisante a été observée avec les extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *A. cordifolia* chez les rats (**Agyare et al., 2014**).

#### **I.1.4.8. Activité antidiarrhéique**

*A. cordifolia* posséderait une activité antidiarrhéique contre la diarrhée induite par de l'huile de ricin chez la souris (**Agbor et al., 2004**).

#### **I.1.4.9. Activité anti dépressive**

L'activité antidépressive des feuilles a été prouvée à partir du test de natation forcée. Ce qui justifie l'utilisation de cette plante dans le traitement des troubles neurologiques et psychiatriques (**Adeneye et al., 2014**).

#### **I.1.4.10. Activité anti drépanocytaire**

L'extrait méthanolique des feuilles de *A. cordifolia* a normalisé les érythrocytes sanguins de la drépanocytose dans l'étude de **Mpiana et al. (2007)**.

#### **I.1.4.11. Activité anti VIH**

L'extrait aqueux des graines de *A. Cordifolia* a inhibé l'inversion de la VIH-1 transcriptase, ce qui justifie son activité anti VIH *in vitro* (Ayisi et Nyadedzor, 2003).

#### **I.1.4.12. Activité anxiolytique**

Kamenan *et al.* (2013) ont prouvé le potentiel anxiolytique des feuilles de *A. Cordifolia*.

#### **I.1.4.13. Activité antidiabétique**

*A. cordifolia* est utilisée traditionnellement pour le traitement du diabète sucré. En expérimentation une fraction n-butanol des feuilles a montré un effet antidiabétique dans le diabète induit par la streptozotocine chez les rats (Mohammed *et al.*, 2013).

#### **I.1.4.14. Activité antipyrétique**

L'activité antipyrétique d'un extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* a été démontré par nos précédents travaux (Effe *et al.*, 2013).

### **I.2. PHARMACOLOGIE DES MEDICAMENTS ANTITUBERCULEUX MAJEURS**

Les antituberculeux sont des médicaments antibactériens utilisés pour le traitement de la tuberculose. La tuberculose est une maladie infectieuse et contagieuse, causée par des bacilles du genre *Mycobacterium* due au complexe tuberculosis. Le complexe tuberculosis regroupe *Mycobacterium tuberculosis hominis* encore appelé bacille de Koch (BK), *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis* et *Mycobacterium canetti*. Le complexe *Mycobacterium avium intracellulare* est responsable de la survenue de la mycobactériose atypique pulmonaire chez les personnes infectées par le VIH.

Il existe plusieurs formes de tuberculose dont la tuberculose pulmonaire (80% des cas) et la tuberculose extra-pulmonaire qui peut atteindre les ganglions lymphatiques, la plèvre, les os, les articulations, le tractus uro-génital, le système nerveux, l'intestin, le médiastin et le péritoine.

La tuberculose est curable par un traitement antibiotique bien conduit. La stratégie thérapeutique est bien standardisée et fait appel à quatre antibiotiques majeurs (l'isoniazide, la rifampicine, le pyrazinamide et l'ethambutol). Elle peut relever d'autres médicaments plus anciens ou de nouvelle génération qui sont utilisés associés à des antituberculeux majeurs en



cas de tuberculose résistante, multirésistante ou en cas d'intolérance aux médicaments usuels (Perriot et *al.*, 2011).

### **I.2.1. Classification des médicaments antituberculeux majeurs**

Quatre antituberculeux sont utilisés en première ligne (WHO, 1997):

- L'isoniazide et la rifampicine, dits antituberculeux majeurs car ils sont bactéricides. Leur bonne diffusion leur permet d'atteindre les bacilles intra et extracellulaires. La résistance naturelle du bacille tuberculeux à ces médicaments est relativement rare ( $1/10^8$  pour la rifampicine et  $1/10^5$  pour l'isoniazide). L'administration simultanée de ces 2 antibiotiques permet une réduction rapide du nombre de BK extracellulaires et donc une négativation rapide des expectorations ;
- Le pyrazinamide, efficace sur les bacilles intracellulaires, permet d'abrèger la durée du traitement ;
- L'éthambutol est bactériostatique.

### **I.2.2. Pharmacocinétique**

Les antituberculeux majeurs, administrés par voie orale, présentent une absorption rapide et importante (biodisponibilité > 80%), une large diffusion tissulaire. Ils sont soit métabolisés fortement par le foie avec formation de métabolites actifs, voire réactifs (isoniazide, rifampicine), soit pas du tout ou faiblement métabolisés (pyrazinamide, éthambutol). Leur excrétion est essentiellement rénale ou biliaire.

Les paramètres pharmacocinétiques des antituberculeux majeurs sont résumés dans le **tableau I** ci-dessous :

**Tableau I** : Résumé de la pharmacocinetique des antituberculeux majeurs (**Duroux, 1979**).

<b>Molécule</b>	<b>Absorption</b>	<b>Distribution</b>	<b>Métabolisme</b>	<b>Excrétion</b>
<b>Isoniazide</b>	Per os Biodisponibilité proche de 100%	Diffusion facile dans les tissus et les liquides biologiques Passage placentaire et passage dans le lait maternel	Hépatique Polymorphisme génétique -acétyleurs lents -acétyleurs rapides Métabolite hépatotoxique : hydrazine	Rénale -10 à 30% sous forme inchangée -70% sous forme de métabolites $T_{1/2}$ : 75 - 170 h
<b>Rifampicine</b>	Per os Très bonne biodisponibilité	Important volume de distribution Concentrations tissulaire >> concentrations plasmatiques Passage placentaire, faible passage dans le lait Passage dans le LCR en cas d'inflammation Fixation protéique : 80-85%	Hépatique Inducteur enzymatique Puissant Métabolite actif : désacétyl-rifampicine	Principalement biliaire (80%) $T_{1/2}$ : 3 - 6 h
<b>Pyrazinamide</b>	Per os Biodisponibilité proche de 100%	Diffusion facile dans les tissus et les liquides biologiques Fixation protéique : 5%	Hépatique	Rénale Elimination essentiellement sous forme de métabolite Elimination compétitive avec l'acide urique $T_{1/2}$ : 6-8 h
<b>Ethambutol</b>	Per os Biodisponibilité de 80%	Diffusion facile dans les tissus et les liquides biologiques Fixation protéique : 40%	Hépatique	Rénale, élimination à 80% sous forme inchangée $T_{1/2}$ : 4-10 h

### **I.2.3. Indications et schéma thérapeutique**

Le traitement de nouveaux cas de tuberculose utilise les molécules suivantes : la rifampicine [R], l'isoniazide [H], le pyrazinamide [Z] et l'ethambutol [E]. En 2002, la Côte d'Ivoire a adopté le protocole 2RHZE/4RH au détriment du protocole 2RHZ/4RH. Le protocole de retraitement a été conservé avec la streptomycine (S) comme nouvelle molécule antituberculeuse conduit selon la séquence 2RHZES/1RHZE/5RHE (**Kouao-Bilé, 1991**).

Le schéma de traitement des nouveaux cas comporte :

- Une phase initiale ou intensive de 2 mois de quadrithérapie (2RHZE). Elle sert à détruire rapidement les bacilles de *M. tuberculosis*, à prévenir l'apparition de bacilles résistants et à faire disparaître la contagiosité ;
- Une phase d'entretien de 4 mois associant les 2 antituberculeux (4RH).

La posologie de ces antituberculeux en fonction du poids, figure dans le **Tableau II**.

**Tableau II :** Régime de première ligne avec les formes combinées d'antituberculeux chez l'adulte pour un nouveau cas (**Kouao-Bilé, 1991**).

Durée du traitement (mois)	Médicaments (forme galénique, dosage)	Nombre de comprimés par prise quotidienne selon la tranche de poids (kg)			
		30-39	40-54	55-70	> 70
2 mois pour la phase initiale intensive <b>(2RHZE)</b>	{RHZE} forme combinée : (R150mg + H75mg + Z400mg + E 275mg) comprimé	2	3	4	5
4 mois pour la phase de consolidation <b>(4RH)</b>	{RH} forme combinée (R150mg + H 75mg) comprimé	2	3	4	5

#### **I.2.4. Effets indésirables et interactions médicamenteuses des antituberculeux majeurs**

Les médicaments antituberculeux peuvent être responsables de nombreux effets indésirables (**Blumberg et al., 2003 ; Yee et al., 2003**).

##### **I.2.4.1. l'isoniazide**

L'isoniazide a des effets toxiques, principalement hépatiques et neurologiques. Leur fréquence de survenue est évaluée à 5% (**Yee et al., 2003**). L'hépatotoxicité due à l'isoniazide est potentiellement mortelle. Elle est majorée avec l'association à la rifampicine (**Blumberg et al., 2003**)

##### **I.2.4.1.1. les effets indésirables hépatiques**

Ils sont généralement imprévisibles, de nature cytolitique avec augmentation des transaminases sériques (**Gonzales et Dautzenberg, 1996; Mallat, 1999; Nolan et al., 1999; Shakya et al., 2004**). Ils s'observent chez 10 à 20% des malades sous isoniazide seul. Cette fréquence est majorée en cas d'association avec la rifampicine (**Blumberg et al., 2003 ; Aouam et al., 2007**). Une hépatite clinique survient chez 0,5 à 2% des patients sous INH et chez 2,5 à 6% d'entre eux en cas d'association à la RIF (**Blumberg et al., 2003**).

Le phénotype acétyleur lent est associé à un risque élevé de toxicité hépatique à la prise d'INH. Le dosage thérapeutique de la concentration plasmatique de l'isoniazide permet la meilleure adaptation posologique.

##### **I.2.4.1.2. les effets indésirables neurologiques**

Des neuropathies périphériques dose-dépendantes touchent 0,2% des patients (**Blumberg et al., 2003**). Elles se localisent essentiellement aux membres inférieurs dans un tableau de polynévrite. Elles sont partiellement liées à un déficit en vitamine B6, l'INH facilitant l'excrétion urinaire du pyridoxal. Un apport de pyridoxine permet de réduire leur risque de survenue (**Binita et al., 1995 ; Seichen et al., 2006 ; Aouam et al., 2007**). Les neuropathies sous isoniazide sont fréquentes chez les sujets acétyleurs lents, les alcooliques, les dénutris, les diabétiques, les insuffisants rénaux, comme chez les femmes enceintes ou allaitantes, et chez les patients sous antirétroviraux. Des névrites optiques rétrobulbaires (**Boulanouar et al., 1995 ; Yee et al., 2003**) peuvent survenir dans les deux premiers mois du traitement. Elles

associent une dyschromatopsie (rouge/vert), une atteinte du champ visuel (scotome central), des perturbations électro physiologiques puis une baisse de l'acuité visuelle.

#### **I.2.4.1.3. Autres effets indésirables**

##### **Manifestations cutanées**

De multiples manifestations cutanées ont été signalées à type d'érythème relevant d'une hypersensibilité immédiate (Crook, 2003), d'acné, de photosensibilisation (Yee et al., 2003). La pellagre par carence en vitamine PP liée à la prise d'INH chez les sujets acétyleurs lents associe un érythème pigmenté, un état dysthymique et une diarrhée (Tatsuyuki et al., 1999)

##### **Manifestations hématologiques**

Une leucopénie est possible lors du traitement antituberculeux, parfois associée à une neutropénie (Yee et al., 2003); lorsque cette dernière est sévère, elle nécessite l'interruption du traitement, voire de mesures thérapeutiques spécifiques (Nagayama et al., 2004) ; les anémies hémolytiques sont des complications exceptionnelles (Cormican et al., 2004)

##### **Manifestations digestives**

Des gastralgies, nausées, vomissements, sécheresse buccale et troubles du transit sont possibles. Ce médicament pourrait être à l'origine de pancréatites aiguës qui surviennent dans les trois premiers mois du traitement (Chow et al., 2004) et doivent conduire à l'arrêt définitif du médicament compte tenu du risque de récurrence lors de ré-administration. Une fièvre isolée (Gabrail, 1987), une gynécomastie (Morrone et al., 2008, Carg et al., 2009), un syndrome de Cushing (Yee et al., 2003) peuvent être induits par la prise d'INH.

#### **I.2.4.1.4. Interactions médicamenteuses**

De multiples interactions médicamenteuses sont décrites. L'INH est un inhibiteur des cytochromes P450. Le catabolisme hépatique de nombreux médicaments (antivitamine K, kétoconazole, carbamazépine, stavudine, phénytoïne, etc.) pourra être diminué et leur concentration plasmique augmentée par la prise concomitante d'INH, ce qui peut accroître leur toxicité. L'hépatotoxicité due à l'INH est majorée par l'association à la RIF qui est un puissant inducteur enzymatique favorisant l'accumulation de métabolites hépatotoxiques. En revanche, l'INH ne modifie pas le métabolisme de la RIF (Altam et al., 1993 ; Aouam et al., 2007).

### **I.2.4.2. la rifampicine**

La RIF est un antituberculeux majeur généralement bien toléré. Les effets indésirables surviennent chez environ 6% des sujets traités (**Blumberg et al., 2003**) qu'il s'agisse de manifestations toxiques ou de réactions immunoallergiques. Les événements indésirables graves relèvent pour l'essentiel des traitements discontinus et associent une insuffisance rénale aiguë, un état de choc et une anémie hémolytique (**Aouam et al., 2007**).

#### **I.2.4.2.1. Effets indésirables hépatiques**

L'hépatotoxicité intrinsèque du médicament est faible. Une augmentation précoce et modérée des transaminases est notée dans 10 à 15% des cas (**Godel et Marchou, 2007**), ainsi qu'une cholestase hépatique légère. Quatre facteurs favorisent ces manifestations : un âge avancé, l'éthylisme chronique, une hépatopathie évolutive, l'association de médicaments hépatotoxiques dont l'INH (**Mallat, 1999 ; Shakya et al., 2004 ; Godel et Marchou, 2007**).

#### **I.2.4.2.2. Effets digestifs**

La RIF est à l'origine de nausée, vomissements, douleurs abdominales voire de rare intolérance digestive (**Blumberg et al., 2003 ; Yee et al., 2003 ; Godel et Marchou, 2007**). Des cas de colites pseudomembraneuses (**Kim et Park, 2004 ; Chen et al., 2009**) et à éosinophiles (**Lange et al., 1994**) induites par la prise de RIF ont été décrits.

#### **I.2.4.2.3. Réactions d'hypersensibilité immédiate**

Il s'agit de réactions cutanées urticariennes, d'œdème, ailleurs de bronchospasme, hypotension, voire de choc anaphylactique (**Martinez et al., 1999 ; Fenniche et al., 2003**). Un bilan allergologique spécialisé s'impose mais il est difficile car les tests cutanés ne sont pas validés et le dosage des Ig E spécifiques n'est actuellement pas commercialisé. L'accoutumance à cette molécule est possible en milieu hospitalier spécialisé et donne de bons résultats (**Martinez et al., 1999**).

#### **I.2.4.2.4. Interactions médicamenteuses**

La RIF est un puissant inducteur enzymatique (**Godel et Marchou, 2007**). Elle interagit avec les cytochromes P450 et provoque le raccourcissement de la demi-vie de nombreux médicaments, ce qui induit une baisse de leur efficacité (œstroprogestatifs et progestatifs,

antivitamines K, cyclosporine, tacrolimus, digitoxine, quinidine, thyroxine (T4) et triiodothyronine (T3), tolbutamide, théophylline, sulfamides hypoglycémisants, corticoïdes, bêtabloquants, méthadone), tandis que le probénécide et les benzodiazépines modifient la concentration plasmatique de la RIF (**Gonzales et Dautzenberg, 1996 ; Aouan et al., 2007**).

La RIF diminue les concentrations plasmatiques des inhibiteurs de protéase (IP) et des inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INN). Elle est donc contre-indiquée avec les IP et les INN. Cependant, l'utilisation de la RIF avec l'efavirenz est possible, sous réserve d'une augmentation de la posologie de celui-ci à 800 mg au lieu de 600 mg et du contrôle régulier des concentrations plasmatiques. L'utilisation de certains IP (saquinavir, ritonavir) est possible avec la RIF (**Dautzenberg et al., 2004 ; Panomvana et al., 2004**).

L'association rifampicine-antifongiques azolés (kétoconazole) diminue la biodisponibilité des deux médicaments et réduit leur efficacité (**Panomvana et al., 2004**). La RIF est rouge orangée, elle colore les urines ; son excrétion par les glandes lacrymales peut colorer les lentilles de contact (**Jouveshomme et Dautzenberg, 1997**).

#### **I.2.4.3. Le pyrazinamide**

Cet antituberculeux d'action intracellulaire s'avère beaucoup mieux toléré à une posologie inférieure à 30 mg/kg par jour.

##### **I.2.4.3.1. Effets indésirables hépatiques**

L'hépatite cytolytique est l'effet secondaire le plus sérieux. Elle est dose dépendante mais la seule responsabilité du PZA est difficile à affirmer compte tenu de l'habituelle association du médicament à l'INH et à la RIF. La fréquence de l'hépatite est évaluée de 0,5 à 10% pour une durée de traitement de deux mois et selon les associations médicamenteuses (**Aouam et al., 2007**). Des cas d'hépatites fulminantes mortelles ont été rapportés en cas de traitement d'infections tuberculeuses latentes par association RIF+PZA (**Castro et al., 2003**). Un cas d'hépatite granulomateuse faisant suite à l'administration du PZA a été décrit (**Knobel et al., 1997**).



#### **I.2.4.3.2. Autres effets indésirables**

##### **Manifestations articulaires**

Des arthralgies sont signalées dans 1 à 7% des cas à des doses inférieures à 2 g par jour (**Gonzales et Dautzenberg, 1996**). Elles paraissent être en rapport avec l'hyperuricémie induite par la résorption dans le tube contourné distal du rein de l'acide urique et à son absence de resécration conduisant à une augmentation de sa concentration sérique (**Aouam et al., 2007**). Les crises de goutte restent exceptionnelles ; deux études incluant 51 et 226 patients traités par antituberculeux dont PZA ont retrouvé une hyperuricémie dans respectivement 86% et 63,6% des cas et des formes symptomatiques seulement dans 3,4% et 4,3% des cas (**Inoue et al., 1999 ; Solangi et al., 2004**).

##### **Effets cutanés**

Des rashes urticariens diffus et parfois un choc anaphylactique peuvent apparaître dans l'heure qui suit la prise de PZA ce qui évoque un mécanisme d'hypersensibilité immédiate et conduit aux mêmes investigations allergologiques que celles déjà décrites pour la RIF (**Lafourcade et al., 2009**). Des réactions de phototoxicité, érythème polymorphe, acné, voire pellagre, sont connues et régressent à l'arrêt du traitement (**Ribi et Hauser, 2002**).

##### **Effets digestifs**

Ils apparaissent dans moins de 10% des cas à type de nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales (**Ribi et Hauser, 2002 ; Blumberg et al., 2003**).

#### **I.2.4.4. L'éthambutol**

Cet antituberculeux bactériostatique est globalement bien toléré, sans hépatotoxicité. Il induit un risque sur le nerf optique qui justifie un suivi attentif.

Des neuropathies sensitivo-motrices et des troubles neuropsychiques avec vertiges et céphalées sont possibles comme une élévation transitoire de la bilirubinémie et des cas de néphropathies tubulo- interstitielles de mécanisme toxique (**Aouam et al., 2007**). Des réactions allergiques cutanées prurigineuses ou purpuriques sont rares (**Ribi et Hauser, 2002**). L'association de rashes cutanés à une hyperéosinophilie et à des infiltrats pulmonaires a été décrite. L'hyperuricémie induite par l'éthambutol est exceptionnelle (**Wong et al., 1995**).

## **I.3. LE FOIE**

### **I.3.1. Anatomie**

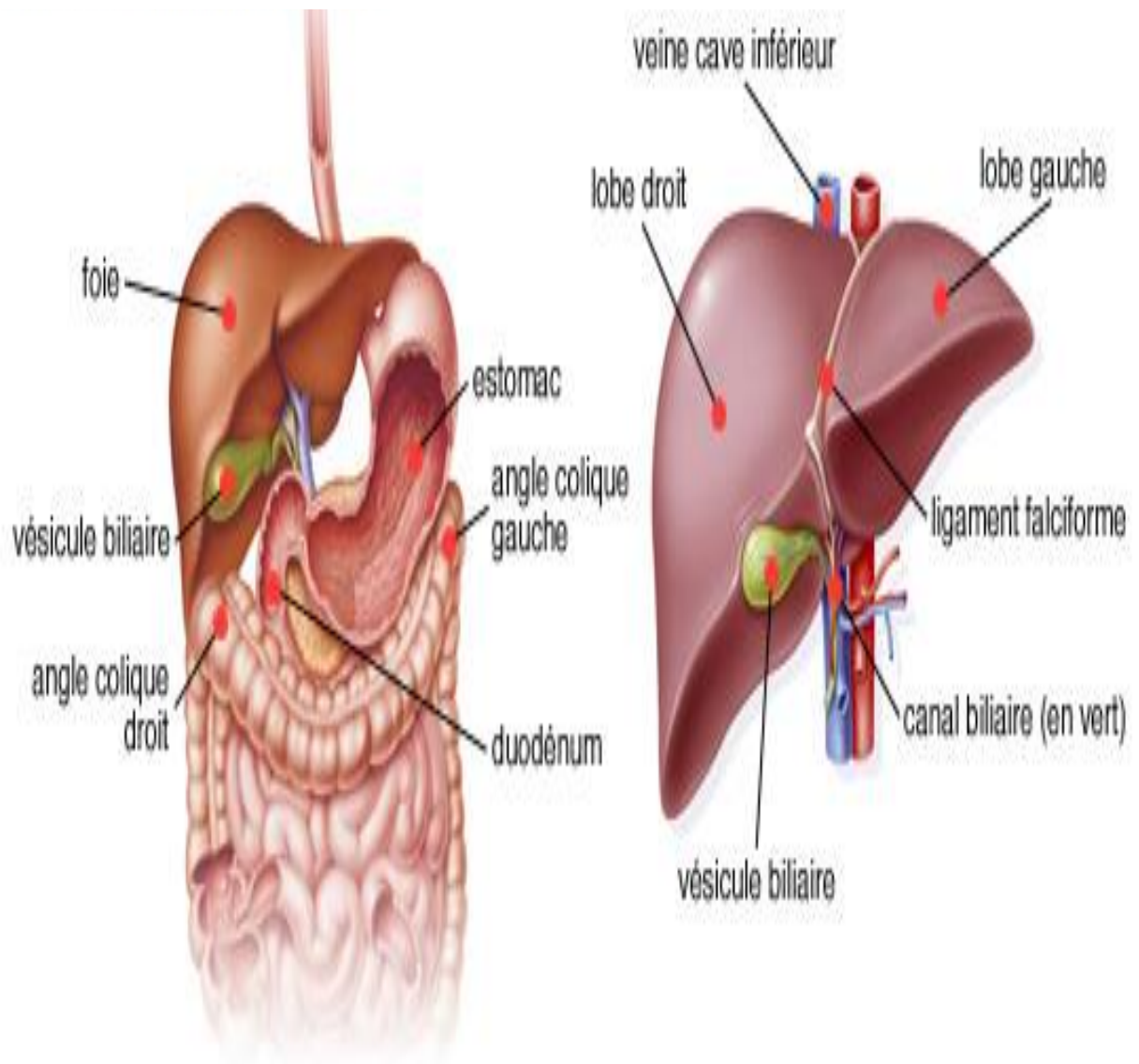
Le foie est un organe vital volumineux, lisse et souple de couleur rouge brun localisé dans la cavité abdominale au niveau de l'hypochondre droit (**Mellal, 2010**). Il s'agit d'une glande essentiellement exocrine enveloppée par une capsule fibreuse mince résistante et conjonctive appelée la capsule de Glisson, qui s'invagine en sillons délimitant deux lobes hépatiques; un grand lobe hépatique droit et un plus petit lobe hépatique gauche (**Bedossa, 1992; Benhamou, 1998**) (**figure 3**).

L'apport sanguin du foie est réalisé au niveau de la veine porte et l'artère hépatique, qui représentent les vaisseaux sanguins afférents (**figure 4**):

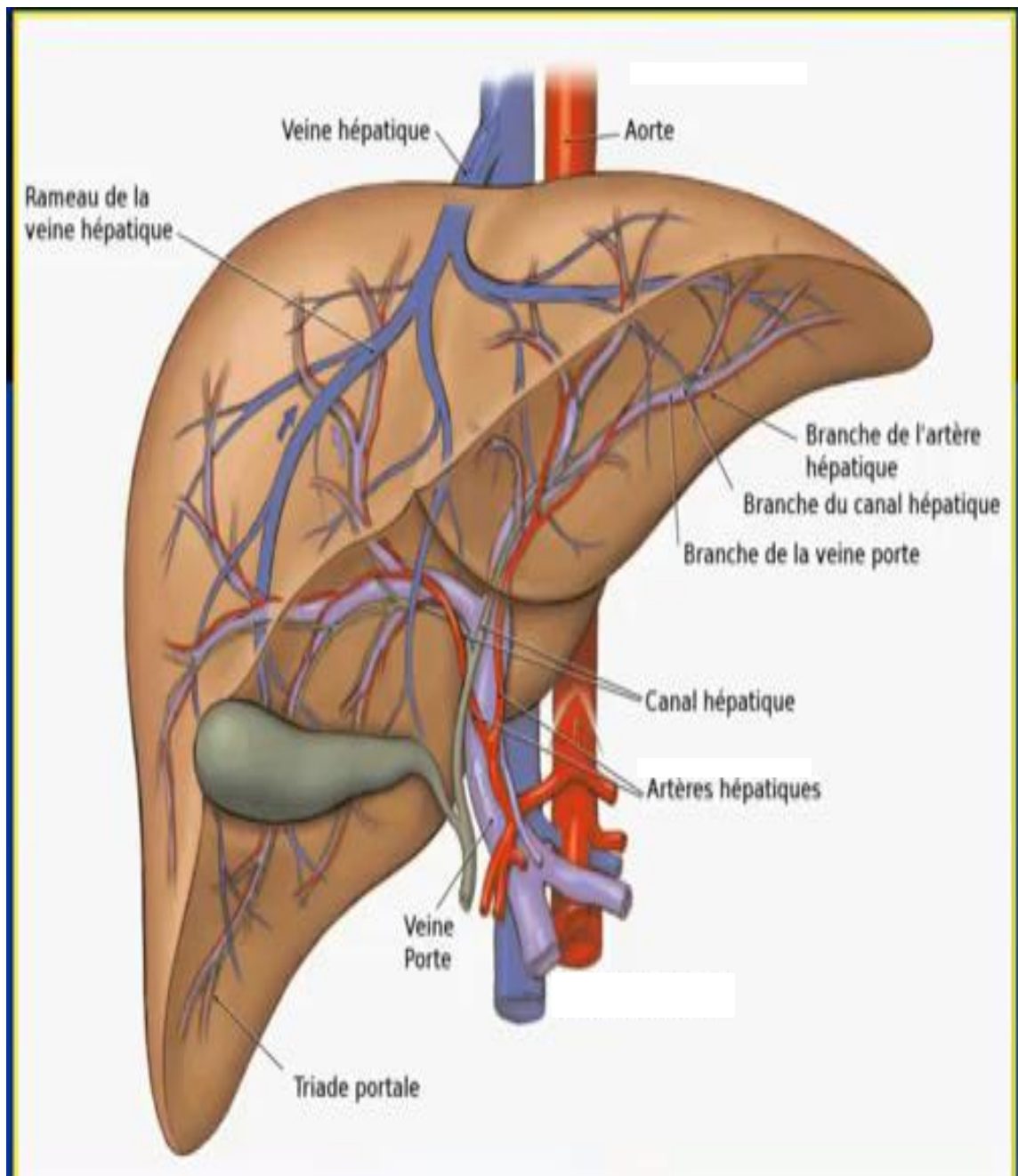
- La veine porte hépatique transporte le sang du tube digestif et de la rate vers le foie. Le sang du tube digestif est riche en acides aminés, lipides et glucides, celui de la rate est riche en produits de dégradation de l'hémoglobine. Arrivée au foie, la veine porte se divise et donne les branches de la veine porte.
- L'artère hépatique approvisionne le foie en sang oxygéné. Elle donne des branches dans le foie.

### **I.3.2. Histologie (figure 5)**

Histologiquement, le parenchyme hépatique est constitué de lobules, schématiquement hexagonaux, avec un espace porte à chaque sommet. Les lobules sont centrés par une veine centrolobulaire. Les hépatocytes sont disposés en travées et séparés par les sinusoides. La première rangée d'hépatocytes bordant un espace porte constitue la lame bordante hépatocytaire. Les sinusoides sont bordées de cellules endothéliales et de cellules de Küpffer (histiocytes tissulaires). Les sinusoides drainent le sang provenant de l'espace porte vers les veines centrolobulaires (qui se drainent vers les veines sus-hépatiques).



**Figure 3:** Anatomie du foie (Bedossa, 1992; Benhamou, 1998)



**Figure 4 : Vascularisation du foie (Bedossa, 1992; Benhamou, 1998)**

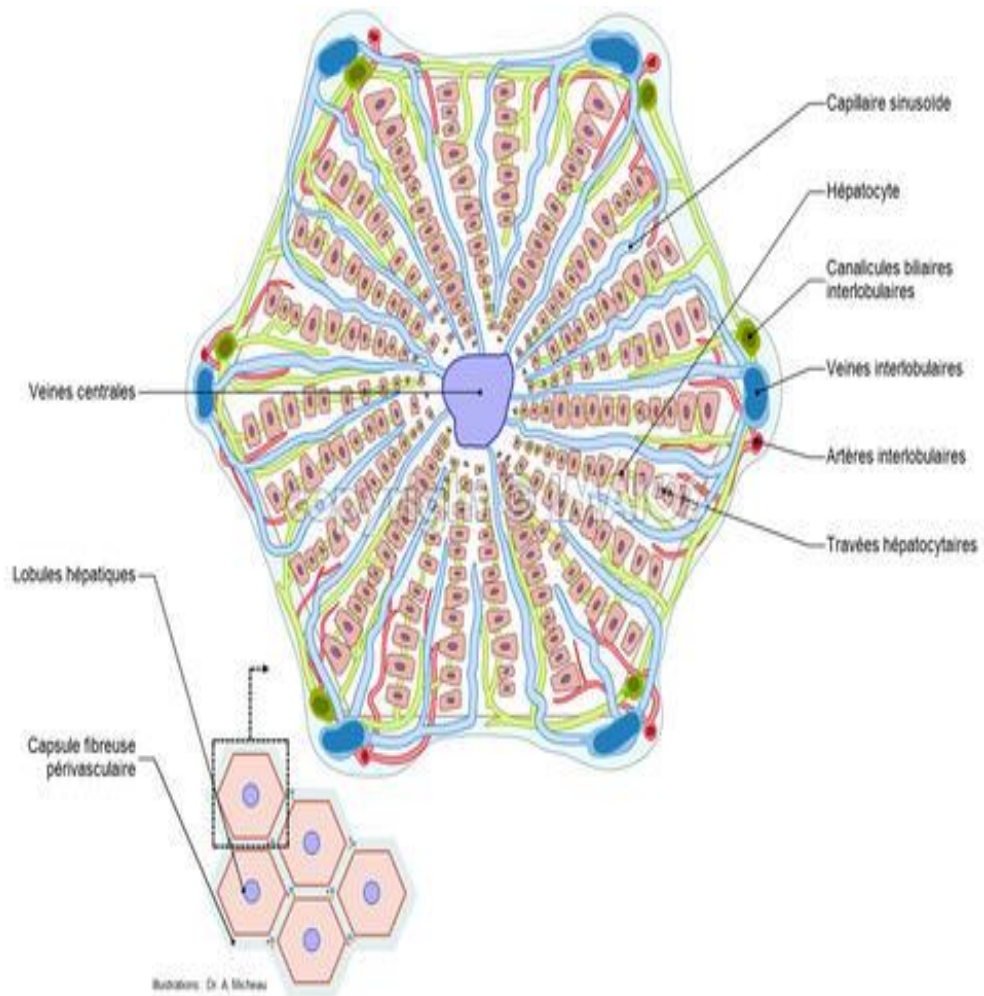
Le tissu hépatique est organisé en lobules hépatiques regroupant des rangées d'hépatocytes. Ces lobules ayant une forme hexagonale, sont centrés par une veine dite centro-lobulaire et délimités par six espaces triangulaires riches en tissu conjonctif appelés les espaces portes ou espaces de Kiernan. Chaque lobule présente un compartiment sanguin, un compartiment biliaire et un compartiment hépatocytaire (**Gilbert, 2003**) (**figure 5**).

Le foie est doté des cellules parenchymateuses, les hépatocytes, et de quatre types cellulaires non parenchymateux (**figure 6**) lui conférant une hétérogénéité cellulaire (**Benhamou et Erlanger, 2008**).

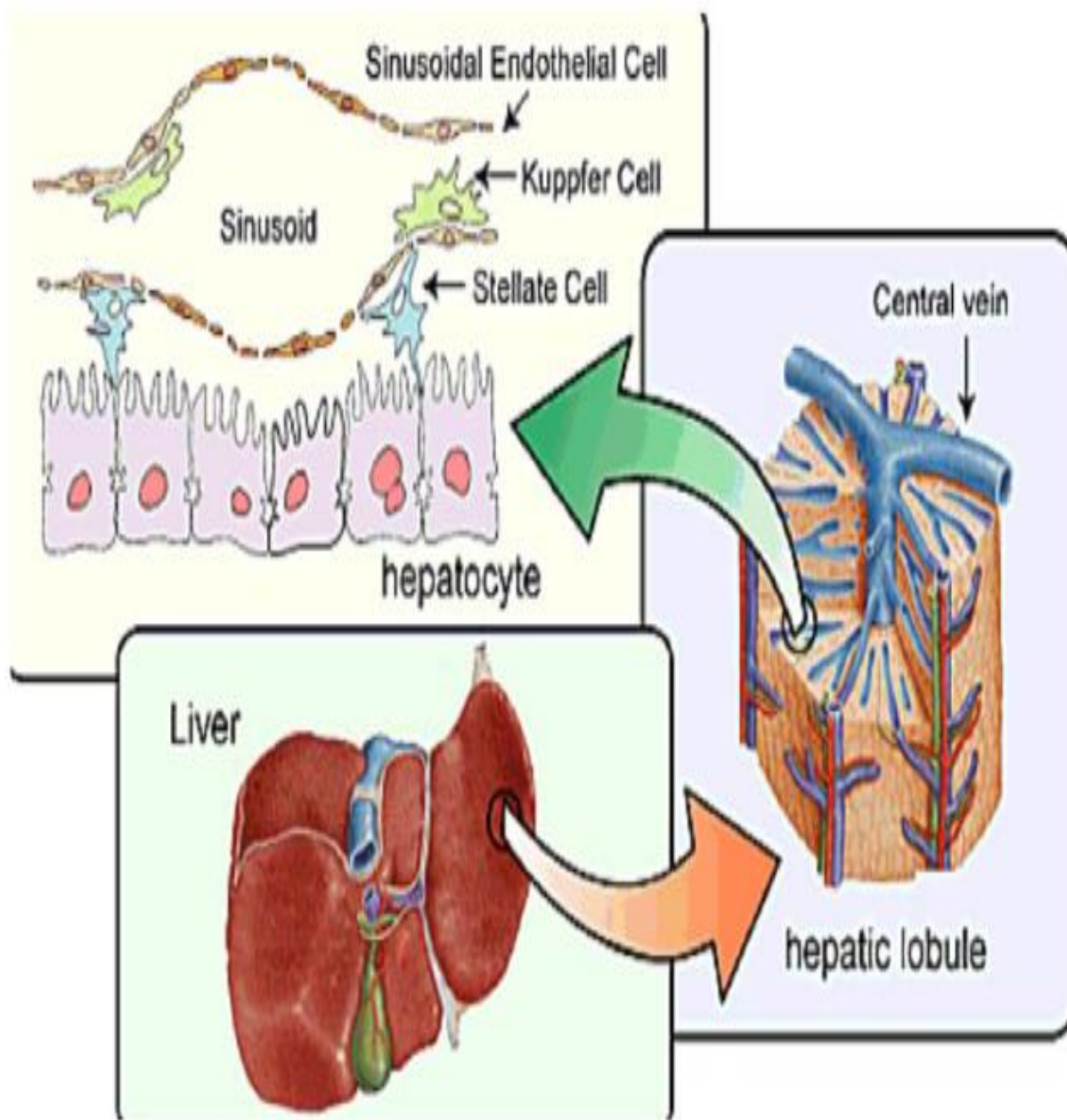
➤ **Les cellules non parenchymateuses :**

- **Les cellules endothéliales sinusoidales :** ce sont des cellules endothéliales et représentent environ 20 % de la totalité des cellules. Ces cellules bordent la sinusoïde et permettant les échanges de petites molécules entre le sang et les hépatocytes (**Benhamou et Erlanger, 2008**).
- **Les cellules périsinusoïdales stellaires ou cellules d'Ito :** elles représentent environ 5 % des cellules riches en graisses. Elles contiennent des réserves de dérivés rétinoides tels que la vitamine A (**Senoo, 2004**). Ces cellules sont dans des espaces compris entre les cellules sinusoidales et les cellules hépatiques appelés espace de Disse (**Bedossa, 1992**).
- **Les cellules de Küpffer :** elles représentent environ 10 % des cellules. Ce sont des macrophages tissulaires. Elles ont des attaches avec les cellules endothéliales et restent dans la sinusoïde. Elles constituent une partie importante du système réticulo-endothélial. Parmi leurs principales fonctions, se trouvent la phagocytose de particules étrangères, l'élimination d'endotoxines et d'autres substances nocives, la modulation de la réponse immunitaire par la libération de médiateurs et d'agents cytotoxiques et la présentation de l'antigène (**Crispe, 2003**).
- **Les cellules épithéliales biliaires :** ce sont les cellules polarisées qui constituent le canal biliaire. Elles concourent à la sécrétion de la bile. (**Benhamou et Erlanger, 2008**).

➤ **Les cellules parenchymateuses ou hépatocytes:** elles représentent environ 65 % des cellules du foie. Ce sont des cellules particulières qui comportent parfois plusieurs noyaux. Ce sont les cellules principales assurant de nombreuses fonctions métaboliques du foie. Elles sont en lien étroit avec les sinusoides permettant des échanges avec le sang par l'espace de Disse et forment à une de leurs pôles avec un hépatocyte adjacent le canalicule biliaire (**Stevens et Lowe, 2006**).



**Figure 5 : Lobule hépatique (Gilbert, 2003)**



**Figure 6:** Les cellules hépatiques (Benhamou et Erlanger, 2008).

### **I.3.3. L'hépatotoxicité**

#### **I.3.3.1. Définition**

L'hépatotoxicité est définie comme le pouvoir qu'a une substance et quels que soient les mécanismes mis en jeu, de provoquer des dommages au foie (**Biour et al., 1998**).

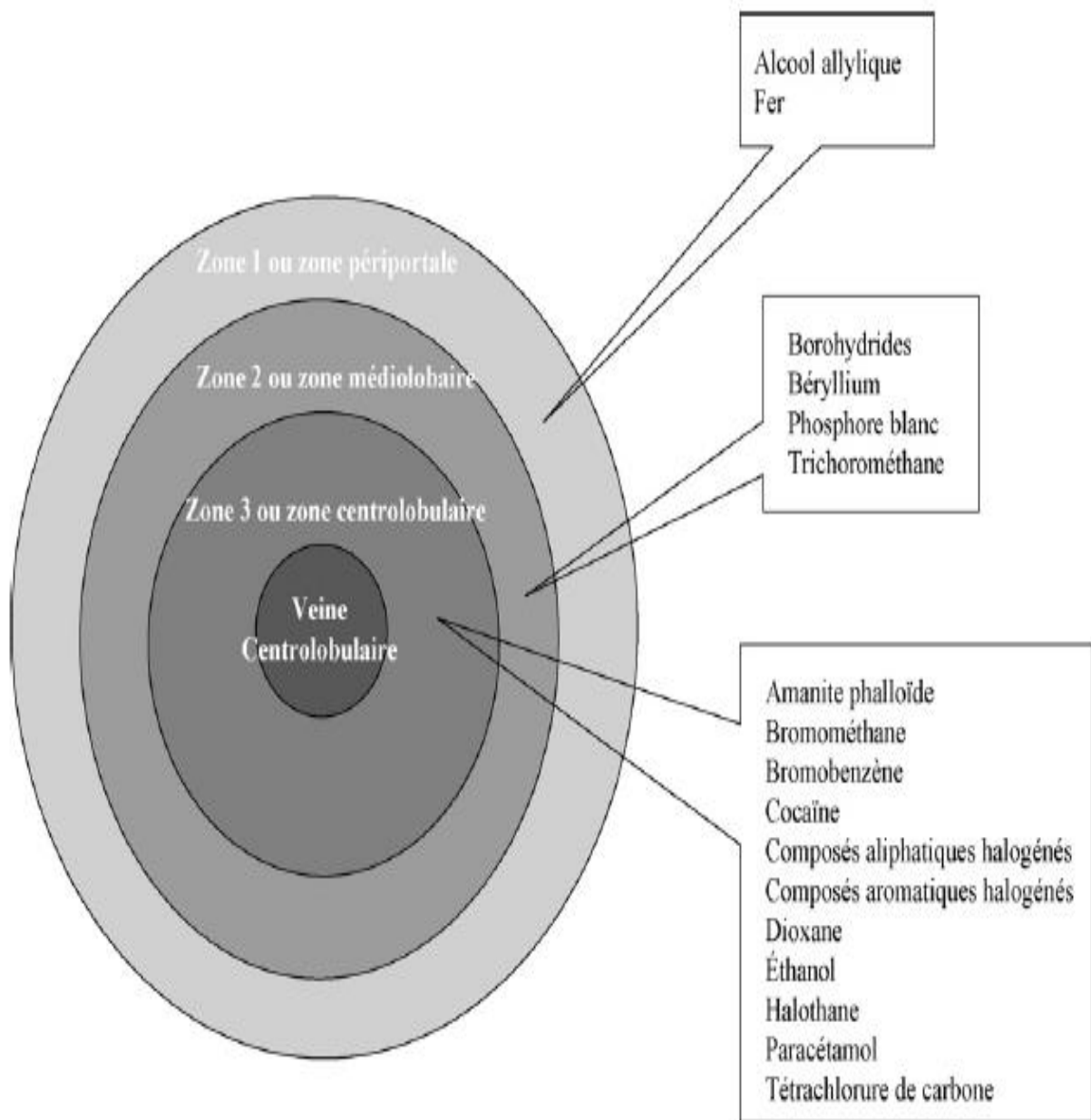
La toxicité au foie se manifeste sous forme d'inflammation ou encore de nécrose, dans les cas plus sévères. La stéatose hépatique survient lorsqu'il y a accumulation de lipides (triglycérides) dans le foie.

#### **I.3.3.2. Mécanisme d'action hépatotoxique**

Les lésions hépatiques sont généralement induites par des substances médicamenteuses ou chimiques. L'hépatotoxicité est dose-dépendante et donc prévisible. Elle apparaît après un court délai (1-12 semaines) après exposition au toxique (**Navarro et Senior, 2006 ; Jones et Dargan, 2007**). Le mécanisme des lésions hépatiques n'est pas unique, mais est généralement spécifique du toxique en cause, avec une atteinte régiosélective du lobule hépatique (**figure 7**). Il peut être cytolytique, cholestatique ou mixte (**Tableau III**) (**Bénichou, 1990 ; Pessayre et al., 1999 ; Navarro et Senior, 2006**).

Différents mécanismes moléculaires peuvent y conduire (**Tableau IV**) (**Kaplowitz, 2002; Lee, 2003 ; Navarro et Senior, 2006**). Un mécanisme immunoallergique ou d'hypersensibilité, comme celui observé avec la phénytoïne, la nitrofurantoïne ou l'halothane, apparaît souvent avec un délai favorisé par une réexposition, et associé à une fièvre, une éruption cutanée ou une hyperéosinophilie. Une toxicité mitochondriale peut être observée, comme avec l'acide valproïque ou les fortes doses de tétracycline par voie veineuse. Elle est à l'origine d'une acidose lactique et d'une stéatose microvésiculaire (**Jones et Dargan, 2007**). Un ictère fébrile peut révéler une hépatite granulomateuse pseudosarcoïdienne. La variabilité génétique explique une part importante de la susceptibilité, comme le risque accru de toxicité à l'isoniazide chez les acétylateurs lents (polymorphisme de la *N*-acétyltransférase 2) ou à l'irinotecan, en cas de réduction des capacités de glucuroconjugaison (maladie de Gilbert) (**Navarro et Senior, 2006**). D'ailleurs, l'importance des lésions hépatiques n'est pas toujours proportionnelle à l'amplitude de l'élévation des transaminases. Les cellules hépatiques possèdent, en fait, une grande capacité de régénération et d'adaptation, avec une variabilité également fonction de chaque individu et de son terrain sous-jacent. L'hépatotoxicité devient significative lorsque la perturbation du bilan biologique hépatique s'accompagne de manifestations cliniques (asthénie, anorexie, nausée, douleur de l'hypochondre droit, urines foncées, encéphalopathie).





**Figure 7 :** Localisation histologique préférentielle au sein du lobule hépatique, de certaines atteintes hépatiques toxiques (Navarro et Senior, 2006 ; Jones et Dargan, 2007)

**Tableau III : Critères diagnostiques d'une hépatite aiguë toxique (Bénichou, 1990 ; Pessayre et *al.*, 1999 ; Navarro et Senior, 2006)**

<b>Critère diagnostique</b>	<b>Type d'hépatite</b>
<b>Augmentation de ALAT &gt; 2N</b>	<b>Hépatite cytolytique</b>
<b>Augmentation de ALAT et Pal</b>	
<b>avec ALAT/Pal ≥ 5</b>	
<b>Augmentation des Pal &gt; 2N</b>	<b>Hépatite cholestatique</b>
<b>Augmentation de la bilirubine</b>	
<b>conjuguée &gt; 2N</b>	
<b>Augmentation des ALAT et Pal</b>	<b>Hépatite mixte</b>
<b>avec ALAT/Pal ≤ 2</b>	
<b>Augmentation des ALAT et Pal</b>	
<b>avec ALAT/Pal de 2 à 5</b>	

**Tableau IV : Mécanismes moléculaires pouvant aboutir à une lésion cellulaire hépatique toxique** Kaplowitz, 2002; Lee, 2003 ; Navarro et Senior, 2006)

<b>Mécanisme</b>	<b>Commentaires et exemples</b>
<b>Formation de liaisons covalentes</b>	Formation d'adduits par liaison d'un toxique ou de son métabolite réactif à des protéines ou autres macromolécules intracellulaires à l'origine de lésions directes (exemple : paracétamol en phase initiale) ou d'une réactivité immunologique (exemple : halothane)
<b>Peroxydation lipidique</b>	Réaction de radicaux libres avec les acides gras polyinsaturés des membranes, à l'origine de troubles de la fluidité, de la perméabilité et de la stabilité des membranes (exemple : tétrachlorure de carbone)
<b>Déplétion en ATP</b>	Découplage de la phosphorylation oxydative mitochondriale (exemple : acide valproïque) ou altération de l'homéostasie calcique cytoplasmique (exemple : fer)
<b>Lésions de l'ADN</b>	Lésions directes ou activation de la poly(ADP-ribose) polymérase, conduisant à la mort cellulaire (exemple : agents alkylants) ou à la transformation néoplasique (exemple : stéroïdes)
<b>Apoptose</b>	Voies du récepteur au TNF- $\alpha$ /Fas/caspases ou par d'autres cytokines pro-inflammatoires (exemple : paracétamol en phase tardive)
<b>Lésion des organelles intracellulaires</b>	Réticulum (exemple : tétrachlorure de carbone), lysosome (exemple : amiodarone) ou mitochondrie (exemple : hydrazine)
<b>Inhibition enzymatique directe</b>	Blocage d'une enzyme (exemple : amanite phalloïde)
<b>Ischémie</b>	Trouble de l'apport d'oxygène, de nutriments et/ou réduction du débit sanguin hépatique (exemple : cocaïne)
<b>Trouble de l'excrétion biliaire</b>	Inhibition du cytosquelette, des microfilaments d'actine ou des pompes de transport (exemple : chlorpromazine)

### **I.3.4. Le stress oxydatif dans les affections hépatiques**

#### **I.3.4.1. origines et conséquences**

La production d'espèces réactives de l'oxygène dans les hépatocytes est associée à la pathogénie de nombreuses affections hépatiques. Certains médicaments, les métaux lourds, les agents infectieux, les médiateurs de l'inflammation et d'autres agents toxiques, sont responsables d'une formation accrue de radicaux libres. Les facteurs spécifiques produisant des lésions oxydatives sont :

- L'activation des cellules de Kupffer et des polynucléaires, dans les mécanismes inflammatoires et immuns, qui produisent des espèces réactives de l'oxygène et des médiateurs pro-inflammatoires contribuant ainsi aux lésions oxydatives (**Center, 1999 ; Watson, 2004**) ;
- L'excès de cuivre non fixé qui engendre indirectement des lésions oxydatives des membranes cellulaires, car produisant des radicaux libres (radical hydroxyle) par la réaction de Fenton. Ces radicaux libres entraînent des déficits énergétiques et cellulaires, altèrent les fonctions enzymatiques mitochondriales et induisent des changements délétères dans le taux de calcium libre intracellulaire (**Center, 1999**) ;
- L'accumulation des acides biliaires hydrophobes dont l'intercalation dans la bicouche phospholipidique entraîne une peroxydation des lipides membranaires. Il en résulte une augmentation du volume mitochondrial, une inhibition de la respiration cellulaire, une augmentation de la production mitochondriale de peroxyde d'hydrogène, ainsi qu'une accumulation de calcium intracellulaire (**Leveille-Webster, 1997**). La production de radicaux libres lors de la cholestase, induit l'apoptose de l'hépatocyte et la nécrose hépatique (**Rothuizen, 2005**). Une cholestase prolongée provoque une malabsorption des vitamines liposolubles et d'autres piègeurs de radicaux libres tels que le sélénium (**Twedt, 2001**) ;
- Les toxines spécifiques telles que le paracétamol dont l'ingestion à forte dose induit la production incontrôlée de quinones imines réactives, toxiques pour les hépatocytes (**Prescott, 1983**).

#### **I.3.4.2. Mécanisme du stress oxydatif hépatique**

Dans les différentes affections hépatiques, les dégâts oxydatifs cellulaires provoqués par la formation incontrôlée de radicaux libres surviennent par de nombreux mécanismes :

- Les radicaux libres pourraient soustraire un atome d'hydrogène aux acides gras polyinsaturés, initiant la peroxydation lipidique. Il en résulte des changements de la composition membranaire qui altèrent la structure et le métabolisme de l'hépatocyte ;
- Les peroxydes lipidiques (ROOH) et les sous-produits de la peroxydation lipidique ont une activité toxique directe sur la cellule et ses organites ;
- Les radicaux libres hépatiques oxydent les protéines sulfhydriles telles que le glutathion avec une déplétion enzymatique de la glutathion peroxydase.

#### **I.3.4.3. Evaluation du stress oxydatif hépatique**

L'évaluation du pouvoir antioxydant total du plasma et des peroxydes plasmatiques, marqueurs spécifiques de la peroxydation lipidique, permettent d'évaluer le stress oxydatif ou la production de radicaux libres en cas d'affections hépatiques (**Benzie et Strain, 1996**).

La mesure du taux de glutathion dans les cellules hépatiques est également un moyen pour mettre en évidence un stress oxydatif. Le glutathion est l'antioxydant intracellulaire le plus abondant. Le glutathion réduit (GSH) forme un complexe avec une substance réactive pour donner le glutathion oxydé (GSSG). Le dosage de GSH ou l'évaluation du rapport GSH/GSSG sont des mesures classiques permettant d'apprécier le potentiel d'oxydoréduction cellulaire (**Twedt, 2001 ; De Novo, 2006**). Une diminution de ce rapport indique un état oxydatif ayant pour origine l'utilisation de GSH et la formation du GSSG.

De même, la mesure de l'activité des enzymes prooxydantes (NADPH oxydase, NO synthétase) et antioxydantes (catalase, superoxyde dismutase, glutathion peroxydase) dans les hépatocytes, constitue un moyen d'évaluation du stress oxydatif.

Aussi, le dosage de plusieurs enzymes et autres substances relativement spécifiques du foie et fabriquées au moins en partie par le foie, permet également d'évaluer le stress oxydatif hépatique : l'aspartate amino-transférase (ASAT), l'alanine amino-transférase (ALAT), la phosphatase alcaline (PAL), la gamma-glutamyl transférase ( $\gamma$ -GT) et la bilirubine. Une augmentation de ces paramètres dans le sang traduit des lésions des hépatocytes (**Drotman et Lawhorn, 1978 ; Martin et Friedman, 1992**).

### **I.3.4.4. Les lésions hépatiques**

#### **I.3.4.4.1. La stéatose**

La stéatose est une lésion histologique fréquemment observée et définie par l'accumulation d'acides gras sous forme de triglycérides dans le cytoplasme des hépatocytes, se traduisant le plus souvent par de larges vacuoles refoulant le noyau en périphérie. Un foie stéatosique contient plus de 50% de lipides (**Mellal, 2005**).

La stéatose peut se manifester aussi par une surcharge en phospholipides. C'est une manifestation courante d'hépatotoxicité commune à certains toxiques aigus. Elle est le plus souvent réversible, parfois mortelle.

Le mécanisme de l'accumulation des lipides est dû à l'altération de la synthèse des lipoprotéines qui peut être perturbée de diverses façons:

- Interférence avec la synthèse de la partie protéique de la lipoprotéine;
- Altération de la conjugaison de TG avec la lipoprotéine ;
- Interférence avec le transfert de VLDL à travers les membranes de cellules ;
- Diminution de la synthèse des phospholipides ;
- Altération de la bêta oxydation ;
- Déficit en énergie nécessaire pour la synthèse de lipides et de protéines.

#### **I.3.4.4.2. La cholestase**

La cholestase est la diminution ou l'arrêt de l'écoulement de la bile, entraînant une augmentation subite du volume de bile dans les voies biliaires. Elle est souvent due à une obstruction sur le trajet d'évacuation normal de cette bile ou à une maladie hépatique. Elle détermine des hépatites aiguës cholestasiques avec augmentation de la bilirubine et des acides biliaires sériques et apparition d'ictère.

Il existe deux sortes de cholestase (**Frank, 1992**) :

- **La cholestase intrahépatique** : la cause de l'arrêt de l'écoulement de la bile est située à l'intérieur du foie. Les causes sont liées à des anomalies de fonctionnement des cellules hépatiques en relation avec une hépatite virale, une hépatite médicamenteuse, une hépatite alcoolique, un cancer du foie, des métastases hépatiques, une cirrhose, un abcès et kyste hydatique, une cirrhose biliaire primitive, des granulomatoses hépatiques ;
- **La cholestase extra-hépatique** : dans ce cas, la cause de l'arrêt de l'écoulement de la bile est située à l'extérieur du foie. Les causes sont dominées par un adénocarcinome

de la tête du pancréas, une lithiase de la voie biliaire principale, un cholangiocarcinome (cancer des voies biliaires), une cholangite sclérosante primitive.

#### **I.3.4.4.3. La nécrose**

La nécrose est un processus dégénératif qui intervient dans des cellules ayant subi des dommages physiques, chimiques ou osmotiques. La nécrose hépatique implique la mort des hépatocytes, elle peut être focale (centro lobulaire médiane ou périphérique) ou généralisée : c'est la plupart du temps une lésion aiguë (**Frank, 1992**).

#### **I.3.4.4.4. La cirrhose**

La cirrhose est le stade majeur du développement de la fibrose hépatique induite par la plupart des maladies chroniques du foie. Elle est définie par l'existence d'un trouble architectural diffus du parenchyme hépatique caractérisé par l'existence d'une fibrose entourant des nodules hépatocytaires dits de régénération. Les complications de la cirrhose sont potentiellement graves : hypertension portale, à l'origine d'hémorragie par rupture de varices œsogastriques et d'encéphalopathie hépatique, syndrome hépatorénal et carcinome hépatocellulaire (**Frank, 1992**).

#### **I.3.5. Le traitement d'une hépatite toxique**

La prise en charge d'une hépatite toxique est surtout symptomatique. Elle est basée sur une surveillance clinique et biologique rapprochée des enzymes hépatiques, du taux de prothrombine et des facteurs de la coagulation. La première mesure est l'arrêt du toxique en cause et la déclaration de pharmacovigilance, s'il s'agit d'un effet secondaire. En cas de défaillance hépatique grave, le contrôle hémodynamique ainsi que la prise en charge de l'œdème cérébral, des infections et des hémorragies, sont essentiels. L'intérêt des techniques d'assistance hépatique extracorporelle doit être discuté au cas par cas. Néanmoins, à ce jour, il n'existe aucune indication formelle des techniques pour l'élimination des toxiques (**Mégarbane et al., 2006**).

L'hypothermie thérapeutique pourrait être bénéfique, permettant une protection cérébrale et un ralentissement du métabolisme lésionnel de certains toxiques, comme le paracétamol (**Jalan et al., 1999**). La corticothérapie par voie systémique (prednisolone 40 mg/j) peut être également discutée au cas par cas, après avoir écarté formellement une étiologie infectieuse virale.

La *N*-acétylcystéine est le seul antidote dont l'intérêt thérapeutique a été solidement établi par des essais randomisés prospectifs pour l'intoxication par le paracétamol. Son mécanisme d'action antioxydant, antiinflammatoire et antiapoptotique, ainsi que son excellente tolérance en font un traitement essentiel à considérer au cours des hépatites toxiques. Il a ainsi été utilisé avec efficacité pour le traitement d'intoxications par le CCl<sub>4</sub> ou l'amanite phalloïde. Il a aussi été proposé dans de multiples autres indications toxicologiques, même si son bénéfice n'y était pas acquis (**Chyka et al., 2000**).

Etant donné l'implication du stress oxydatif dans les pathologies hépatiques, les substances antioxydantes pourraient y avoir un apport bénéfique.

#### **I.3.5.1. Les antioxydants de synthèse**

Les antioxydants de synthèse sont utilisés dans le traitement des affections hépatiques. Cependant de nombreuses études ont montré l'absence d'effets bénéfiques, voire leur toxicité (**Largeron et al., 1999 ; Gournay et Richonce, 2002**). Ces molécules provoquent des effets secondaires potentiellement graves, et de ce fait, elles ont été retirées du marché.

#### **I.3.5.2. Les vitamines et oligoéléments**

Les vitamines et oligoéléments ayant un effet antioxydant peuvent être utilisés contre le stress oxydatif lors des pathologies digestives (**Flatland, 2003**). On peut citer :

- la vitamine C ou acide ascorbique qui n'est pas une molécule de choix, mais dont l'utilisation en supplément avec d'autres vitamines serait bénéfique chez les malades atteints de maladie chronique du foie (**Anonyme, 1977**) ;
- la vitamine E pour laquelle des études réalisées *in vitro* et chez l'homme ont démontré son rôle dans la diminution des dommages oxydatifs dans de nombreuses affections hépatiques (**Andreone et al., 2001**) ;
- les  $\beta$ -carotènes qui diminuent la susceptibilité des lipoprotéines à l'oxydation et améliorent le taux de glutathion et l'activité des glutathion peroxydases ;
- le zinc et le sélénium qui font augmenter l'activité des enzymes antioxydantes et le taux de glutathion dans le foie.



## **I.4. LE STRESS OXYDATIF ET LES ANTIOXYDANTS**

Des radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produits quotidiennement dans l'organisme. Ils sont contrôlés par les antioxydants. Il existe à l'état normal un équilibre entre les radicaux libres et les antioxydants. Une production excessive des radicaux libres ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant (**Papazian et Roch, 2008 ; Christophe P et Christophe S, 2011**). Ce déséquilibre sera à l'origine d'une grande variété d'agressions des cellules et tissus de l'organisme. La plupart de ces agressions débouche sur une expression commune appelée stress oxydatif (**Favier, 2003**).

### **I.4.1. le stress oxydatif et radicaux libres**

#### **I.4.1.1. Définition**

Un radical libre est une espèce chimique, atomique ou molécule capable d'avoir une existence indépendante (« libre») en contenant un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur une orbitale). Cela lui confère une grande réactivité donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé (**Goudable et Favier, 1997**). Ils apparaissent soit au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalente pendant laquelle chaque atome conserve son électron, soit au cours d'une réaction d'oxydo-réduction avec perte ou gain d'un électron à partir d'un composé non radical (**Koehilin-Ramonatxo, 2006**).

#### **I.4.1.2. Nature des radicaux libres**

On peut distinguer les radicaux primaires, qui ont un rôle physiologique particulier et les radicaux secondaires, issus de la réaction des radicaux primaires avec des entités biochimiques cellulaires tels que lipides, protéines, glucides (**Favier, 2003**).

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont une famille d'entités chimiques regroupant :

- les radicaux libres oxygénés comme l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le radical hydroxyle ( $HO^{\bullet}$ ), le monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ), le radical perhydroxyle ( $HOO^{\bullet}$ ), le radical alkoxyle ( $RO^{\bullet}$ ), et radical peroxyde ( $ROO^{\bullet}$ ) ;
- et les dérivés non radicalaires dont la toxicité est importante avec l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), le peroxyde d'azote ( $ONOO^-$ ), l'acide hypochlorique, le nitroperoxyde ( $ONOOH$ ).

### **I.4.1.3. Principales sources de production des radicaux libres**

Les ERO sont produits continuellement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes (**figure 8**). On parle donc de sources endogènes et de sources exogènes.

#### **➤ Sources exogènes des ERO**

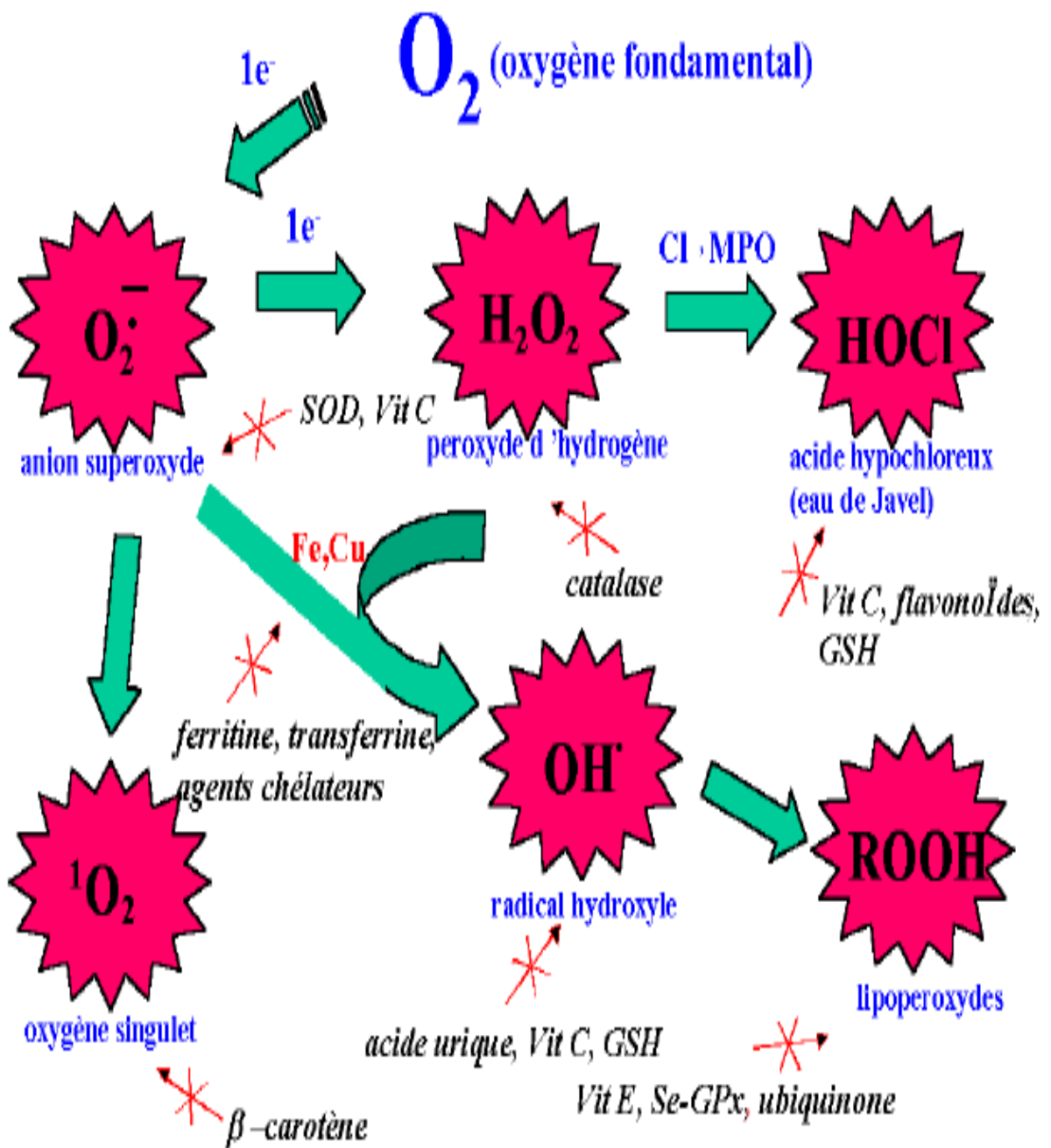
Les radiations X ou gamma peuvent par différents mécanismes faire apparaître des radicaux libres en scindant la molécule d'eau en deux radicaux. Les rayonnements UV sont capables de produire des anions superoxydes ou de l'oxygène singulet après activation des photosensibilisants. Une large variété de xénobiotiques tels que les toxines, les pesticides, les herbicides, et de médicaments, notamment les antibiotiques, et les anticancéreux, peuvent contribuer à la production des ERO qui se forment comme un des produits de leur métabolisme (**Valko *et al.*, 2007**).

#### **➤ Sources endogènes des ERO**

Dans la cellule, de nombreux systèmes enzymatiques sont capables de générer des oxydants (**Salvayre *et al.*, 2003**) :

- Les NAD(P)H oxydases sont des enzymes présentes dans la paroi vasculaire et qui génèrent  $O_2^{\bullet-}$  en utilisant NADH ou NADPH comme substrat ;
- La xanthine-oxydase joue un rôle important dans la production des ERO particulièrement  $O_2^{\bullet-}$  et  $H_2O_2$ , lors de l'ischémie/reperfusion ;
- Lors du métabolisme de l'acide arachidonique, ce dernier peut être oxydé soit par les cyclooxygénases, soit par les lipooxygénases (métallo-enzymes à fer), pour former entre autre des hydroperoxydes qui sont des précurseurs de leucotriènes, puissants médiateurs de l'inflammation.

De plus, dans l'organisme, l'oxygène est réduit à 95 % dans les mitochondries par voie enzymatique en molécule non toxique comme  $H_2O$ . Cependant, il peut subir une réduction monoélectronique et former une espèce beaucoup plus réactive comme l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$ . Cet anion n'est pas le radical le plus délétère, cependant il peut donner naissance à des espèces beaucoup plus réactives comme le radical hydroxyle  $HO^{\bullet}$ . Ces ERO mitochondriales pourraient intervenir dans l'oxydation des LDL (**Valko *et al.*, 2007**).



**Figure 8 :** Voies de formation des ERO, processus de peroxydation des lipides et le rôle du glutathion (GSH) et autre antioxydants dans le management du stress (Pincemail et al., 1998).

#### **I.4.1.4. Rôles physiologiques des radicaux libres**

Les radicaux libres de l'oxygène et de l'azote sont des molécules extrêmement toxiques, mais indispensables à la vie.

Les radicaux libres interviennent dans l'homéostasie cellulaire en détruisant par oxydation l'ensemble des composants bactériens après la phagocytose des bactéries par les macrophages (**Favier, 2003**).

Ils interviennent dans la signalisation cellulaire comme médiateurs intra ou extracellulaires (**Dröge, 2002 ; Valko et al., 2007**). Ils permettent d'induire la réponse cellulaire à de nombreux stimuli thermiques, physiques, chimiques, permettant l'expression des gènes de défense (**Dalton et al., 1999**)

Les radicaux libres peuvent aussi servir de relais physiologiques entre cellules dans la stimulation de certains récepteurs membranaires et régulent de nombreuses fonctions comme la vasodilatation capillaire et la prolifération cellulaire (**Borg et Reeber, 2008**). Lors d'agressions cellulaires majeures, ils sont émis comme signaux inducteurs d'apoptose lorsque les capacités de réparation cellulaire sont dépassées (**Dröge, 2002 ; Favier, 2003 ; Valko et al., 2007**).

Les radicaux libres pourraient être les premiers responsables de l'activation des kinases en cas d'agressions cellulaires variées (**Natarajan et al., 1993**)

#### **I.4.1.5. Conséquence du stress oxydatif**

Malgré leurs nombreuses fonctions cellulaires, les radicaux libres demeurent hautement toxiques pour l'organisme.

A des concentrations élevées, les ERO peuvent être d'importants médiateurs de dommages aux structures cellulaires, lipides, protéines et acides nucléiques (**Valko et al., 2006**). Le radical hydroxyle est connu pour réagir avec tous les composants de la molécule d'ADN, d'endommager les bases puriques et pyrimidiques et aussi le désoxyribose (**Halliwell et Gutteridge, 1990**). La lésion de l'ADN la plus étudiée est la formation de 8-hydroxyguanosine. Les modifications permanentes du matériel génétique résultant de ces dommages oxydatifs représente la première étape impliquée dans la mutagenèse, la carcinogenèse et le vieillissement (**Valko et al., 2007**).

Les modifications oxydatives des protéines par les ERO provoquent l'introduction d'un groupement carbonyle dans la protéine. Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le  $\text{Fe}^{2+}$  ou le  $\text{Cu}^{2+}$ . Les réactions d'oxydation de protéines peuvent être classées en deux catégories : d'une part, celles qui coupent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE (4-Hydroxynonenal). De telles modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées et deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont donc éliminées. L'oxydation de la cystéine est réversible mais peut également perturber les fonctions biologiques du GSH ou de certaines protéines (Valko *et al.*, 2007).

Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des ERO. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires organisées en trois phases successives (Halliwell et Gutteridge, 1999). La phase d'initiation consiste en la création d'un radical d'acide gras ( $\text{L}^{\bullet}$ ) à partir d'un acide gras (LH) par soustraction d'un atome d'hydrogène. Cette déshydrogénation peut être provoquée par un initiateur radicalaire tel que le  $\text{OH}^{\bullet}$  et le  $\text{HOO}^{\bullet}$ . Le radical lipidique  $\text{L}^{\bullet}$  subit ensuite un réarrangement moléculaire pour donner un radical avec une structure diène conjugué, plus stable, qui peut réagir avec une molécule d' $\text{O}_2$  et former un radical peroxyde ( $\text{LOO}^{\bullet}$ ). Ce radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau, un hydrogène à un acide gras polyinsaturé voisin, propageant ainsi la réaction. Chaque radical  $\text{L}^{\bullet}$  peut être à l'origine d'une centaine de molécules d'hydroperoxyde avant que survienne la phase de terminaison.

L'hydroperoxyde lipidique (LOOH) formé peut être oxydé en présence de métaux de transition divalents de  $\text{Fe}^{2+}$  ou  $\text{Cu}^{2+}$  et entraîner la formation d'alcanes et d'aldéhydes toxiques dont le 4-HNE (figure 8).

La réaction en chaîne peut être interrompue (phase de terminaison) par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydante (Delattre *et al.*, 2005).

## **I.4.2. Antioxydants et systèmes de défense**

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydro ou liposolubles. Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires (**Cano et al., 2006**).

### **I.4.2.1. Caractéristiques des antioxydants**

Un composé est considéré comme antioxydant *in vivo* lorsqu'il possède les propriétés suivantes (**Ursini et al., 1999**) :

- Il interagit avec les métabolites réactifs de l'oxygène, qui sont biologiquement toxiques ;
- Le produit de la réaction de l'antioxydant avec l'oxydant ne doit pas être plus toxique pour l'organisme ;
- Il doit être présent dans l'organisme en concentration suffisante ;
- Sa demie vie doit être suffisamment longue pour réagir avec l'oxydant.

Les antioxydants peuvent jouer leur rôle à différents niveaux du processus oxydatif (**Baskin et Salem, 1994**):

- En neutralisant les radicaux initiateurs ;
- En liant les ions métalliques ;
- En neutralisant les radicaux peroxydes;
- En éliminant les biomolécules endommagées par oxydation et par d'autres types de réactions.

## **I.4.2.2. Classification des antioxydants**

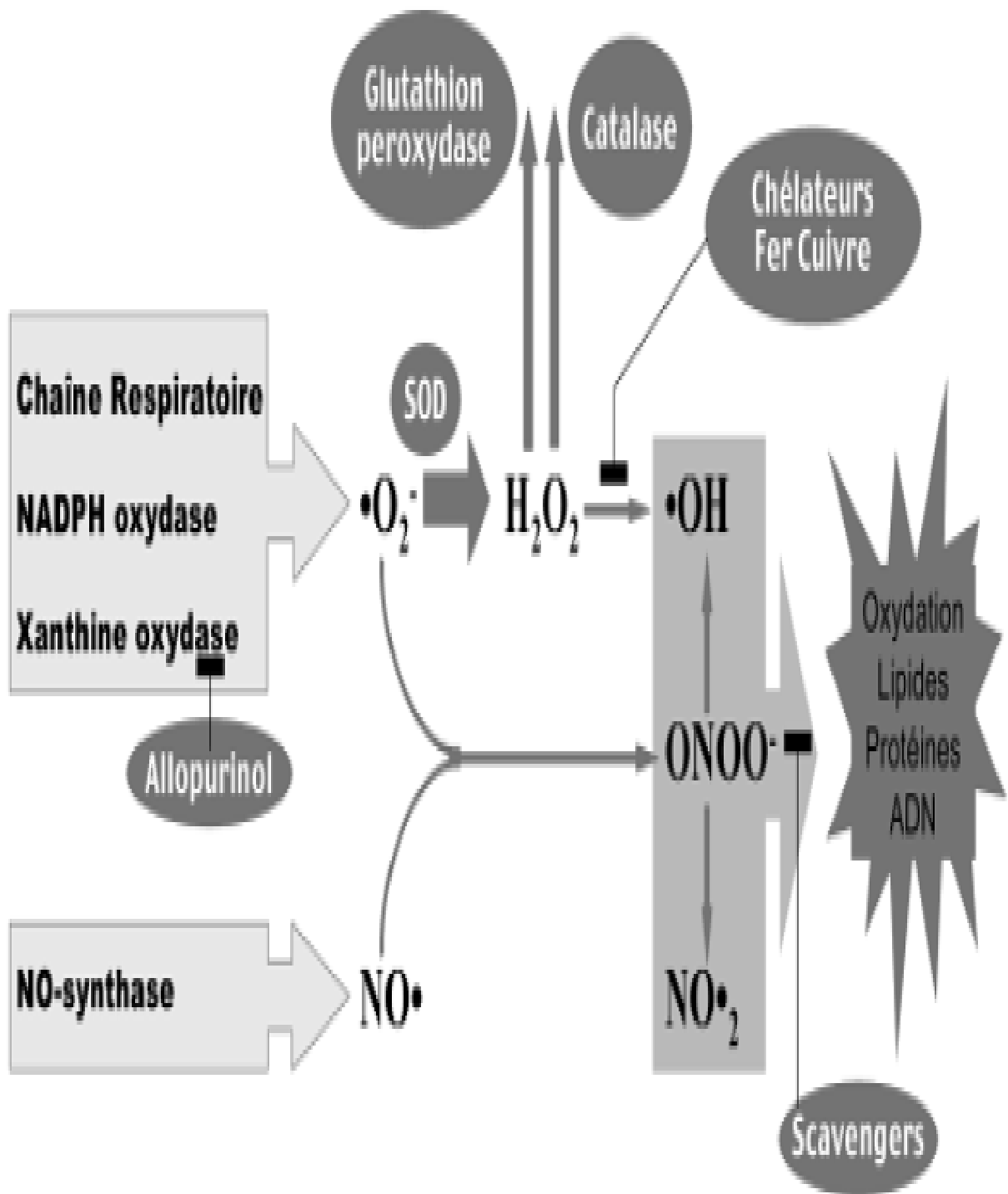
### **I.4.2.2.1. Antioxydants endogènes**

#### **I.4.2.2.1.1. Antioxydants enzymatiques**

Pour faire face aux attaques des radicaux libres, les organismes ont développé des systèmes d'action antioxydante qui visent :

- à éliminer les espèces réactives de l'oxygène et les catalyseurs de leur formation ;
- à induire la synthèse des antioxydants ;
- à augmenter l'activité des systèmes de réparation et d'élimination des molécules endommagées.

Trois types d'enzymes antioxydantes sont mis en œuvre pour la destruction des espèces réactives de l'oxygène comme illustre la **figure 9**. Plus récemment, d'autres molécules ayant des propriétés antioxydantes telles que les thiorédoxines ont été découvertes (**Pelletier et al., 2004**).



**Figure 9:** Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène (Pelletier et al., 2004).



#### **I.4.2.2.1.1.1. Les superoxydes dismutases**

La superoxyde dismutase (SOD) est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation du superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier pourra être pris en charge par des enzymes à activité peroxydase. Il existe trois isoformes de SOD chez les mammifères : une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc, une forme mitochondriale associée au manganèse et une forme extracellulaire. Pour cette raison, cette enzyme représente une partie importante du système de défense contre les radicaux libres (**Valko *et al.*, 2007**).

#### **I.4.2.2.1.1.2. La catalase**

La catalase est présente dans de nombreux tissus et particulièrement abondante dans le foie et les globules rouges. C'est un tétramère dont chaque unité porte une molécule d'hème et une molécule de NADPH. La fixation du NADPH sur la catalase augmente son efficacité et la protège contre l'inactivation (**Kalpakcioglu et Senel, 2008**).

Chez les mammifères, la catalase est particulièrement présente dans les peroxysomes. Elle catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub> empêchant ainsi la formation de radical hydroxyl.

La catalase permet également de détoxifier différents substrats, tels que les phénols et les alcools par un couplage avec la réduction d'hydrogène :  **$RH_2 + H_2O_2 \rightarrow R + 2H_2O$**

#### **I.4.2.2.1.1.3. Les glutathion peroxydases**

La glutathion peroxydase est une enzyme formée de quatre sous-unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine. Elle est présente dans les liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries. Elle assure la transformation des hydroperoxydes organiques, lipidiques notamment, de type LOOH en LOH (**figure 8**).

#### **I.4.2.2.1.1.4. Les thiorédoxines**

Les thiorédoxines font l'objet de nombreux travaux concernant leurs capacités antioxydantes (**Valko *et al.*, 2007**). Chez les Mammifères, elles sont localisées dans les mitochondries, le cytosol, et les peroxysomes, elles sont associées aux noyaux et aux membranes. Grâce à leur activité peroxydase, elles neutralisent le peroxyde d'hydrogène, le peroxydite et de nombreux hydroperoxydes. Malgré une activité plus faible que les GPx ou la catalase, elles pourraient jouer un rôle majeur dans l'élimination des hydroperoxydes, du fait de leur quantité importante

(0,1 à 0,8 % de protéines soluble cellulaire) et de leur large distribution dans la cellule (**Favier, 2003**).

#### **I.4.2.2.1.2. Antioxydants non enzymatiques**

Ce sont des antioxydants naturels capables de prévenir les dommages oxydatifs. Ils peuvent se comporter comme des piègeurs des radicaux libres par les interventions directes sur les molécules prooxydantes ou indirectement, en chélatant les métaux de transition, empêchant ainsi la réaction de Fenton. Ce type d'antioxydants possède un avantage considérable par rapport aux antioxydants enzymatiques. Du fait de leur petite taille, ils peuvent en effet pénétrer facilement au cœur des cellules et se localiser à proximité des cibles biologiques. Ce type d'antioxydants regroupe un grand nombre de substances hydrophiles ou lipophiles et ils sont en partie produits par l'organisme au cours de processus biosynthétiques. Néanmoins le nombre d'antioxydants produits *in vivo* est très limité ; on peut citer parmi les plus actifs : le glutathion (**Piquet et Hébuterne, 2007**), le NADPH, les dipeptides (**Boldyrev, 1993**), l'acide urique (**Ames et al., 1993**), l'acide lipoïque (**Packer et al., 2001**) ou la bilirubine (**Stocker et al., 1987**).

#### **I.4.2.2.2. Antioxydants exogènes**

Les antioxydants exogènes sont des substances chimiques extracellulaires qui exercent des effets protecteurs importants *in vivo*. Parmi les antioxydants naturels, on peut citer les plus connus et les plus importants:

##### **I.4.2.2.2.1. L'acide ascorbique ou vitamine C**

La vitamine C est une vitamine hydrosoluble, sensible à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène. Après ingestion, elle passe rapidement dans le sang puis diffuse de façon variable dans tous les tissus. Un apport quotidien minimal d'origine alimentaire est donc nécessaire, celui-ci provient essentiellement des fruits et légumes frais (**Fain, 2004**).

Elle est un antioxydant puissant, capable de piéger/neutraliser à des concentrations très faibles les espèces réactives de l'oxygène (**Carr et Frei, 1999 ; Césarini, 2004**).

Elle est un réducteur susceptible de limiter la peroxydation lipidique et intervient dans la régénération des autres antioxydants tels que les  $\alpha$ -tocophérol (**Halliwell et Gutteridge, 1986 ; Greff, 2011**).

#### **I.4.2.2.2. Les tocophérols (dont la vitamine E)**

Les tocophérols sont des composés liposolubles. Ils regroupent quatre substances dont l'alpha-tocophérol aussi appelé vitamine E est l'antioxydant majeur, la plus active biologiquement (**Wang et Quinn, 2006**).

L' $\alpha$ -tocophérol a été largement étudiée comme complément alimentaire potentiellement préventive dans les maladies cardiovasculaires. Il joue un rôle dans l'atténuation du stress oxydatif, dans les symptômes des maladies neurodégénératives, et en particulier dans la maladie d'Alzheimer qui a récemment reçu un grand intérêt. En conséquence, il entrave l'adhérence des leucocytes aux cellules endothéliales, l'agrégation des plaquettes et la formation consécutive des plaques d'athérome (**Annaházi et al., 2007**).

Il est présent dans les membranes des cellules et les organites cellulaires, où il joue un rôle important dans la suppression de la peroxydation des lipides et il s'accumule sur ces sites au sein des cellules dans lesquelles la production des radicaux d'oxygène est plus grande (**Dutta-Roy, 1999**). Il neutralise les radicaux peroxyde (**Lecerf et al., 1994**), alkyle et alcoyle (**Herrera et Barbas, 2001**).

#### **I.4.2.2.3. Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des pigments fabriqués par les végétaux. Les plus importants sont le bêta-carotène, l' $\alpha$ -carotène, la lutéine, la zéaxanthine et le lycopène. Ils sont responsables des couleurs orange, rouge et jaune des fruits et légumes. Leur fonction essentielle est de protéger les plantes. La plupart des caroténoïdes ont une propriété antioxydante (**Causse, 2005**). L'effet antioxydant de la  $\beta$ -carotène serait dû à une interaction entre le radical et le système de doubles liaisons conjuguées de la chaîne insaturée du piègeur qui serait stabilisée par résonance (**Burton et Ingold, 1984**).

#### **I.4.2.2.4. Les oligoéléments**

Les oligoéléments tels que le sélénium et le zinc sont des cofacteurs importants pour les enzymes antioxydantes (**Favier, 2003 ; Milane, 2004**).

Le sélénium est un constituant de la glutathion peroxydase, enzyme qui joue un rôle intracellulaire antioxydant, voisin de celui de la vitamine E. Cet effet antioxydant est capital dans la détoxification des radicaux libres produits par le métabolisme cellulaire. Cet effet de détoxification serait responsable des effets anti-cancéreux et anti-âge, attribués au sélénium (**Chia-Fung et al., 1995**).

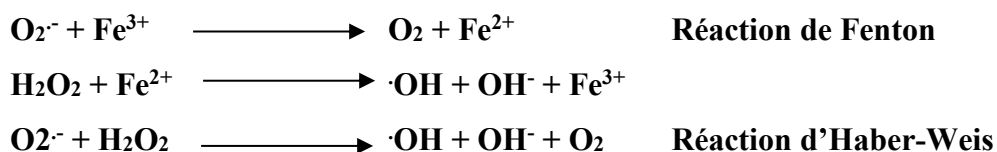
Le zinc est l'un des cofacteurs essentiels de la SOD. La prise de zinc conduit à long terme à l'induction de protéines antioxydantes comme les métallothionéines. Le zinc protège également les groupements thiols des protéines. Le zinc peut inhiber partiellement les réaction de formation des ERO induites par le fer ou le cuivre (**Parma *et al.*, 2004**)

#### **I.4.2.2.2.5. Les polyphénols**

Les composés phénoliques sont capables d'agir comme des antioxydants (**Laughton *et al.*, 1989 ; Apak *et al.*, 2007 ; Halliwell, 2008 ; Perron *et al.*, 2011**) qui peuvent neutraliser les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène. Leurs structures leur confèrent une activité antioxydante aussi importante. Les groupes hydroxyles des polyphénols sont bien des donateurs d'atomes d'hydrogène; ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote. En fin de réaction, le cycle de génération de nouveaux radicaux est interrompu. Le radical formé devient moins dangereux (**Laughton *et al.*, 1989 ; Apak *et al.*, 2007 ; Halliwell, 2008 ; Perron *et al.*, 2011**).

Suite à l'interaction avec les espèces réactives initiales, la forme radicalaire de l'antioxydant est produite, ayant une plus grande stabilité chimique que le radical initial. Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques est également attribué à leur capacité à chélater les métaux ioniques impliqués dans la production de radicaux libres. Cependant, les composés phénoliques peuvent agir comme des prooxydants (**Tsao, 2010 ; Pereira *et al.*, 2009**).

De tous les composés phénoliques, les flavonoïdes sont reconnus possédant de fortes potentialités antioxydantes (**Van Acker *et al.*, 1995 ; Gohlam *et al.*, 2003**). Leurs propriétés antioxydantes sont attribuées à leur capacité à piéger directement les radicaux libres, à chélater les ions métalliques impliqués dans la production des ERO via les réactions de de Fenton et de Haber-Weis (**Puppot, 1992**), d'inhiber quelques enzymes en particulier les oxydases, d'activer les enzymes antioxydantes et de réduire les radicaux  $\alpha$ -tocophéryl (**Cotelle, 2001 ; Heim *et al.*, 2002 ; Lin et Weng, 2006**).



#### **I.4.2.2.2.6. Les antioxydants de synthèse**

Il existe de nombreux antioxydants synthétiques dont les squelettes sont souvent dérivés des antioxydants naturels. Pour une utilisation pratique, les antioxydants de synthèse doivent remplir les conditions suivantes (**Bauer et al., 2010**):

- ils ne doivent pas être toxiques ;
- ils doivent être hautement actifs à des faibles concentrations (0,01-0,02%) ;
- et doivent être présents à la surface ou dans la phase grasse de l'aliment.

Cependant, il reste à les considérer comme des corps étrangers au système biologique. Parmi les polyphénols de synthèse, on peut citer à titre d'exemple : la 3,3',5,5'-Tetra-t-butyl-biphenyl-4,4'-diol qui a montré un effet protecteur des cellules neuronales (**Duong et al., 2008**), et le polyphénol dendrimère de synthèse syringaldehyde qui a montré une activité antioxydante puissante selon le test du DPPH qui a été respectivement deux fois et 10 fois plus fort que la quercétine et trolox. Ce polyphénol de synthèse a montré aussi un effet protecteur des LDL humain contre les attaques des radicaux libres (**Lee et al., 2009**).

## **II. Matériel et méthodes**

## II.1. Matériel

Nos travaux se sont déroulés sur une période de 14 mois, du 7 mars 2016 au 28 avril 2017 aux:

- Laboratoire de Pharmacologie, Pharmacie clinique et Thérapeutique de l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (UFR SPB) de l'Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody (Abidjan), pour les tests pharmacologiques ;
- Laboratoire de Pharmacognosie de l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (UFR SPB) de l'Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody (Abidjan), pour la caractérisation des groupes phytochimiques dans les extraits de plantes;
- Centre de Diagnostic et de Recherche sur le SIDA et les Affections Opportunistes (CeDReS), au CHU de Treichville (Abidjan), pour la détermination de l'activité enzymatique des paramètres biochimiques ;
- Centre Suisse de Recherche Scientifique (CSRS) pour l'activité antioxydante *in vitro* et le dosage des polyphénols et des flavonoïdes
- Laboratoire d'Anatomie pathologique de l'UFR Sciences Médicales de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan (UFR SMA) pour l'étude histologique.

### II.1.1. Matériel végétal

L'étude a été réalisée sur des feuilles de *Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae), récoltées à Yakassemé dans le département d'Adzopé à 75 km d'Abidjan, Côte d'Ivoire. Les feuilles fraîches pesaient 4204g. Après identification par le Centre National de Floristique d'Abidjan, elles ont été lavées et mises à sécher pendant une semaine à l'abri du soleil, à 18°C au laboratoire de Pharmacologie, Pharmacie clinique et Thérapeutique de l'UFR SPB de l'université Félix Houphouët-Boigny. Les feuilles séchées avaient un poids de 1703g. Ces feuilles ont ensuite été broyées à l'aide d'une broyeuse RETSCH de type SM 100.

### II.1.2. Matériel animal

Le matériel animal était constitué de rats de race *Rattus Norvegicus* de souche Wistar dont le poids variait entre 150g et 250g. Ils ont été fournis par l'animalerie du laboratoire de Pharmacologie, Pharmacie clinique et Thérapeutique de l'UFR SPB de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan (Côte d'Ivoire). Tous les animaux y ont été entretenus dans des conditions environnementales contrôlées de  $24 \pm 1$  °C avec un cycle de 12h de lumière et de 12h d'obscurité. Les animaux avaient un accès libre à l'eau et à la nourriture. Ils y ont été

alimentés aux granulés fournis par la société de Fabrication d'Aliments d'Animaux de Côte d'Ivoire (FACI®). Avant le début de l'expérience, ils ont été soumis à un jeûne pendant 12h avec un accès libre à l'eau.

### II.1.3. Matériel technique

Divers matériels techniques ont été utilisés au cours de cette étude (voir photographie ci-dessous) :

- Pour la préparation des extraits de plantes, nous avons eu recours à une broyeuse RETSCH de type SM 100, un agitateur magnétique AGIMATIC-N, des fioles, un évaporateur rotatif (Büchi R180), une étuve MEMMERT, une balance de précision OHAUS, des assiettes en porcelaine, une éprouvette graduée, un entonnoir, du coton, du papier filtre, un mortier, un pilon, une spatule, des verres de montre, des flacons;
- Concernant la préparation des animaux, nous avons utilisé des gants non stériles, une balance OHAUS pour la pesée des animaux, une trousse à disséquer, des cages en plastique, des marqueurs pour le marquage des animaux;
- Quant à l'activité antioxydante *in vitro*, nous avons utilisé une balance de précision METTLER TOLEDO, un spectrophotomètre UV-VIS HACH, un bain marie SALVIS AG 6015, une centrifugeuse SUPER MINOR CENTRIFUGE, un vortex BENDER ET HOBEIN AG, des micropipettes SOCOREX ;
- Pour le tri phytochimique, le matériel utilisé était constitué d'un bain de sable, de tubes à essai, de portoires ;
- l'étude de l'activité hépatoprotectrice a nécessité des seringues, des sondes à gavage, des tubes de prélèvement sans anti coagulant, une centrifugeuse Jouan B3.11, un analyseur automatique ROCHE/INTEGRA 400 plus, des tubes à hémolyse, de micropipettes, des embouts, des gants non stériles, des lames porte-objet, des lames de bistouri, un microscope ;
- Pour l'étude histopatologique, nous avons utilisé des flacons adaptés pour la conservation du foie, des cassettes, un automate à inclusion, un distributeur de paraffine, un bain marie, un microtome rotatif, des lames porte-objets, des lamelles, une étuve, un microscope optique MOTIC, un ordinateur portable, une caméra pour microscope et des portoires.





**Agitateur magnétique**



**Etuve**



**Balance de Précision**



**Balance**



**Evaporateur rotatif**



**Séringues, sonde à gavage**



**Verrerie**



**pH mètre**



**Microvortex**



**Matériel de prélèvement**



**Trousse à dissection**



**Automate à inclusion**



**Distributeur de paraffine**



**Microtome**



**Bac à coloration**



**Bain-marie**



**Microscope optique**

#### II.1.4. Produits chimiques et solvants utilisés

Au cours de cette étude, nous avons utilisé différentes substances, réactifs chimiques et solvants (voir photographie ci-dessous) :

- Pour rechercher l'activité antioxydante, du 2,4,6 –tripyridyl-s-triazine (TPTZ) (Merck, Germany), du chlorure de fer hexahydrate (Merck, Germany), de l'acetate de sodium (Chem-Lab NV, Belgique) de l'acide chlorhydrique commerciale (Merck, Germany), du DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Sigma Aldrich, Germany) et de l'acide ascorbique (Sigma Aldrich, Germany) ;
- Pour identifier les groupes phytochimiques, une solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%, de l'alcool chlorhydrique, des copeaux de magnésium, de l'alcool isoamylique, le réactif de Stiasny, de l'acetate de sodium, le réactif de Dragendorff, le réactif de Burchardat, le réactif de Folin-Ciocalteu, du bicarbonate de sodium, de l'eau distillée, du nitrite de sodium à 5% du trichlorure d'aluminium, de l'hydroxyde de sodium ;
- Pour évaluer l'activité hépatoprotectrice, du sérum salé isotonique 0,9%, de l'éther (Gifrer), de l'eau distillée, des antituberculeux (Isoniazide (Lupin LTD), Rifampicine (Remedica LTD), Pyrazinamide (Cadila Pharmaceuticals Limited)), de la silymarine (Sigma Aldrich) ;
- Pour la détermination de l'activité enzymatique des paramètres biochimiques, des cassettes pour COBAS INTEGRA 400 plus, pour l'alanine amino-transférase (ALAT), l'aspartate amino-transférase (ASAT), la lactate déshydrogénase (LDH), la phosphatase alcaline (PAL), la bilirubine totale (BT) et la bilirubine conjuguée ou bilirubine direct (BC ou BD) fournis par les laboratoires ROCHE.
- Pour l'étude histopathologique, du formol à 10%, de l'éthanol, du toluène, de la paraffine liquide, de l'hématoxyline de Harris, de l'éosine, du xylène, du carbonate de lithium, de l'eukitt, de l'eau acétifiée, de l'acide phosphomolybdique.



**TPTZ**



**Chlorure ferrique**



**DPPH**



**ABTS**



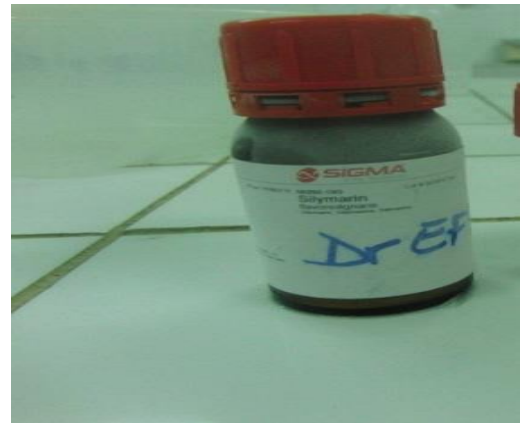
**Vitamine C**



**TROLOX**



**Rifampicine, Isoniazide, Pyrazinamide**



**Silymarine**



**Ether**



**Méthanol**



**Formol**

## II.2. Méthodes

### II-2-1. Préparation des extraits

Les extraits aqueux et méthanolique de *A. cordifolia* ont été obtenus en macérant à la température ambiante de la poudre de feuilles sèches de *A. cordifolia* avec le solvant approprié, puis à obtenir un extrait sec après évaporation de ce solvant.

100g de poudre sèche de feuilles ont été mis à macérer pendant 24 heures dans 1 litre d'eau distillée (extrait aqueux) ou dans 1 litre de mélange méthanol-eau (70:30) (extrait méthanolique). Le mélange a été filtré sur du coton, puis sur du papier filtre (WHATMAN). Le filtrat obtenu a été mis à sécher à l'étuve à 60° pendant 72h pour l'extrait aqueux, et évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif pour l'extrait méthanolique. Le résidu sec (extrait aqueux de *A. cordifolia* (EAAC) ou extrait méthanolique de *A. cordifolia* (EMAC)) obtenu a été gratté à l'aide d'une spatule, récupéré dans des flacons et conservé à 4° pour les différents tests. Ce résidu a servi à la préparation des solutions mères d'extrait aqueux ou d'extrait méthanolique de *A. cordifolia* (figure 10).

Les concentrations utilisées pour la présente étude ont été de 80 mg/ml, 40 mg/ml et 20 mg/ml correspondant respectivement à des doses de 800 mg/kg, 400 mg/kg et 200 mg/kg. Elles ont été déterminées sur la base des effets qu'elles ont produits dans nos précédents travaux (**Effo et al., 2013**).

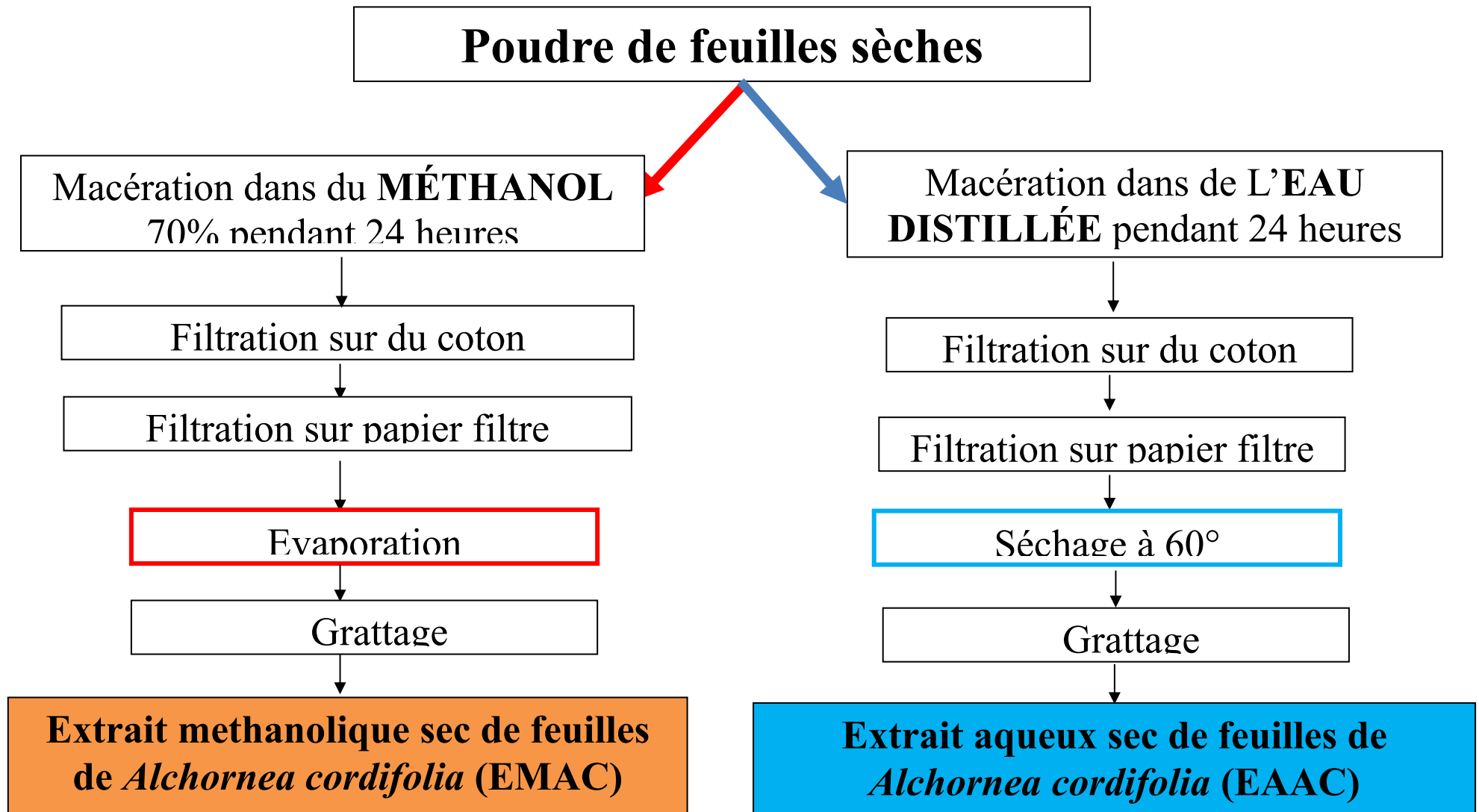


Figure 10: Préparation des extraits aqueux et méthanoliques de feuilles de *Alchornea cordifolia*



## II.2.2. Etude de l'activité antioxydante de *A. cordifolia*

### II.2.2.1. Mesure du pouvoir réducteur

#### Principe

Le pouvoir réducteur du fer ( $\text{Fe}^{3+}$ ) dans les préparations a été déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)** et **Bougandoura et Nassima (2013)**. La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en fer ferreux par les antioxydants qui donnent la couleur bleue dans le milieu réactionnel à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance indique une augmentation de la réduction du fer ferrique donc du pouvoir réducteur des extraits testés.

#### Mode opératoire

Un millilitre de l'EAAC ou de l'EMAC à différentes concentrations (100 à 6,25  $\mu\text{g/ml}$ ) a été mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1%. L'ensemble a été incubé au bain-marie à 50°C pendant 30 minutes. Ensuite, 2,5ml d'acide trichloroacétique à 10% ont été ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes ont été centrifugés à 3000 tours par min pendant 10 minutes.

2,5 ml du surnageant ont été combinés avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$  (Chlorure ferrique) à 0,1% et laissé en incubation pendant 10 minutes à la température ambiante.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel s'est faite à 700 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui a permis de calibrer l'appareil (spectrophotomètre UV-VIS).

Le contrôle positif a été représenté par un standard d'un antioxydant, le trolox à différentes concentrations (100 à 6,25  $\mu\text{g/ml}$ ) dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Singleton et Rossi, 1965**).

Le pourcentage de pouvoir réducteur de fer a été calculé selon la formule suivante (**Ghaisas et al., 2008**):

$$\text{Pouvoir réducteur de fer (\%)} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100.$$

$A_0$  : absorbance de  $\text{FeCl}_3$

$A_1$  : absorbance de  $\text{FeCl}_3$  solution en présence de l'extrait ou du trolox

### II.2.2.2. Mesure de l'activité anti radicalaire

#### Principe

L'activité anti radicalaire des extraits a été évaluée sur la base de l'effet de piégeage des radicaux libres. La méthode utilisée a été celle de **Parejo et al. (2000)** qui est le test au 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH). En effet, la réduction du DPPH par un capteur de radicaux libres s'accompagne de son passage de la couleur violette à la couleur jaune, mesurable à 517 nm. Une faible absorbance traduit une forte inhibition du DPPH et donc une forte activité antiradicalaire.

#### Mode opératoire

Un millilitre de l'EAAC ou de l'EMAC à différentes concentrations (de 100 à 6,25  $\mu\text{g/mL}$ ) a été mélangé avec 2,5 ml de solution de DPPH dans du méthanol (0,1 mM).

Après incubation à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 minutes, l'absorbance de chaque solution a été lue à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Un témoin blanc contenant 2,5 ml de méthanol et 2,5 ml de DPPH dans du méthanol a été réalisé parallèlement.

L'acide ascorbique à 100  $\mu\text{g/mL}$  a été utilisé comme référence.

Toutes les mesures ont été effectuées en triple et la moyenne a été calculée.

La capacité à piéger les radicaux DPPH a permis de déterminer un pourcentage d'inhibition qui a été calculé selon la formule suivante:

$$\text{Inhibition du DPPH (\%)} = [(A_0 - A_1) / (A_0)] \times 100$$

$A_0$  : absorbance de la solution de DPPH en l'absence d'extrait (blanc)

$A_1$  : absorbance de la solution de DPPH en présence de l'extrait (essai)

### II.2.2.3. Méthode ABTS

#### Principe

La méthode utilisée a été celle de **Re *et al.* (1999)**. Le test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS<sup>+</sup> (2,2'-Azino-Bis (3 - éthylbenzoThiazoline -6- Sulfonique acide), de coloration bleu-vert en le transformant en ABTS<sup>+</sup> incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant.

Une comparaison a été faite avec la capacité du Trolox, analogue structural hydrosoluble de la vitamine E, à capturer l'ABTS<sup>+</sup>. La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre.

#### Mode opératoire

Un volume de 0,1 ml de l'EAAC ou de l'EMAC à différentes concentrations (de 100 à 6,25 µg/mL) a été mélangé à 2,5 ml du réactif ABTS. Après incubation à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 minutes, l'absorbance de chaque solution a été déterminée à 734 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Un témoin blanc contenant 2,5 mL de méthanol et 2,5 mL du réactif ABTS a été réalisé parallèlement.

Le trolox à 100 µg/mL a été utilisé comme référence.

Toutes les mesures ont été effectuées en triple avec calcul de leurs moyennes.

Le pourcentage d'inhibition de l'ABTS a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage inhibition (\%)} = [(A_0 - A_1) / (A_0)] \times 100.$$

$A_0$  : l'absorbance du radical ABTS.

$A_1$  : l'absorbance de l'échantillon ABTS radical en présence de l'extrait

### **II.2.3. Tri phytochimique**

#### **II.2.3.1. Caractérisation des groupes phytochimiques**

Nous avons caractérisé les différents groupes chimiques, c'est-à-dire les polyphénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins et les saponosides, en nous référant aux techniques décrites dans les travaux de **Ronchetti et Russo (1971)**, **Hegnauer (1973)**, **Wagner (1983)**.

##### **II.2.3.1.1. les polyphénols**

###### **Principe**

La réaction au chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) a permis de caractériser les polyphénols. Les polyphénols forment avec le chlorure ferrique une coloration bleu-noirâtre ou verte.

###### **Mode opératoire**

A 2 ml d'EAAC ou d'EMAC, nous avons ajouté une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée révélait la présence de polyphénols. L'appréciation de cette coloration a été faite comparativement à un composé phénolique de référence.

##### **II.2.3.1.2. les flavonoïdes**

###### **Principe**

Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine. Les flavonoïdes forment en solution alcoolique diverses colorations selon leurs structures chimiques. Ainsi, en présence de flavones, la coloration est orange, avec les flavonols, elle est rouge, et elle est rouge-violacée avec les flavonones.

### **Mode opératoire**

Deux (2) ml d'EAAC ou d'EMAC ont été évaporés et le résidu a été repris dans 5 ml d'alcool chlorhydrique dilué 2 fois. En ajoutant 2 à 3 copeaux de magnésium, il y avait un dégagement de chaleur puis une coloration rose orangée ou violacée. L'addition de 3 gouttes d'alcool isoamylique intensifiait cette coloration qui confirmait la présence de flavonoïdes.

#### **II.2.3.1.3. les tanins**

##### **Principe**

La recherche des tanins a été réalisée à partir du réactif de Stiasny. Les tanins catéchiques, sous forme condensée, ont été précipités en gros flocons par chauffage suivi de refroidissement. Les tanins galliques se présentent sous forme hydrolysables. Ils ont été hydrolysés après addition d'acétate de sodium, et ont formé un précipité bleu-noir en présence de  $\text{FeCl}_3$ .

##### **Mode opératoire**

Cinq (5) ml d'EAAC ou d'EMAC ont été évaporés à sec. Après ajout de 15 ml du réactif de Stiasny au résidu, le mélange a été maintenu au bain-marie à  $80^\circ\text{C}$  pendant 30 minutes. L'observation d'un précipité en gros flocons caractérisait les tanins catéchiques.

Pour les tanins galliques, nous avons filtré la solution précédente. Le filtrat a été recueilli et saturé d'acétate de sodium. L'addition de 3 gouttes de  $\text{FeCl}_3$  a provoqué l'apparition d'une coloration bleu-noir intense, caractérisant la présence de tanins galliques.

#### **II.2.3.1.4. les alcaloïdes**

##### **Principe**

Les alcaloïdes ont été caractérisés à partir des réactifs de Burchardat (réactif iodo-ioduré) et de Dragendorff (réactif à l'iodo-bismuthate de potassium). Les alcaloïdes se complexent avec les métaux lourds tels que le bismuth, l'iode, le mercure, le tungstène et précipitent sous forme de sels. Ils forment ainsi un précipité ou une coloration orangée avec le réactif de Dragendorff, et un précipité de coloration brun-rougeâtre avec le réactif de Burchardat.

### **Mode opératoire**

Six (6) ml d'EAAC ou d'EMAC ont été évaporés à sec. Le résidu a été repris par 6 ml d'alcool à 60°. L'addition de 2 gouttes du réactif de Dragendorff sur la solution alcoolique a provoqué un précipité ou une coloration orangée. L'ajout de 2 gouttes du réactif de Burchardat sur la solution alcoolique a provoqué un précipité de coloration brun-rougeâtre et indiquait une réaction positive.

#### **II.2.3.1.5. les saponosides**

##### **Principe**

Les saponosides ont été caractérisés par leur pouvoir aphrogène. En milieu aqueux, les saponosides ont le pouvoir de former une mousse importante et persistante.

##### **Mode opératoire**

Pour rechercher les saponosides, nous avons versé, dans un tube à essais, 10 ml de l'extrait total en milieu aqueux. Le tube a été agité pendant 15 secondes puis laissé au repos durant 15 minutes. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indiquait la présence de saponosides.

#### **II.2.3.2. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes**

##### **II.2.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux**

##### **Principe**

La teneur en polyphénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode de **Singleton et al. (1965)** en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. L'acide phosphotungstique et l'acide phosphomolybdique présents dans le réactif de Folin-Ciocalteu sont réduits par les groupements hydroxyles phénoliques en oxydes bleus de tungstène et de molybdène quantifiables au spectrophotomètre à 760 nm.

### **Mode opératoire**

2500 µl du réactif de folin –Ciocalteu (dilué au 1/10<sup>ième</sup>) ont été ajoutés à 500 µl d'extrait à 0,1 mg/ml et l'ensemble a été incubé pendant deux minutes à température ambiante. Puis 2000 µl de bicarbonate de sodium à 75 g/l y ont été ajoutés, suivis immédiatement d'une incubation à 50°C pendant 15 minutes. Après refroidissement rapide des tubes dans l'eau glacée, l'absorbance a été lue à 760 nm au spectrophotomètre. La quantité de composés phénoliques totaux, en mg/g d'équivalent d'acide gallique (mg EAG), a été déterminée par la courbe d'étalonnage variant de 0 à 250 mg/mL, réalisée avec différentes concentrations d'acide gallique.

#### **II.2.3.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux**

##### **Principe**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par **Zhishen *et al.*, (1999)** avec le trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm.

##### **Mode opératoire**

500 µg de chaque extrait brut ont été dilués avec 1500 µl d'eau distillée, suivis de l'ajout de 150 µl de nitrite de sodium (NaNO<sub>2</sub>) à 5%. Après 5 minutes, 150 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 10% (m/v) ont été rajoutés au mélange. Après 6 minutes d'incubation à la température ambiante, 500 µl d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% ont été additionnés. Immédiatement, le mélange a été complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. L'absorbance de la solution de couleur rosâtre a été lue à 510 nm contre un blanc. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la quercétine comme contrôle positif.

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits de plante étudiée a été exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme de la matière végétale sèche (mg EQ/g).

## **II.2.4. Etude de l'activité hépatoprotectrice de *A. cordifolia* chez le rat**

### **II.2.4.1. Principe**

L'étude a consisté à induire l'hépatotoxicité chez des rats de laboratoire en utilisant des médicaments antituberculeux à forte dose dans différentes combinaisons (**Santhosh et al., 2007, Saraswathy et al., 1998**) sur 10 jours. Ces combinaisons produisent diverses catégories de lésions au niveau du foie, y compris une nécrose centrolobulaire et une prolifération des cellules hépatiques (**Graham et al., 2004**), se traduisant par une élévation des valeurs sériques des paramètres biochimiques spécifiques et non spécifiques d'hépatotoxicité (ALAT, ASAT, LDH, PAL, BIL T, BIL D). Une substance hépatoprotectrice entraînerait une normalisation des paramètres hépatiques perturbés par l'administration des antituberculeux.

### **II.2.4.2. Mode opératoire**

#### **II.2.4.2.1. Etude de l'effet des extraits aqueux et méthanolique de *A. cordifolia* seuls sur les paramètres hépatiques d'hépatotoxicité**

Quarante deux (42) rats des 2 sexes ont été répartis indifféremment en 7 lots de 6 rats chacun et ont quotidiennement reçu pendant 10 jours différentes substances comme suit:

- Les rats du lot 1 (témoin négatif), une solution saline par gavage;
- Les rats du lot 2, l'EAAC à 200 mg/kg/jour par gavage;
- Les rats du lot 3, l'EAAC à 400 mg/kg/jour par gavage;
- Les rats du lot 4, l'EAAC à 800 mg/kg/jour par gavage ;
- Les rats du lot 5, l'EMAC à 200 mg/kg/jour par gavage;
- Les rats du lot 6, l'EMAC à 400 mg/kg/jour par gavage;
- Les rats du lot 7, l'EMAC à 800 mg/kg/jour par gavage.



#### **II.2.4.2.2. Etude de l'hépatotoxicité induite par l'isoniazide**

Cinquante quatre (54) rats des deux sexes ont été répartis en 9 lots de 6 rats chacun et ont quotidiennement reçu pendant 10 jours, différentes substances comme suit:

- Les rats du lot 1, une solution saline par gavage;
- Les rats du lot 2, l'INH à 100 mg/kg/jour par gavage;
- Les rats des lots 3, 4 et 5, l'extrait méthanolique de *A. cordifolia* respectivement à 200, 400 et 800 mg/kg/jour par gavage, 2 heures après l'administration de l'INH (100 mg/kg/jour) ;
- Les rats des lots 7, 7 et 8, l'extrait aqueux de *A. cordifolia* respectivement à 200, 400 et 800 mg/kg/jour par gavage, 2 heures après l'administration de l'INH (100 mg/kg/jour) ;
- Les rats du lot 9, la silymarine à 100 mg/kg/jour par gavage, 2 h après l'administration de l'INH (100 mg/kg/jour).

#### **II.2.4.2.3. Etude de l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide et rifampicine**

Cinquante quatre (54) rats des deux sexes ont été répartis en 9 lots de 6 rats chacun et ont quotidiennement reçu pendant 10 jours, différentes substances comme suit:

- Les rats du lot 1, une solution saline par gavage;
- Les rats du lot 2, la combinaison INH (100 mg/kg/jour) + RIF (100mg/kg/jour) par gavage;
- Les rats des lots 3, 4 et 5, l'extrait méthanolique de *A. cordifolia* respectivement à 200, 400 et 800 mg/kg/jour par gavage, 2 heures après l'administration de la combinaison INH (100 mg/kg/jour) + RIF (100mg/kg/jour).
- Les rats des lots 6, 7 et 8, l'extrait aqueux de *A. cordifolia* respectivement à 200, 400 et 800 mg/kg/jour par gavage, 2 heures après l'administration de la combinaison INH (100 mg/kg/jour) + RIF (100mg/kg/jour);
- Les rats du lot 9, la silymarine (100 mg/kg/jour) par gavage, 2 h après l'administration de la combinaison INH (100 mg/kg/jour) + RIF (100mg/kg/jour).

#### **II.2.4.2.4. Etude de l'hépatotoxicité par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide:**

Cinquante quatre (54) rats des deux sexes ont été répartis en 9 lots de 6 rats chacun et ont quotidiennement reçu pendant 10 jours, différentes substances comme suit:

- Les rats du lot 1, une solution saline par gavage;
- Les rats du lot 2, la combinaison INH (100 mg/kg/jour) + RIF (100mg/kg/jour) + PZA (100 m/kg/jour) par gavage;
- Les rats des lots 3, 4 et 5, l'extrait méthanolique de *A. cordifolia* respectivement à 200, 400 et 800 mg/kg/jour par gavage, 2 heures après l'administration de la combinaison INH (100 mg/kg/jour) + RIF (100mg/kg/jour) + PZA (100 m/kg/jour) ;
- Les rats des lots 6, 7 et 8, l'extrait aqueux de *A. cordifolia* respectivement à 200, 400 et 800 mg/kg/jour par gavage, 2 heures après l'administration de la combinaison INH (100 mg/kg/jour) + RIF (100mg/kg/jour) + PZA (100 m/kg/jour);
- Les rats du lot 9, la silymarine à 100 mg/kg/jour par gavage, 2 heures après l'administration de la combinaison INH (100 mg/kg/jour) + RIF (100mg/kg/jour) + PZA (100 m/kg/jour).

Au terme des 10 jours, les animaux ont été anesthésiés le 11<sup>ème</sup> jour par inhalation d'éther. Un prélèvement sanguin par ponction cardiaque a été fait sur tube sec. Après rétraction du caillot à température ambiante pendant 30 minutes, le sang a été centrifugé à 2000 tours par minute pendant 15 minutes pour la séparation du sérum qui a servi à la détermination de l'activité enzymatique des paramètres biochimiques de l'hépatotoxicité.

Les foies de tous les animaux ont été par la suite prélevés, lavés avec une solution saline froide et éponnés avec du papier-filtre. Ils ont ensuite été fixés dans une solution de formol à 10% pour l'analyse histologique.

## II.2.4.2.5. Évaluation de la fonction hépatique

### II.2.4.2.5.1. Détermination de l'activité enzymatique des paramètres biochimiques sériques d'hépatotoxicité

Le sérum obtenu des rats des différents lots a été utilisé pour déterminer l'activité enzymatique des paramètres biochimiques spécifiques et non spécifiques qui sont connus être modifiés par des hépatotoxines, afin d'évaluer l'activité hépatoprotectrice de *A. cordifolia*. Il s'est agi de l'ALAT, l'ASAT (Reitman et al., 1957), la PAL (Horn, 1972) et la LDH (Wootton, 1974), la BIL T et la BIL D (Doumas et al., 1973).

Ces activités enzymatiques ont été déterminées sur un analyseur automatique en utilisant des cassettes COBAS INTEGRA 400 plus

#### II.2.4.2.5.1.1. Détermination de l'activité enzymatique des transaminases

La détermination de l'activité enzymatique des transaminases a été effectuée par méthode cinétique utilisant le couple  $\text{NAD}^+/\text{NADH},\text{H}^+$ , selon les recommandations de la Fédération Internationale de Chimie Clinique (FICC) (Bergmeyer et al., 1986). Les résultats sont exprimés en UI/L.

#### Détermination de l'activité enzymatique de l'alanine amino-transférase

##### Principe

L'ALAT catalyse la réaction entre la L-alanine et le 2-oxoglutarate. Le pyruvate formé est réduit par le NADH, dans une réaction catalysée par la lactate déshydrogénase (LDH), pour donner du L-lactate et du  $\text{NAD}^+$



L'activité catalytique de l'ALAT est déterminée en mesurant la vitesse de disparition de NADH à la longueur d'onde de 340 nm au spectrophotomètre.

### Mode opératoire

Un volume de 0,5 mL de milieu réactionnel contenant du tampon Tris HCl (100 mM ; pH 7,8), la L-alanine (500 mM), le 2-oxoglutarate (12 mM), le NADH (0,1 mM), le LDH ( $\geq 12$  kU/L) et l'azide de sodium 0,05%, a été incubé au préalable au bain-marie à 37 °C pendant 2 à 3 minutes.

Un volume de 0,05 ml de sérum a été ensuite ajouté à cette préparation. Après agitation, la densité optique a été mesurée toutes les minutes pendant 3 min au spectrophotomètre à 340 nm.

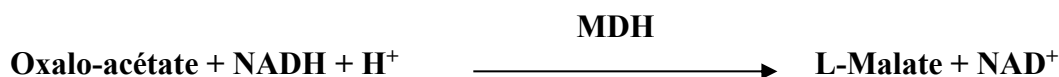
L'activité enzymatique de l'ALAT (AE ALAT) ( $F_x = 1745$ ) exprimée en UI/L a été déterminée de la manière suivante :

$$\text{AE ALAT} = \frac{\Delta \text{DO}}{t \text{ (min)}} \times 1745$$

### Détermination de l'activité enzymatique de l'aspartate amino-transférase

#### Principe

L'ASAT de l'échantillon catalyse le transfert du groupement  $\alpha$ -amine entre le L-aspartate et le 2-oxoglutarate pour former de l'oxaloacétate et du L-glutamate. L'oxaloacétate réagit ensuite avec le NADH, en présence de malate déshydrogénase (MDH), pour former du  $\text{NAD}^+$ .



La vitesse d'oxydation du NADH est directement proportionnelle à l'activité de l'ASAT. On l'apprécie par la mesure de l'absorbance à 340 nm (diminution).

#### Mode opératoire

0,5 ml du milieu réactionnel contenant du tampon Tris HCl (80 mM ; pH 7,8), le L-aspartate (240 M), le 2-oxoglutarate (12 mM), le NADH (0,2 mM), le MDH ( $\geq 0,4$  kU/L), le LDH ( $\geq 0,8$  kU/L), et l'azide de sodium 0,05% a été incubé au préalable au bain-marie à 37 °C pendant 2 à 3 min.

Un volume de 0,05 ml de sérum a été ensuite ajouté à ce mélange réactionnel. Après agitation, les densités optiques ont été mesurées toutes les minutes pendant 3 min au spectrophotomètre à 340nm.

L'activité enzymatique de l'ASAT (AE ASAT) (FX=1745) exprimée en UI/L a été déterminée de la manière suivante :

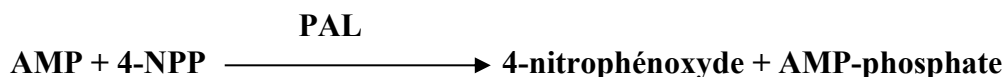
$$\text{AE ASAT} = \frac{\Delta \text{DO}}{\text{T (min)}} \times 1745$$

#### **II.2.4.2.5.1.2. Détermination de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline**

La détermination de l'activité enzymatique de la PAL s'est faite selon la méthode cinétique utilisant le couple  $\text{NAD}^+/\text{NADH},\text{H}^+$ . Elle a été réalisée selon les recommandations de la Fédération Internationale de Chimie Clinique (FICC) **Tietz et al., (1983)**. Les résultats sont exprimés en UI/L.

#### **Principe**

La PAL catalyse l'hydrolyse du 4-nitrophényl-phosphate ester incolore (4-NPP) en 4-nitrophénoxyde et en phosphate. Le 4-nitrophénoxyde produit par l'hydrolyse enzymatique a une couleur jaune au pH de la réaction qui est un pH alcalin, voisin de 8,5. Le 2-amino-2-méthyl-1-propanol (AMP) joue le rôle d'accepteur de phosphate et de tampon.



La vitesse de formation du 4-nitrophénoxyde est directement proportionnelle à l'activité catalytique. On la mesure en appréciant l'augmentation de l'absorbance à 409 nm.

#### **Mode opératoire**

Un volume de 1 ml de milieu réactionnel contenant le 2-amino-2-méthyl-1-propanol (0,35 mol/L), le 4-nitrophényl-phosphate (16 mmol/l), du magnésium ( $\text{Mg}^{++}$ , 2 mmol/l), du zinc ( $\text{Zn}^{++}$ , 1 mmol/l), et de l'azide de sodium à 0,007% a été incubé au préalable au bain-marie à 37 °C pendant 2 à 3 minutes. Le sérum (0,015 ml) a été ensuite ajouté à cette préparation. Après agitation, la densité optique a été mesurée toutes les minutes pendant 3 min au spectrophotomètre à 409 nm.

L'activité enzymatique de la PAL (AE PAL) ( $F_x = 3660$ ) exprimée en UI/L a été déterminée suivant la formule :

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

#### II.2.4.2.5.1.3. Détermination de l'activité enzymatique de la lactate déshydrogénase

La détermination de l'activité enzymatique de la LDH a été réalisée selon la méthode cinétique, conformément aux recommandations de la Fédération Internationale de Chimie Clinique (FICC) (Van der Heiden *et al.*, 1994). Les résultats sont exprimés en UI/L.

##### Principe

La LDH catalyse la réaction entre le pyruvate et le NADH pour former le L- lactate et le  $\text{NAD}^+$ .



La vitesse initiale d'oxydation du NADH est directement proportionnelle à l'activité catalytique de la LDH. On mesure la vitesse de diminution de l'absorbance à 340 nm.

##### Mode opératoire

Un volume de 1 ml de milieu réactionnel à pH 7,5, contenant du phosphate (48 mmol/l), le NADH (48 mmol/l) et du pyruvate (0,52 mmol/l) a été incubé au préalable au bain-marie à 37°C pendant 2 à 3 minutes. Le sérum (0,015 ml) a été ensuite ajouté à cette préparation. Après agitation, la densité optique a été mesurée toutes les minutes pendant 3 minutes au spectrophotomètre à 240 nm.

L'activité enzymatique de la LDH (AE LDH) ( $F_x = 3660$ ) exprimée en UI/l a été déterminée suivant la formule :

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

#### II.2.4.2.5.1.4. Dosage de la bilirubine directe

##### Principe

La bilirubine conjuguée ou bilirubine directe réagit directement avec l'acide sulfanilique diazoté pour former l'azobilirubine colorée en rouge (Malloy et Evelyn, 1937 ; Jendrassik et Gröf, 1938).



Le maximum d'absorbance de l'azobilirubine étant pH dépendant, on utilise un système tampon acide oxalique/acide sulfanilique pour maintenir le pH de la réaction.

Le dosage est spécifique de la bilirubine directe dans le sérum. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de bilirubine directe dans l'échantillon. On mesure l'augmentation de l'absorbance à 552 nm.

##### Mode opératoire

A 1 ml du milieu réactionnel composé de l'acide sulfanilique (13,5 mmol/L), l'acide oxalique (15,4 mmol/L) et l'acide chlorhydrique (130 mmol/L), a été ajouté du nitrite de sodium (0,5 mmol/L) puis 0,1 mL de sérum. Le blanc échantillon a été réalisé avec 0,1 mL d'eau distillée en lieu et place du sérum. Après une agitation automatique et une incubation à la température ambiante pendant 5 min, l'absorbance a été lue au spectrophotomètre à 552 nm. Une solution de bilirubine de concentration connue (49,3 mg/L) a été utilisée comme étalon.

La concentration de la bilirubine totale a été déterminée selon la formule suivante :

$$\text{Concentration de bilirubine} = \frac{\text{Abs échantillon}}{\text{Abs étalon}} \times \text{Concentration étalon}$$

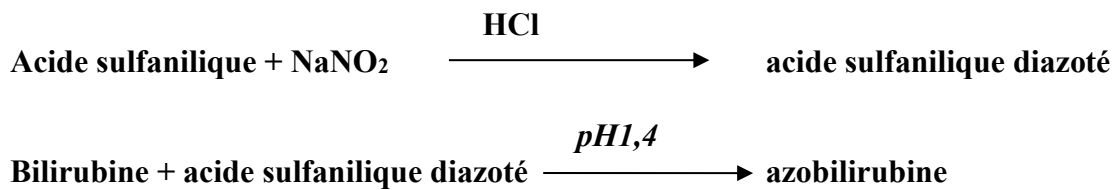
Abs échantillon est l'absorbance de l'échantillon

Abs étalon l'absorbance de l'étalon.

## II.2.4.2.5.1.5. Dosage de la bilirubine totale

### Principe

La concentration de bilirubine totale est déterminée à l'aide de surfactants qui solubilisent la bilirubine non conjuguée (bilirubine indirecte), et dénaturent l'albumine, son transporteur. Les bilirubines conjuguée et non conjuguée de l'échantillon réagissent avec l'acide sulfanilique diazoté pour former l'azobilirubine colorée en rouge (Malloy et Evelyn, 1937 ; Jendrassik et Gröf, 1938).



Le maximum d'absorbance de l'azobilirubine étant pH dépendant, on utilise un système tampon acide oxalique/acide sulfanilique pour maintenir le pH de la réaction.

L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de bilirubine totale dans l'échantillon et est déterminée par la mesure de l'augmentation de l'absorbance à 552 nm.

### **Mode opératoire**

A 1 ml du milieu réactionnel composé de l'acide sulfanilique (13,5 mmol/l), l'acide oxalique (15,4 mmol/l) et l'acide chlorhydrique (130 mmol/l) a été ajouté du nitrite de sodium (3,1 mmol/l) puis 0,1 ml de sérum. Le blanc échantillon a été réalisé avec 0,1 ml d'eau distillée en lieu et place du sérum. Après une agitation automatique et une incubation à la température ambiante pendant 5 min, l'absorbance a été lue au spectrophotomètre à 552 nm. Une solution de bilirubine de concentration connue (49,3 mg/l) a été utilisée comme étalon.

La concentration de la bilirubine totale a été déterminée selon la formule suivante :

$$\text{Concentration de bilirubine} = \frac{\text{Abs échantillon}}{\text{Abs étalon}} \times \text{Concentration étalon}$$

Abs échantillon est l'absorbance de l'échantillon

Abs étalon l'absorbance de l'étalon.



## **II.2.4.2.5.2. Etude histopathologique des foies**

### **Principe**

L'étude histopathologique a consisté à rechercher des lésions hépatiques à l'œil nu sur le foie entier, puis sur des coupes minces et transparentes de tissus de foie au microscope optique après une coloration donnant à chaque élément de la cellule, une teinte caractéristique (**Redman et al., 2010**).

### **Mode opératoire**

L'étude histopathologique s'est déroulée en différentes étapes :

#### **- Fixation**

La fixation permet de conserver les structures tissulaires. Le fixateur que nous avons utilisé est le formol à 10% dans lequel le foie a été conservé.

#### **- Examen macroscopique**

L'examen macroscopique a consisté à observer à l'œil nu le foie des rats. Il a permis de noter l'aspect des foies et de rechercher des lésions visibles en rapport avec les modifications tissulaires

#### **- Inclusion en paraffine**

L'inclusion en paraffine s'est faite à l'aide d'un automate à inclusion dans lequel toutes les opérations ci-après ont été réalisées. Elle a consisté à infiltrer et à enrober les foies à examiner avec de la paraffine. L'inclusion a été précédée d'une étape de déshydratation qui a consisté à passer les foies dans des bains d'alcool de degré croissant (50°, 70°, 90°, puis 100°). L'intérêt de la déshydratation est d'éliminer le fixateur. L'alcool est ensuite remplacé par un solvant miscible à la paraffine, le xylène.

Une fois totalement imprégné, le tissu est placé dans de la paraffine liquide dont la température est comprise entre 50 et 70°C, ce qui provoque l'évaporation du solvant et sa dissolution dans la paraffine. Les espaces ainsi libérés sont remplis par la paraffine.

La paraffine est par la suite placée dans de petits moules, à température ambiante, pour son durcissement et donc la rigidification des fragments tissulaires prélevés. Nous avons procédé

alors au démoulage qui a permis d'obtenir des fragments tissulaires inclus dans un bloc de paraffine.

#### **- Coupe au microtome**

Le bloc de paraffine contenant le tissu est coupé en fins rubans de 3 à 5  $\mu\text{m}$  à l'aide d'un microtome. Plusieurs motifs de coupe tissulaire sont étalés sur des lames. Les lames ont été par la suite déparaffinées à l'étuve afin d'assurer une bonne adhésion des tissus à la lame avant coloration.

#### **- Coloration des lames**

La coloration utilisée au cours de notre étude a été celle à l'hématoxyline-éosine (HE). L'hématoxyline colore les noyaux en violet foncé, et l'éosine colore les cytoplasmes en rose. La technique de coloration à l'HE est mise en annexe de ce document.

Les modifications cellulaires observées sont considérées minimales lorsqu'elles apparaissent sur 1/3 du champ d'observation, modérées si elles occupent la moitié du champ, et sévères si elles occupent plus de la moitié du champ d'observation.

#### **II.2.4.5. Considérations éthiques**

L'utilisation des animaux a été faite selon les règles éthiques internationales sur l'expérimentation animale (Veissier I, 1999).

#### **II.2.4.6. Analyse et traitement des données**

Les résultats obtenus ont été exprimés en moyenne  $\pm$  écart type. L'analyse statistique des résultats a été réalisée par le logiciel SPSS v 18.0. La représentation graphique des données a été effectuée à partir du logiciel Graph Pad Prism 7.00. La comparaison des moyennes a été faite à l'aide du test non paramétrique de Wilcoxon. La différence a été considérée comme significative si  $p < 0,05$ .

# **III. Résultats**

### **III.1. Rendements**

#### **III.1.1. Rendement de séchage**

Les feuilles fraîches pesaient 4204g, et les feuilles sèches, 1703g, ce qui a donné un rendement de séchage de 40,51%.

#### **III.1.2. Rendement d'extraction**

L'extraction au méthanol à 70% (EMAC) a donné 15,96 g de résidu sec pour 100 g de poudre de feuilles, soit un rendement de 15,96%. Le résidu sec issu de l'extraction aqueuse (EAAC) pesait quant à lui 8,14 g pour 100 g de poudre de feuilles, soit un rendement de 8,14%.

### **III.2. Résultats de l'activité antioxydante *in vitro***

L'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* a été évaluée par trois méthodes à savoir la réduction du fer (FRAP), l'activité antiradicalaire vis-à-vis du DPPH et de l'ABTS. Les substances références utilisées étaient le trolox pour le FRAP et l'ABTS, et la vitamine C pour le DPPH.

#### **III.2.1. Pouvoir réducteur**

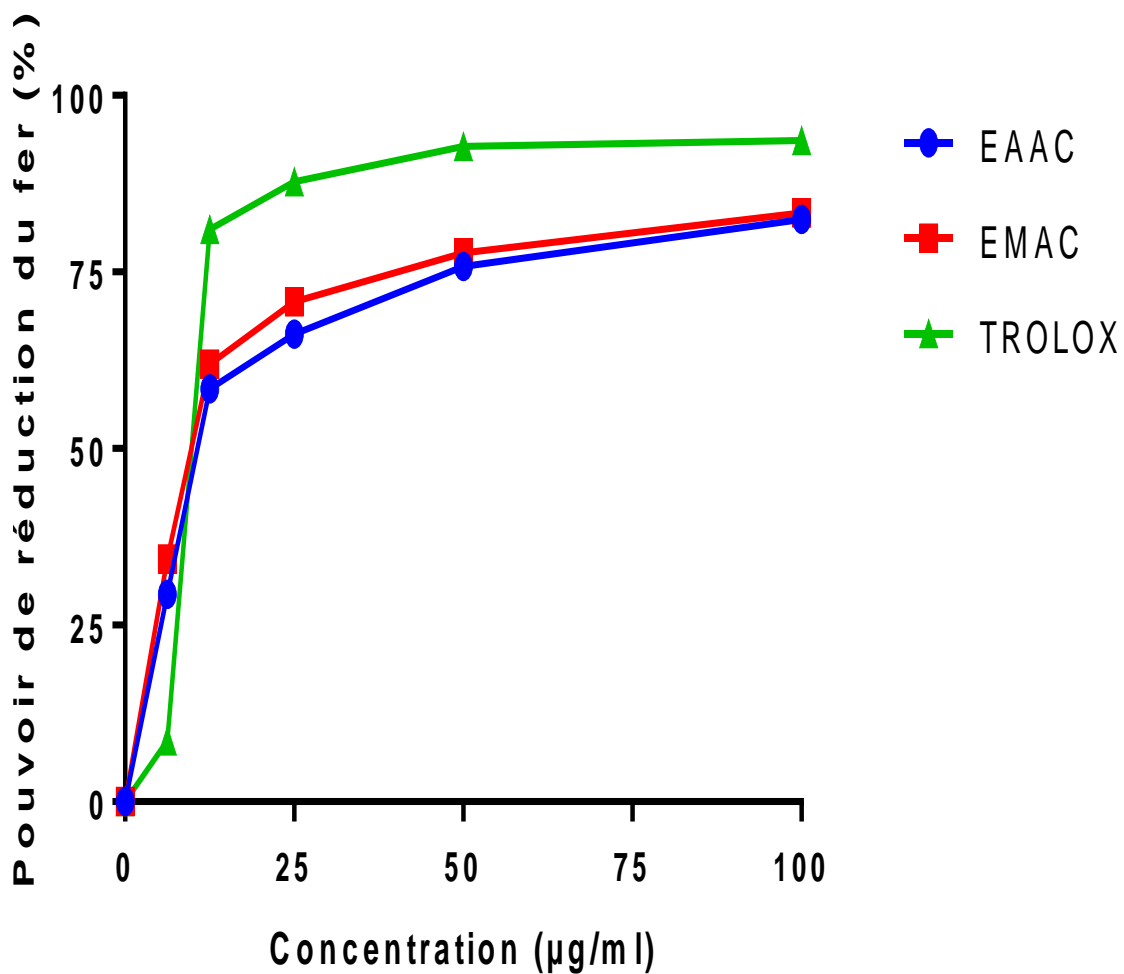
La **figure 11** montre les résultats du pouvoir réducteur de l'EAAC, de l'EMAC et du Trolox. L'EAAC et l'EMAC ont un pouvoir réducteur qui augmente proportionnellement avec la concentration, traduisant une activité dose dépendante. Il en est de même pour le trolox. Le pouvoir réducteur de l'EAAC et celui de l'EMAC semblent superposables ( $p > 0,05$ ).

### **III.2.2. Activité antiradicalaire DPPH**

Les résultats de l'activité antiradicalaire de l'EAAC, de l'EMAC et de la vitamine C sont consignés sur la **figure 12**. L'EAAC et l'EMAC ont un pouvoir d'inhibition du radical DPPH qui augmente proportionnellement avec la concentration. Ce pouvoir semble superposable entre L'EAAC, l'EMAC et la vitamine C ( $p > 0,05$ ).

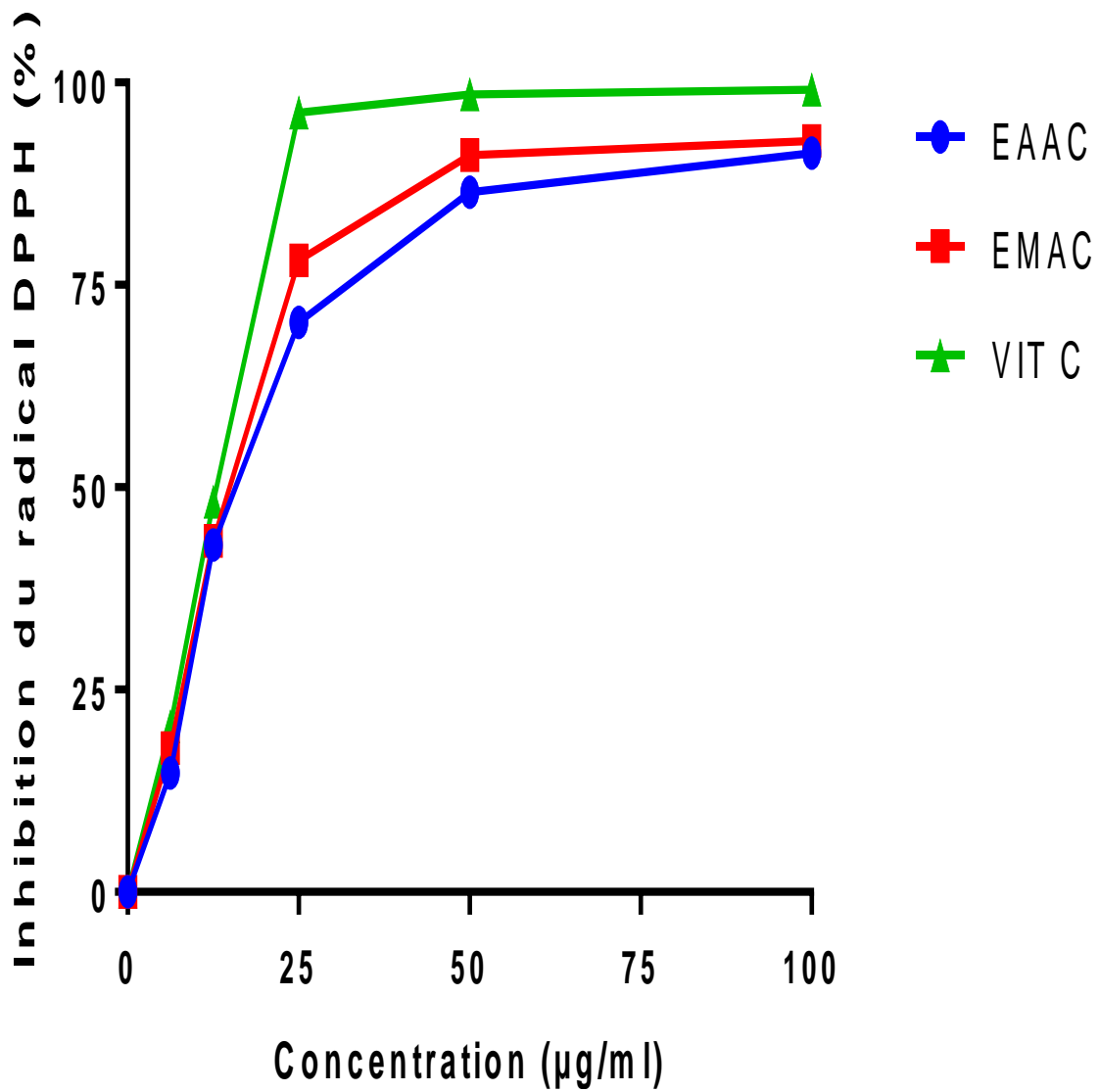
### **III.2.3. Activité antiradicalaire ABTS**

Les résultats de l'activité antiradicalaire de l'EAAC, de l'EMAC et du trolox sont représentés sur la **figure 13**. L'EAAC et l'EMAC ont un pouvoir de stabilisation de l'ABTS qui augmente proportionnellement avec la concentration. Le pouvoir réducteur de l'EAAC, de l'EMAC et celui du trolox semblent superposables.



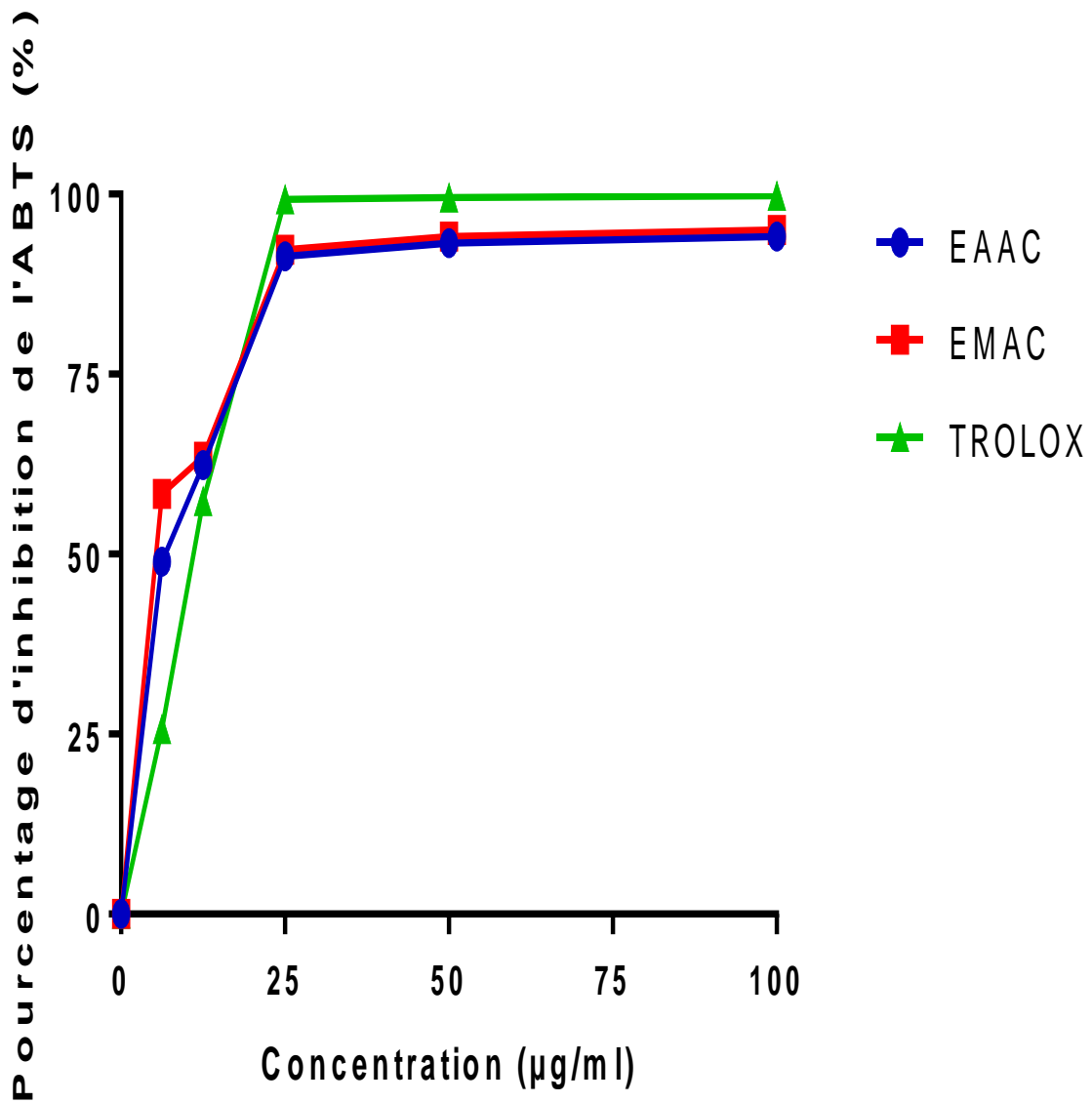
**Figure 11:** Pouvoir réducteur des extraits de feuilles de *A. cordifolia* et du trolox.

EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia* ; EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*.



**Figure 12:** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH des extraits de feuilles de *A. cordifolia* et de la vitamine C.

EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia* ; EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia* ; VIT C : vitamine C



**Figure 13:** Pourcentage d'inhibition du radical ABTS des extraits de feuilles de *A. cordifolia* et du trolox.

EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia* ; EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*.



### III.3. Résultats du tri phytochimique

#### III.3.1. Caractérisation phytochimique

Le tri phytochimique a permis de rechercher dans les extraits totaux aqueux et méthanolique de *A. cordifolia* cinq groupes chimiques capables de posséder une activité pharmacologique. Il s'est agi des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes et des saponosides. Le **tableau V** résume les résultats sur cette recherche. L'extrait aqueux de *A. cordifolia* contient des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins catéchiques et des alcaloïdes. L'extrait méthanolique est différent par l'absence de tanins et la présence de saponosides.

#### III.3.2. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes

La teneur en polyphénols et en flavonoïdes de chaque extrait a été déterminée et représentée sur la **figure 14**.

La teneur en polyphénols totaux de chaque extrait a été exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g). L'extrait méthanolique contient  $0,055 \pm 0,002$  mg EAG/g, et l'extrait aqueux ( $0,035 \pm 0,001$  mg EAG) cette différence en teneur est statistiquement significative ( $p=0,02$ ).

La teneur en flavonoïdes des extraits aqueux et méthanolique de *A. cordifolia* a été exprimée en mg équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g). L'extrait méthanolique contient  $0,054 \pm 0,002$  mg EQ/g, et l'extrait aqueux,  $0,048 \pm 0,001$  mg EQ ( $p=0,06$ ).

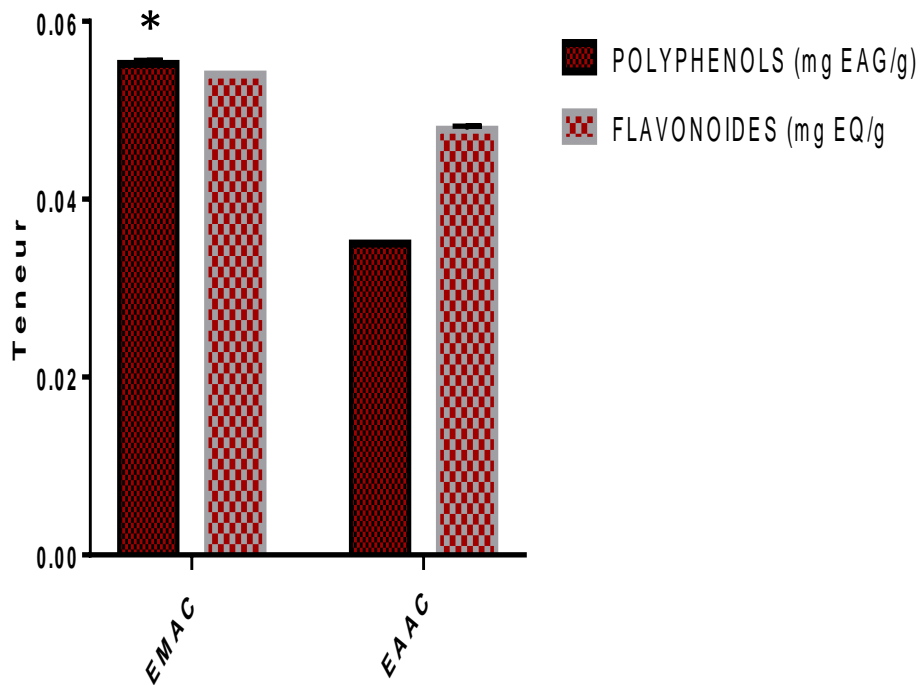
**Tableau V:** caractérisation chimique des extraits aqueux et méthanolique de *A. cordifolia*.

	Polyphénols	Flavonoïdes	Tanins		Alcaloïdes	Saponosides
			Catéchiques	Galliques		
<b>EAAC</b>	+	+	+	-	+	-
<b>EMAC</b>	+	+	-	-	+	+

+ : présence ; - : absence

EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*

EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*



**Figure 14:** Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux des extraits aqueux et méthanolique de *A. cordifolia*.

\* EMAC vs EAAC: statistiquement différent (p=0,02)

EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*. EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*

## **Conclusion partielle**

Les extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* ont montré une activité antioxydante *in vitro*. Cette activité se traduit par leur pouvoir réducteur du fer, leur pouvoir antiradicalaire de piégeage des radicaux DPPH et ABTS. L'activité antioxydante des extraits est superposable à celle des substances références utilisées dans cette étude (Trolox et vitamine C).

La caractérisation phytochimique a révélé la présence de polyphénols, de flavonoïdes et d'alcaloïdes dans les deux extraits. L'extrait aqueux renferme en plus des tanins catéchiques, et l'extrait méthanolique, des saponosides.

Le dosage des polyphénols a permis de noter une teneur plus élevée dans l'extrait méthanolique. La teneur en flavonoïdes par contre, n'est pas différente dans les deux extraits.

### **III.4. Résultats sur l'activité hépatoprotectrice**

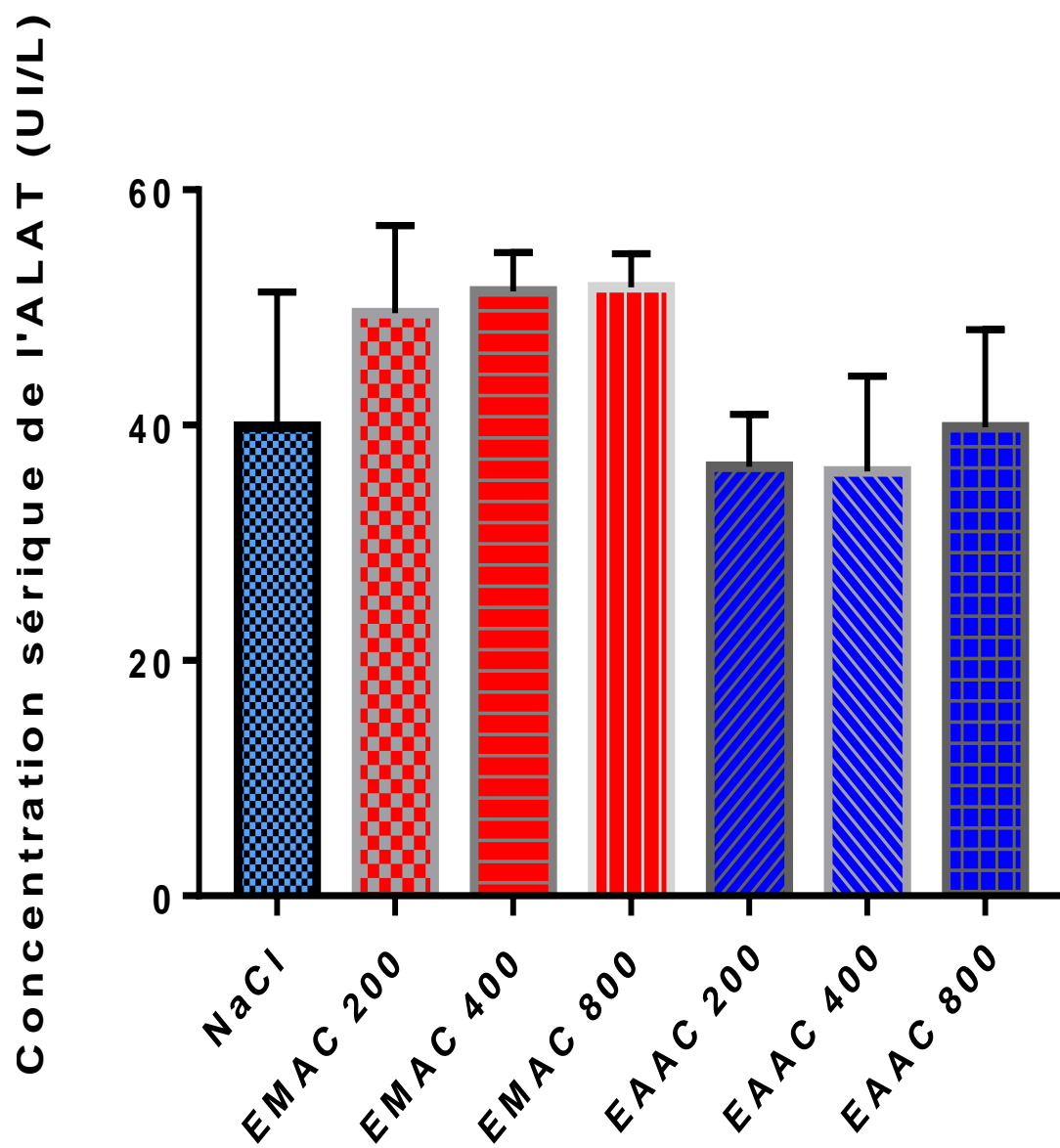
#### **III.4.1. Résultats sur les dosages biochimiques**

##### **III.4.1.1. Effet sur les transaminases**

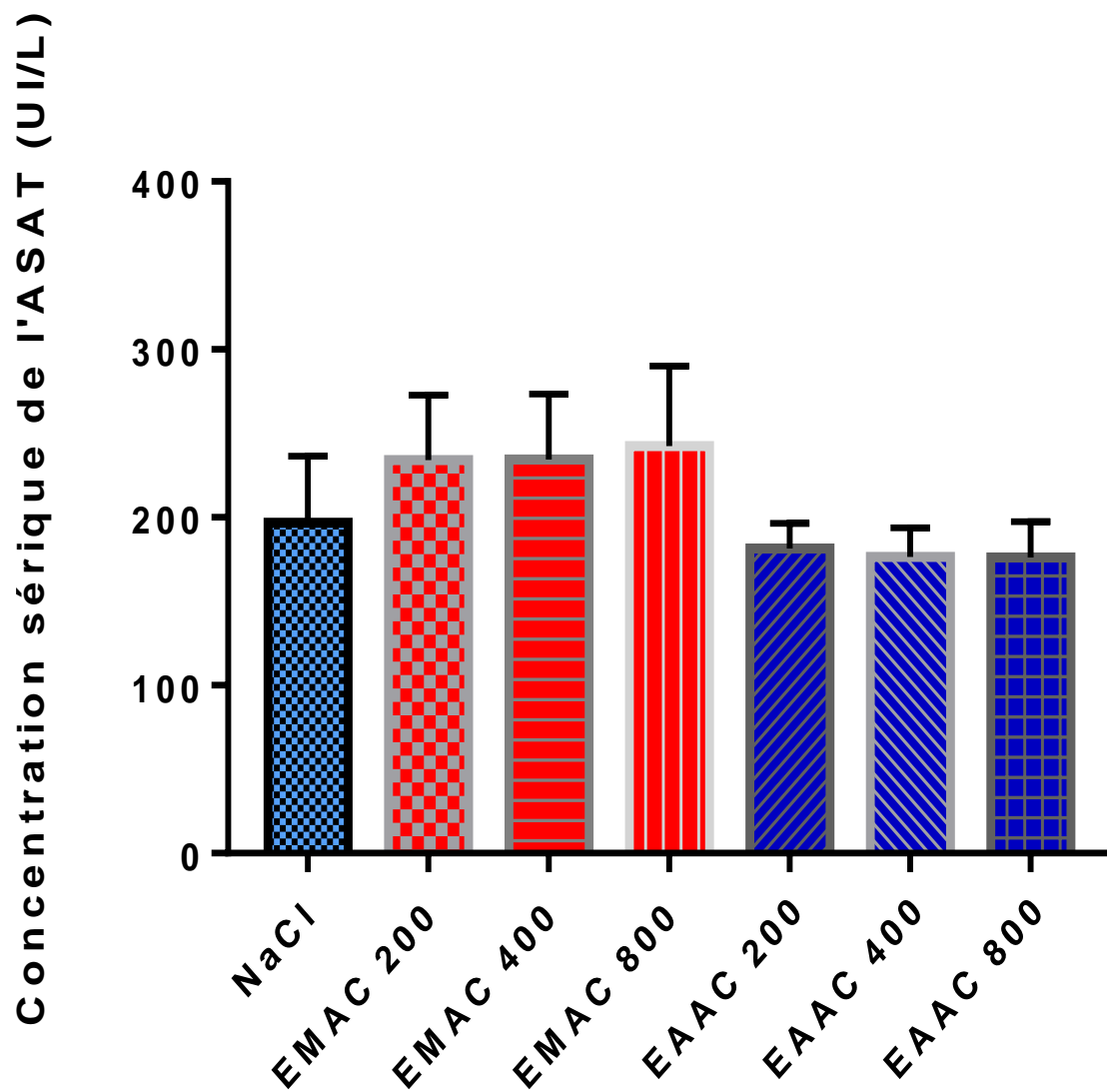
###### **III.4.1.1.1. Effets des extraits seuls sur les valeurs normales des transaminases sériques**

L'effet propre de l'EAAC et de l'EMAC a été évalué sur l'activité enzymatique sérique des transaminases (ALAT et ASAT) et les différentes valeurs moyennes sont représentées sur les **figures 15 et 16**.

Les différentes doses de l'EAAC seul n'ont pas entraîné d'augmentation de l'activité enzymatique de l'ALAT comparativement au lot ayant reçu le NaCl ( $p>0,05$ ), la valeur sérique moyenne de l'ALAT chez les rats témoins étant de  $39,88\pm 4,86$  UI/l. Par contre l'EMAC a entraîné une augmentation, mais non significative de ces valeurs ( $p>0,05$ ). Ce constat est le même sur la concentration sérique de l'ASAT qui était de  $196,99\pm 16,18$  UI/l chez le rat ayant reçu le NaCl, et qui n'a pas augmenté sous l'EAAC seul, mais qui a subi une augmentation non significative avec l'EMAC ( $p>0,05$ ).



**Figure 15:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les valeurs sériques normales de l'alanine amino-transférase chez le rat



**Figure 16:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les valeurs sériques normales de l'aspartate amino-transférase chez le rat

### **III.4.1.1.2. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'isoniazide**

#### **III.4.1.1.2.1. Effet sur l'alanine amino-transférase**

Les valeurs moyennes des concentrations sériques de l'ALAT sont représentées sur la **figure 17**. L'INH à 100 mg/kg a entraîné une élévation de l'activité enzymatique sérique de l'ALAT ( $p = 0,028$ ) chez les rats l'ayant reçu comparativement aux rats ayant reçu le NaCl. Cette augmentation tend à plus que doubler les valeurs sériques de l'ALAT (2,21 fois), la faisant passer de  $36,55 \pm 0,69$  UI/l à  $80,92 \pm 2,58$  UI/l.

L'administration des différentes doses de l'EMAC, de l'EAAC et de la silymarine aux rats a permis une réduction significative des différentes valeurs perturbées ( $p < 0,05$ ).

Les effets des différents extraits ont été comparés à celui de la silymarine (substance de référence utilisée), et n'a montré aucune différence significative quel que soit l'extrait et la dose ( $p > 0,05$ ). La comparaison des différents extraits entre eux a permis d'observer une activité similaire entre l'EMAC et l'EAAC ( $p > 0,05$ ).

La comparaison des différentes doses de l'EMAC n'a montré aucune différence significative ( $p > 0,05$ ), quoique l'activité semble dose-dépendante. Il en est de même des différentes doses de l'EAAC.

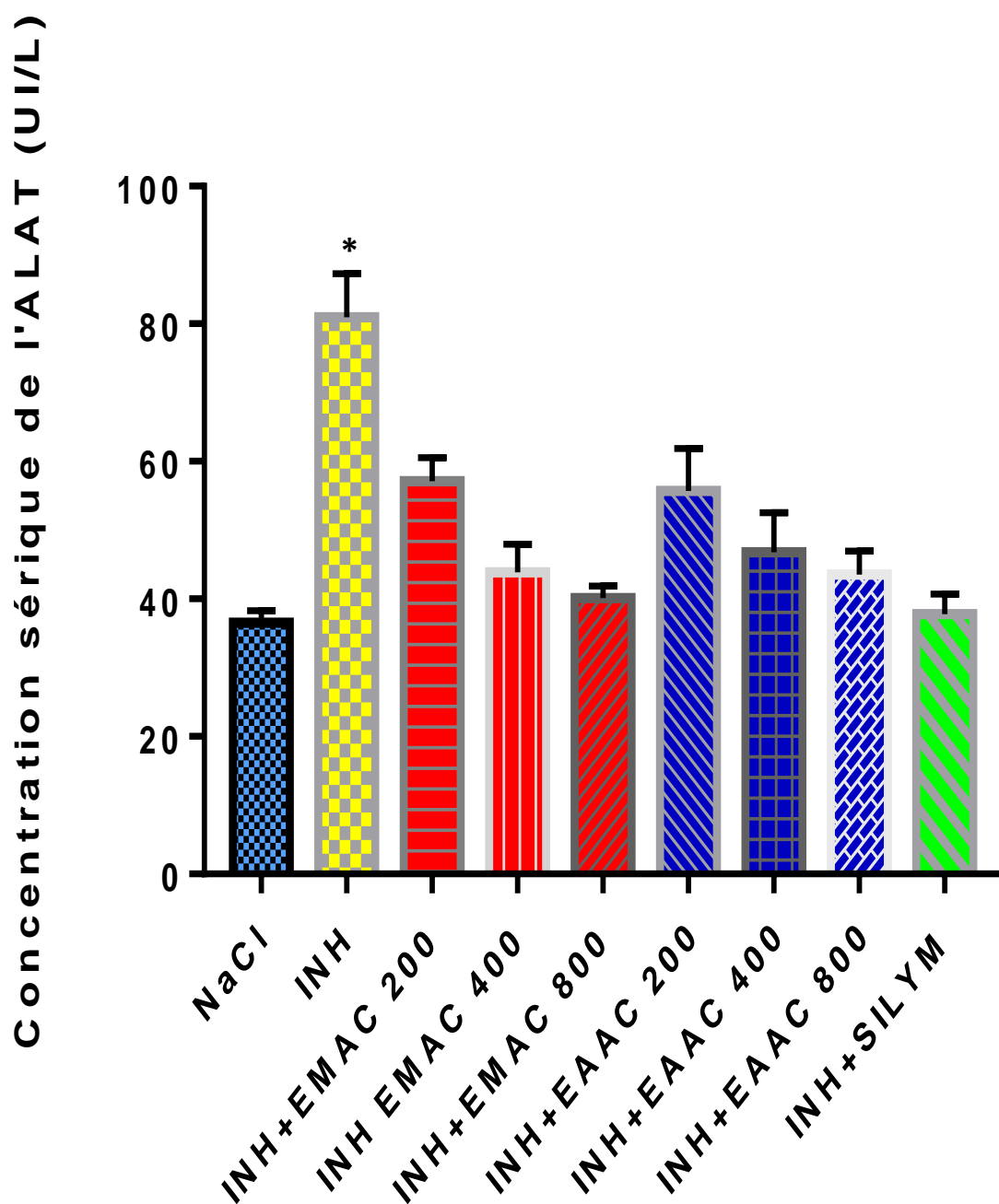
#### **III.4.1.1.2.2. Effet sur l'aspartate amino-transférase**

Les valeurs moyennes des concentrations sériques de l'ASAT sont représentées sur la **figure 18**. L'INH à 100 mg/kg a entraîné une élévation des concentrations sériques de l'ASAT ( $p = 0,028$ ) chez les rats intoxiqués comparativement aux rats ayant reçu le NaCl. L'INH a fait passer ainsi les valeurs sériques de l'ALAT de  $190,1 \pm 5,88$  UI/l à  $359,1 \pm 22,79$  UI/l. Cette augmentation est de l'ordre du double (1,89 fois).

L'administration des différentes doses de l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, de l'EAAC à 800 mg/kg et de la silymarine aux rats a permis de réduire de façon significative les différentes valeurs perturbées ( $p < 0,05$ ). L'EAAC à 200 mg/kg et à 400 mg/kg n'a pas entraîné une baisse significative des valeurs de l'ASAT ( $p = 0,143$ ).

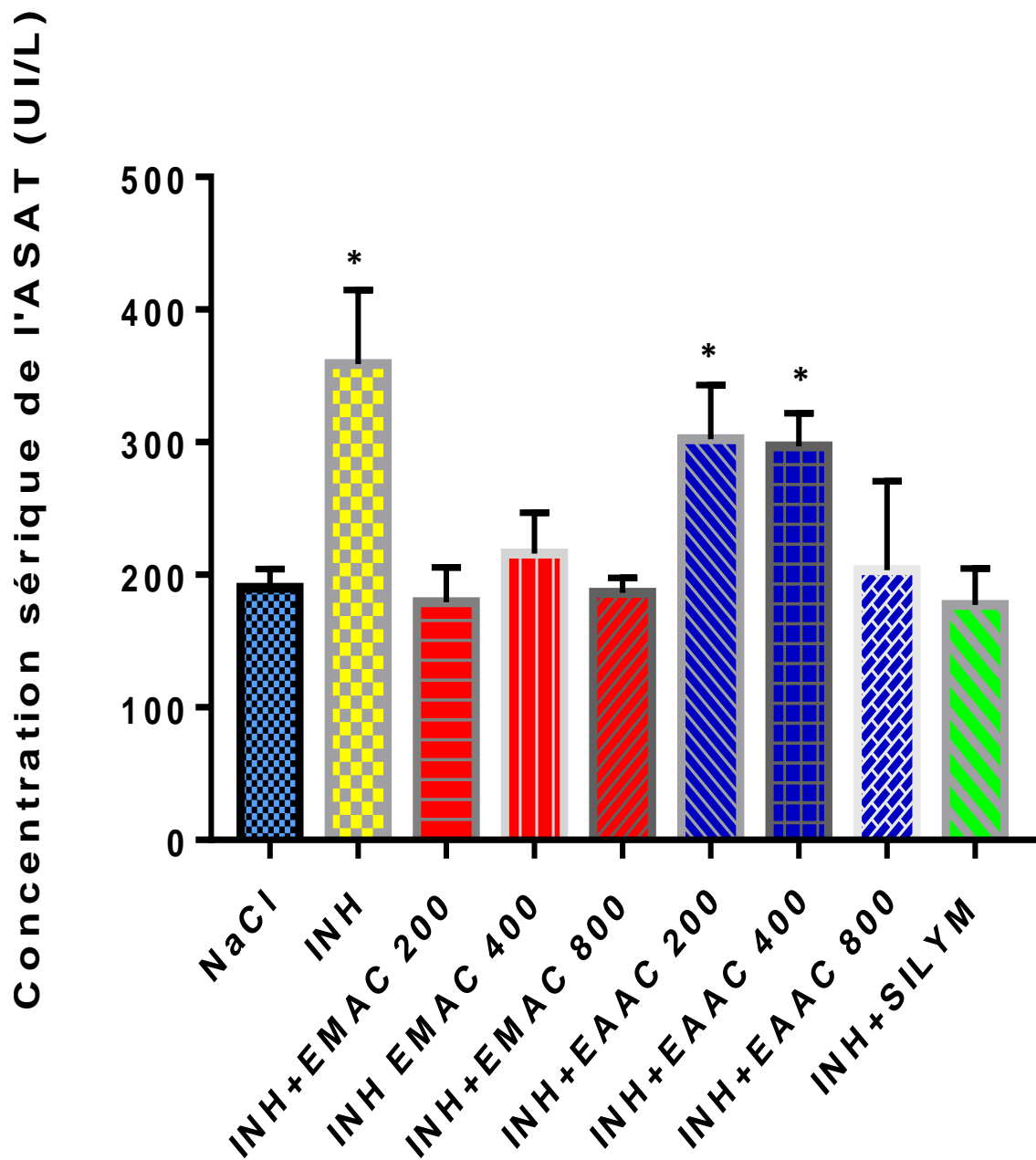
Un effet similaire a été noté entre l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, de l'EAAC à 800 mg/kg et de la silymarine ( $p > 0,05$ ).





**Figure 17:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de l'alanine amino-transférase par l'isoniazide

\* test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin négatif (NaCl), INH : Isoniazide, EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*, EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*, SILYM : silymarine



**Figure 18:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de l'aspartate amino-transférase par l'isoniazide

\* test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin négatif (NaCl), INH : Isoniazide, EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*, EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*, SILYM : silymarine

### **III.4.1.1.3. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide et rifampicine**

#### **III.4.1.1.3.1. Effet sur l'alanine amino-transférase**

L'effet des extraits de plante sur l'activité enzymatique de l'ALAT a été évalué et représenté sur la **figure 19**. L'association INH+RIF a entraîné une élévation de 2,3 fois la concentration sérique de l'ALAT, de  $36,56 \pm 0,69$  à  $84,42 \pm 15,82$  UI/l ( $p = 0,02$ ).

L'administration de l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, de l'EAAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, ainsi que de la silymarine aux rats, a permis de réduire de façon significative les concentrations de l'ALAT perturbées ( $p < 0,05$ ).

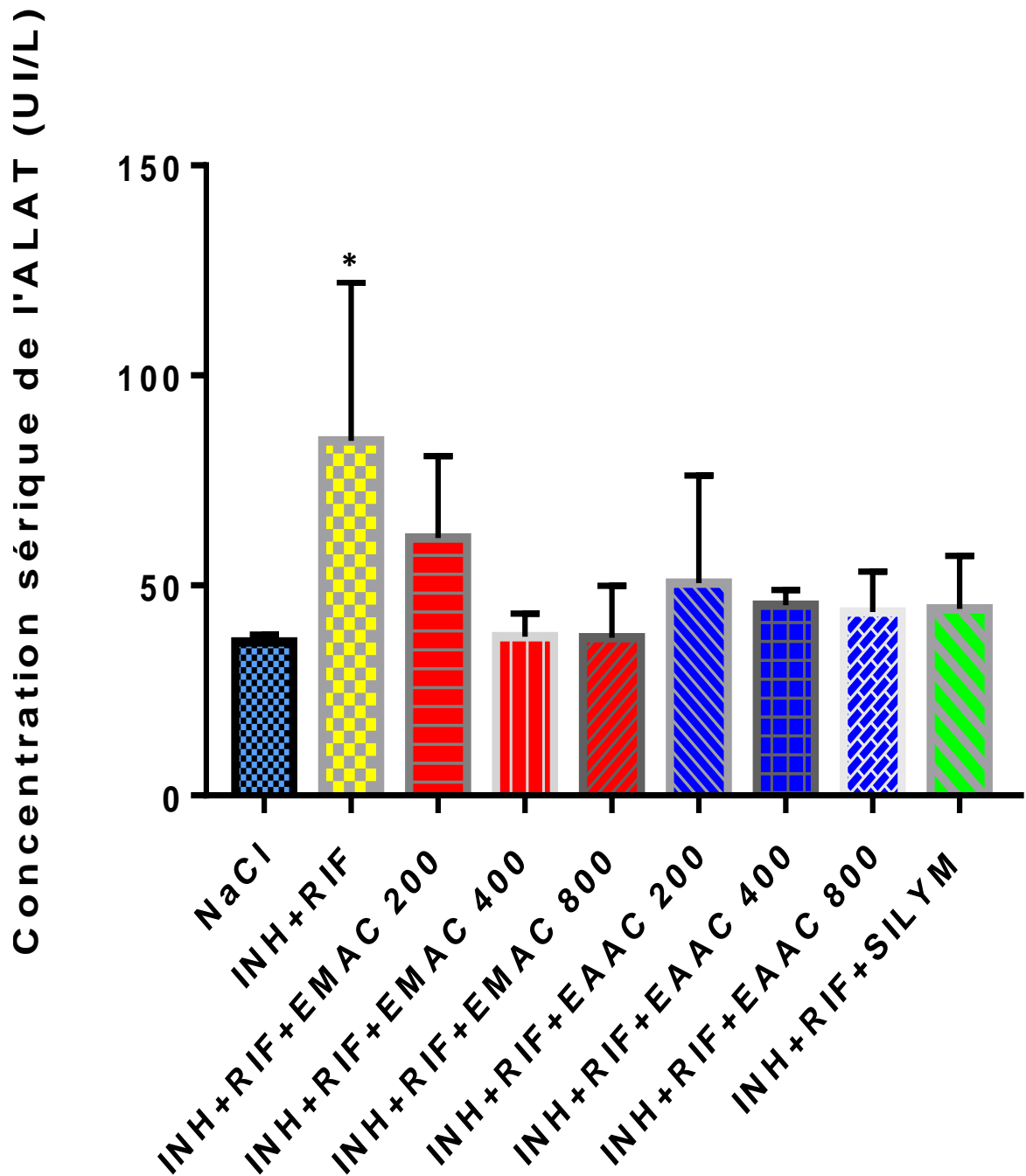
La comparaison des effets des différentes doses de l'EMAC, de l'EAAC et de l'effet de la silymarine n'a permis de noter de différence significative ( $p > 0,05$ ).

#### **III.4.1.1.3.2. Effet sur l'aspartate amino-transférase**

Les valeurs moyennes sériques de l'ASAT sont représentées sur la **figure 20**. La valeur moyenne sérique de l'ASAT chez le rat témoin négatif était de  $190,1 \pm 5,88$  UI/l. L'association INH+RIF a entraîné une élévation de 1,88 fois cette valeur ( $p = 0,02$ ), la faisant passer à  $359,7 \pm 21,18$  UI/l.

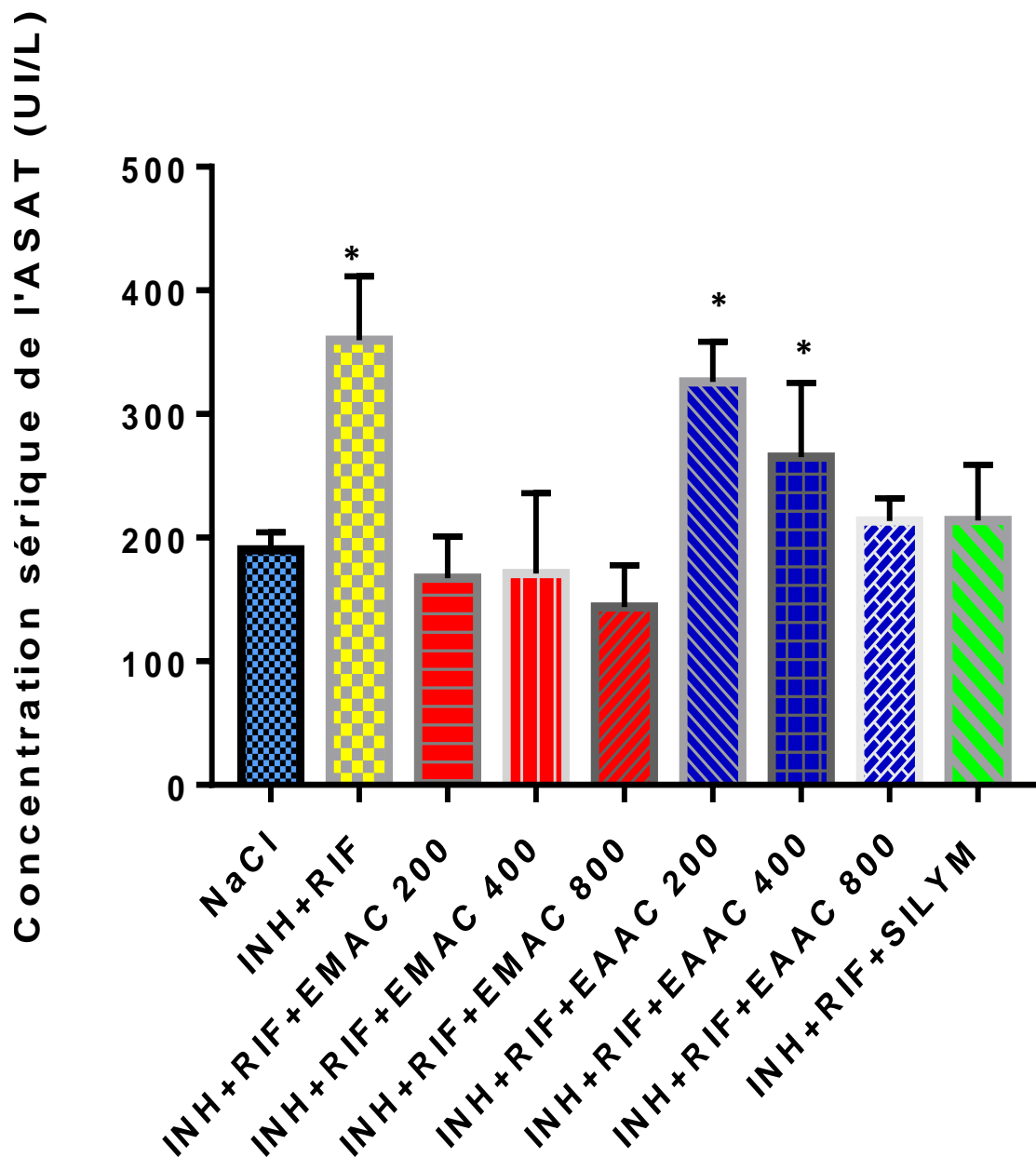
L'administration de l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, de l'EAAC à 800 mg/kg, et de la silymarine respectivement aux différents groupes de rats, a permis de réduire de façon significative l'élévation de l'activité enzymatique d'ASAT induite par l'association INH+RIF ( $p < 0,05$ ). L'EAAC à 200 mg/kg et à 400 mg/kg ont entraîné une baisse non significative des valeurs d'ASAT perturbées

La comparaison de l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, de l'EAAC à 800 mg/kg, et de la silymarine n'a pas montré de différence significative ( $p > 0,05$ ).



**Figure 19:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de l'alanine amino-transférase par l'association isoniazide et rifampicine

\* test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin négatif (NaCl), INH+RIF : Isoniazide+Rifampicine, EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*, EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*, SILYM : silymarine.



**Figure 20:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de l'aspartate amino transférase par l'association isoniazide et rifampicine

\* test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin négatif (NaCl), INH+RIF : Isoniazide+Rifampicine, EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*, EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*, SILYM : silymarine

#### **III.4.1.1.4. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide**

##### **III.4.1.1.4.1. Effet sur l'alanine amino-transférase**

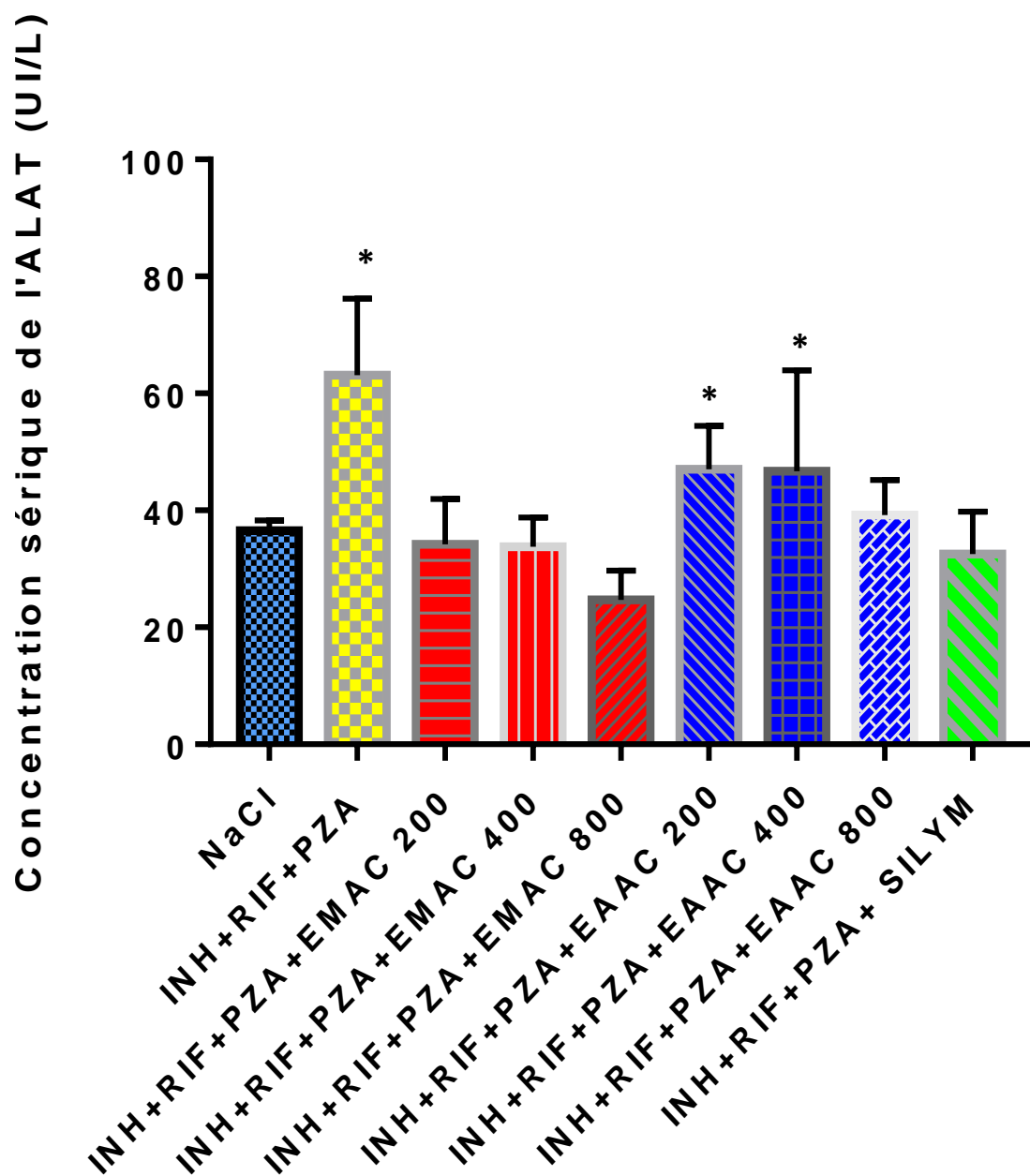
L'association INH+RIF+PZA a entraîné une élévation de l'activité enzymatique de l'ALAT ( $p=0,028$ ) de l'ordre de 1,73 fois. Cette association a fait augmenter les valeurs sériques de l'ALAT en les faisant passer de  $36,56\pm 0,69$  UI/l, valeur du rat témoin négatif, à  $63,12\pm 5,34$  UI/l.

L'effet des extraits de la plante sur de l'activité enzymatique de l'ALAT a été évalué et représenté sur la **figure 21**. L'administration des différentes doses de l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, de l'EAAC à 800 mg/kg et de la silymarine aux rats a permis une réduction significative des différentes valeurs perturbées de l'ALAT ( $p < 0,05$ ). L'EAAC à 200 mg/kg et à 400 mg/kg n'a pas entraîné une baisse significative des valeurs de l'ALAT ( $p > 0,05$ ).

Une activité similaire a été notée entre l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, de l'EAAC à 800 mg/kg et de la silymarine ( $p > 0,05$ ).

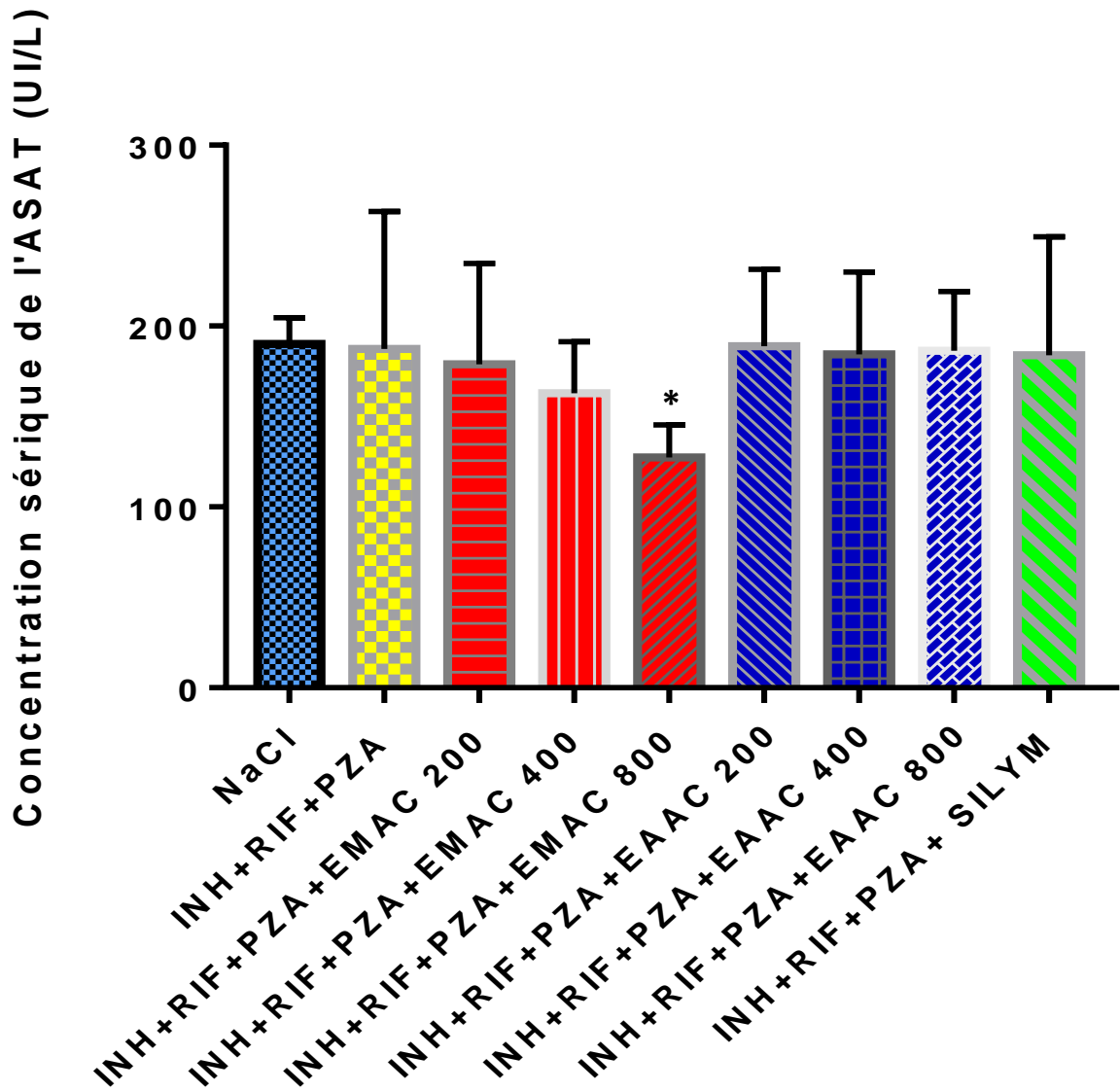
##### **III.4.1.1.4.2. Effet sur l'aspartate amino-transférase**

L'association INH+RIF+PZA n'a pas entraîné d'élévation de l'activité enzymatique de l'ASAT ( $p=0,34$ ). Les valeurs moyennes sériques de l'ASAT sont représentées sur la **figure 22**. L'administration de l'EMAC à 800 mg/kg a fait réduire significativement les concentrations de l'ASAT ( $p=0,04$ ) en la faisant passer de  $190,1\pm 5,88$  UI/l à  $127,4\pm 7,28$  UI/l. Les autres doses des différents extraits n'ont présenté aucun effet sur l'ASAT comparativement au lot témoin négatif ( $p > 0,05$ ).



**Figure 21:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de l'alanine amino-transférase par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide

\* test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin négatif (NaCl), INH+RIF+PZA : Isoniazide+Rifampicine+ Pyrazinamide, EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*, EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*, SILYM : silymarin



**Figure 22:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de l'aspartate amino-transférase par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide

\* test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin négatif (NaCl), INH+RIF+PZA : Isoniazide+Rifampicine+ Pyrazinamide, EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*, EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*, SILYM : silymarine



## **Conclusion partielle sur les transaminases**

Toutes les combinaisons d'antituberculeux (INH, INH+RIF, INH+RIF+PZA) ont entraîné une augmentation de l'ALAT d'environ 2 fois la valeur du témoin négatif. Seuls l'INH et l'INH+RIF ont entraîné une augmentation de l'ASAT de l'ordre de 1,8 fois.

Toutes les doses des extraits ont permis une diminution significative des valeurs de l'ALAT perturbées aussi bien par l'INH seul que par l'INH+RIF. Les valeurs de l'ALAT perturbées par l'INH+RIF+PZA n'ont été diminuées significativement que par l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, ainsi que par l'EAAC à 800 mg/kg. L'EAAC à 200 mg/kg et à 400 mg/kg a entraîné une diminution, mais non significative des valeurs de l'ALAT perturbées par l'INH+RIF+PZA.

Concernant l'ASAT, l'administration de l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, ainsi que par l'EAAC à 800 mg/kg a permis une diminution significative des valeurs perturbées par l'INH seul et par l'INH+RIF. L'EAAC à 200 mg/kg et à 400 mg/kg ont entraîné une diminution, mais non significative des valeurs perturbées.

Par ailleurs, les extraits seuls n'ont pas entraîné de perturbation significative de l'activité enzymatique des transaminases (ALAT et ASAT), avec cependant une augmentation non significative observée avec l'extrait méthanolique.

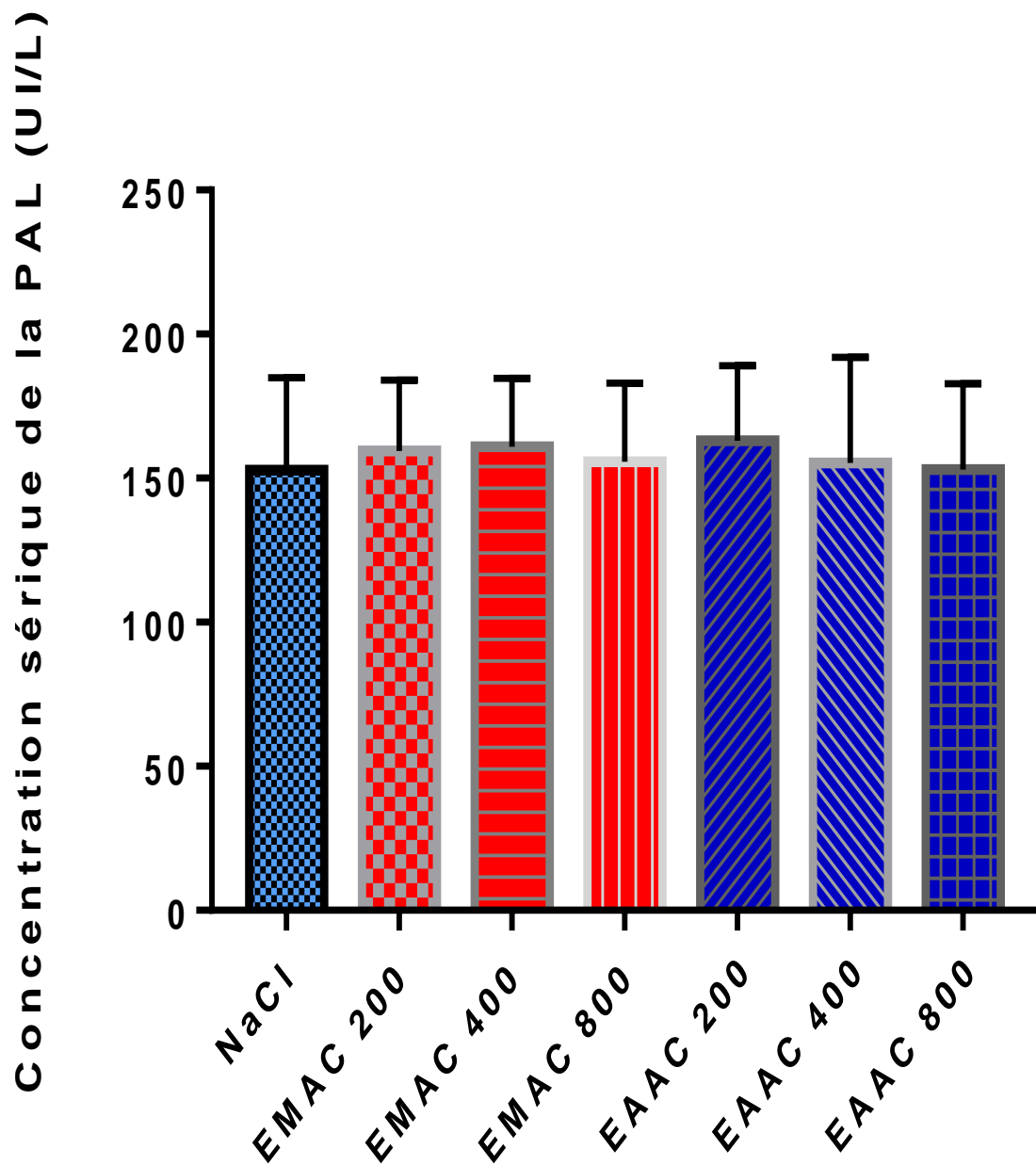
### **III.4.1.2. Effet sur la phosphatase alcaline**

#### **III.4.1.2.1. Effets des extraits seuls**

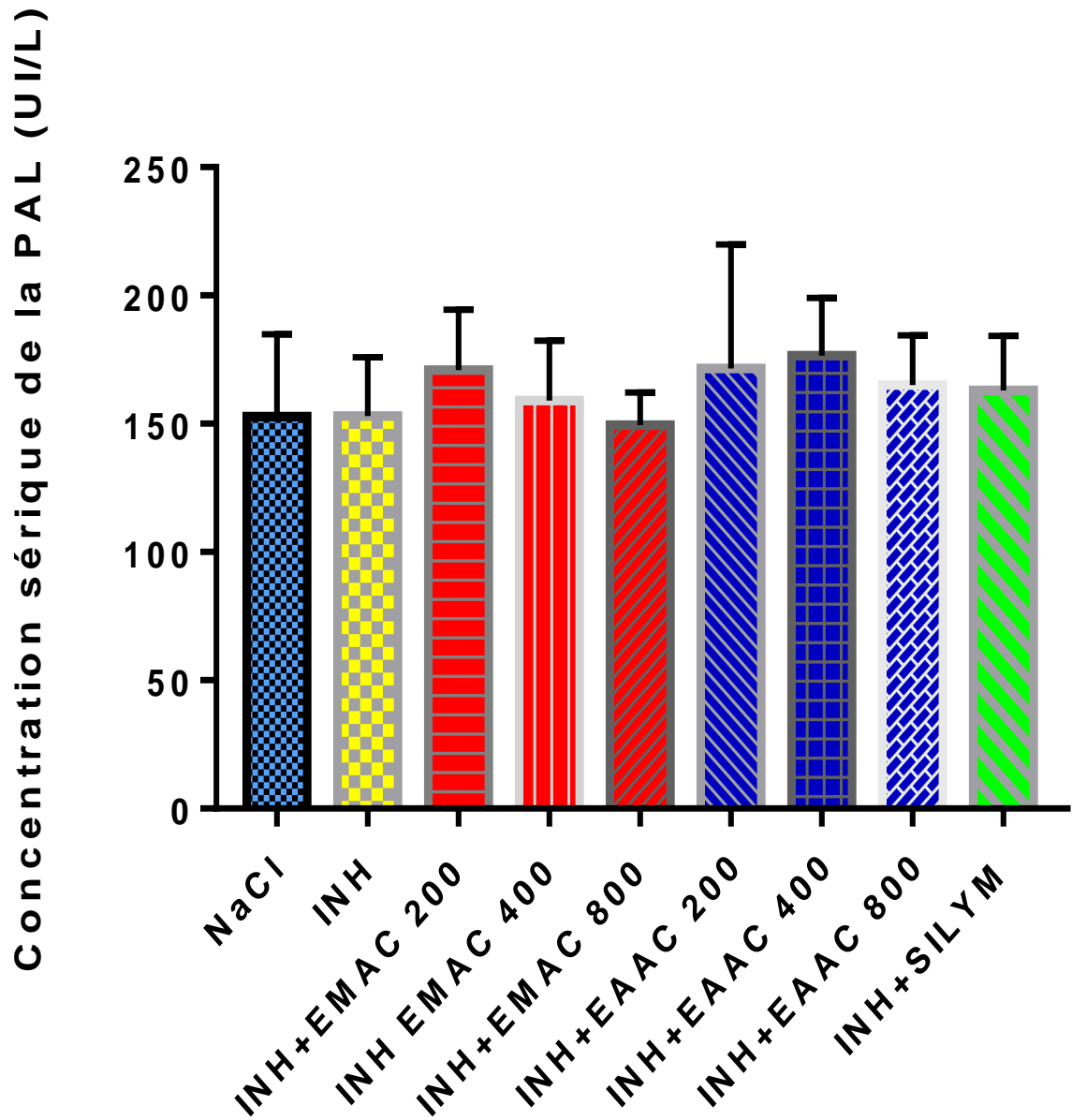
L'effet de l'administration des extraits aqueux et méthanolique de *A. cordifolia* a été évalué sur la PAL et représenté sur la **figure 23**. Les extraits n'ont pas entraîné de perturbation de l'activité enzymatique de la PAL ( $p > 0,05$ ) comparativement au lot ayant reçu le NaCl pour lequel la valeur sérique de la PAL était de  $152,83 \pm 13,08$  UI/l.

#### **III.4.1.2.2. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'isoniazide**

L'effet des extraits de plante sur les concentrations sériques de la PAL a été évalué et représenté sur la **figure 24**. L'INH n'a pas entraîné de perturbations de l'activité enzymatique de la PAL ( $p = 0,91$ ). L'administration des différentes doses de l'EMAC, de l'EAAC est resté également sans influence sur cette activité ( $p > 0,05$ ).



**Figure 23** : Effet propre des extraits de *A. cordifolia* sur les valeurs sériques la phosphatase alcaline chez le rat



**Figure 24:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de la phosphatase alcaline par l'isoniazide

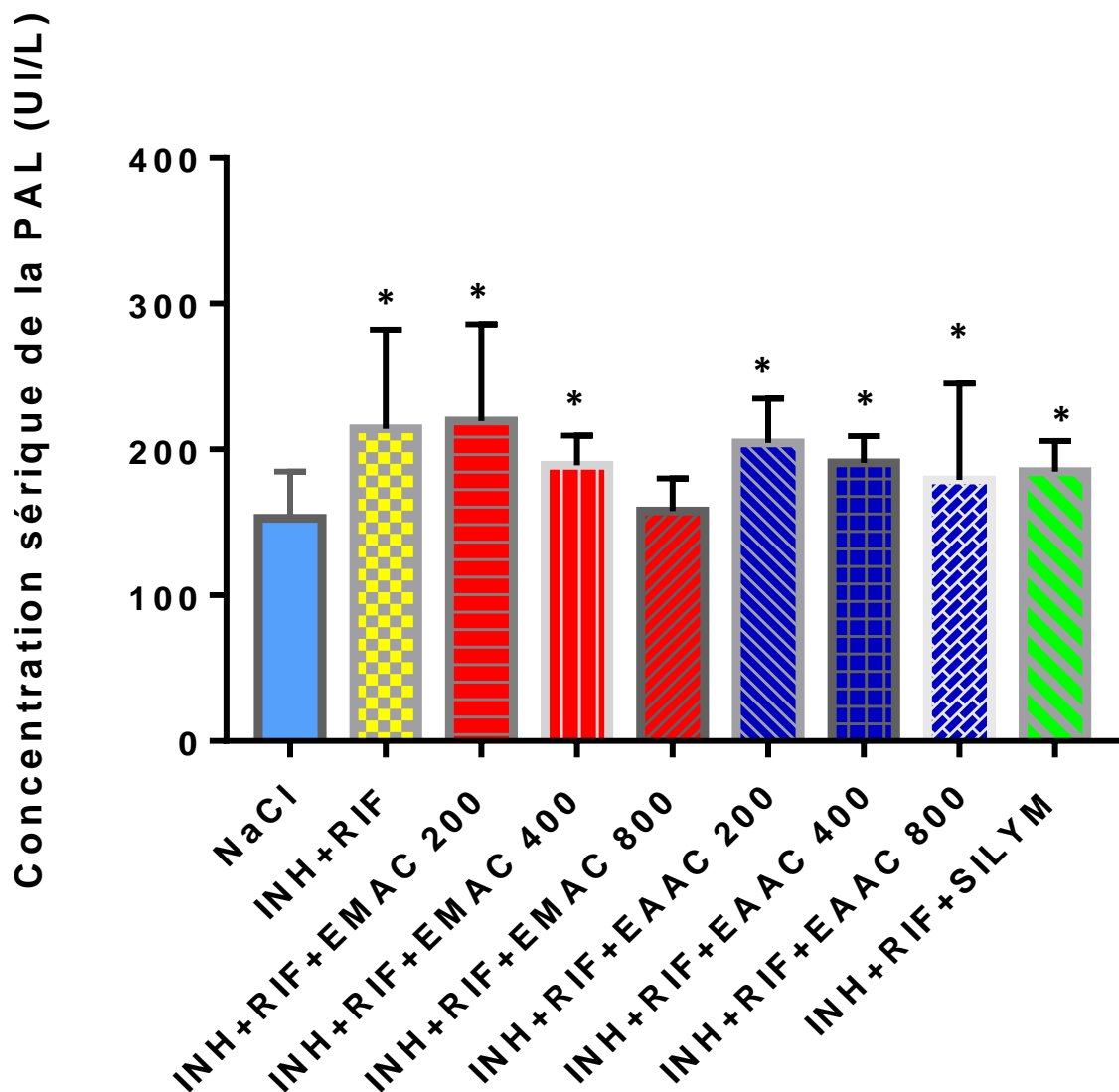
#### **III.4.1.2.3. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide et rifampicine**

Les valeurs moyennes des concentrations sériques de la PAL sont représentées sur la **figure 25**. L'association INH+RIF a entraîné une élévation de l'activité enzymatique de la PAL ( $p = 0,04$ ) de 1,44 fois. Les valeurs sériques de la PAL qui étaient de  $152,83 \pm 13,08$  UI/l, sont passées à  $219,40 \pm 29,74$  UI/l.

L'administration des différentes doses de l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg, et de l'EAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, ainsi que de la silymarine, a entraîné une diminution, mais non significative des valeurs perturbées de la PAL ( $p > 0,05$ ). Seul l'EMAC à 800 mg/kg a permis une réduction significative des valeurs perturbées de la PAL ( $p = 0,04$ ) la faisant passer à  $157,8 \pm 9,09$  UI/l.

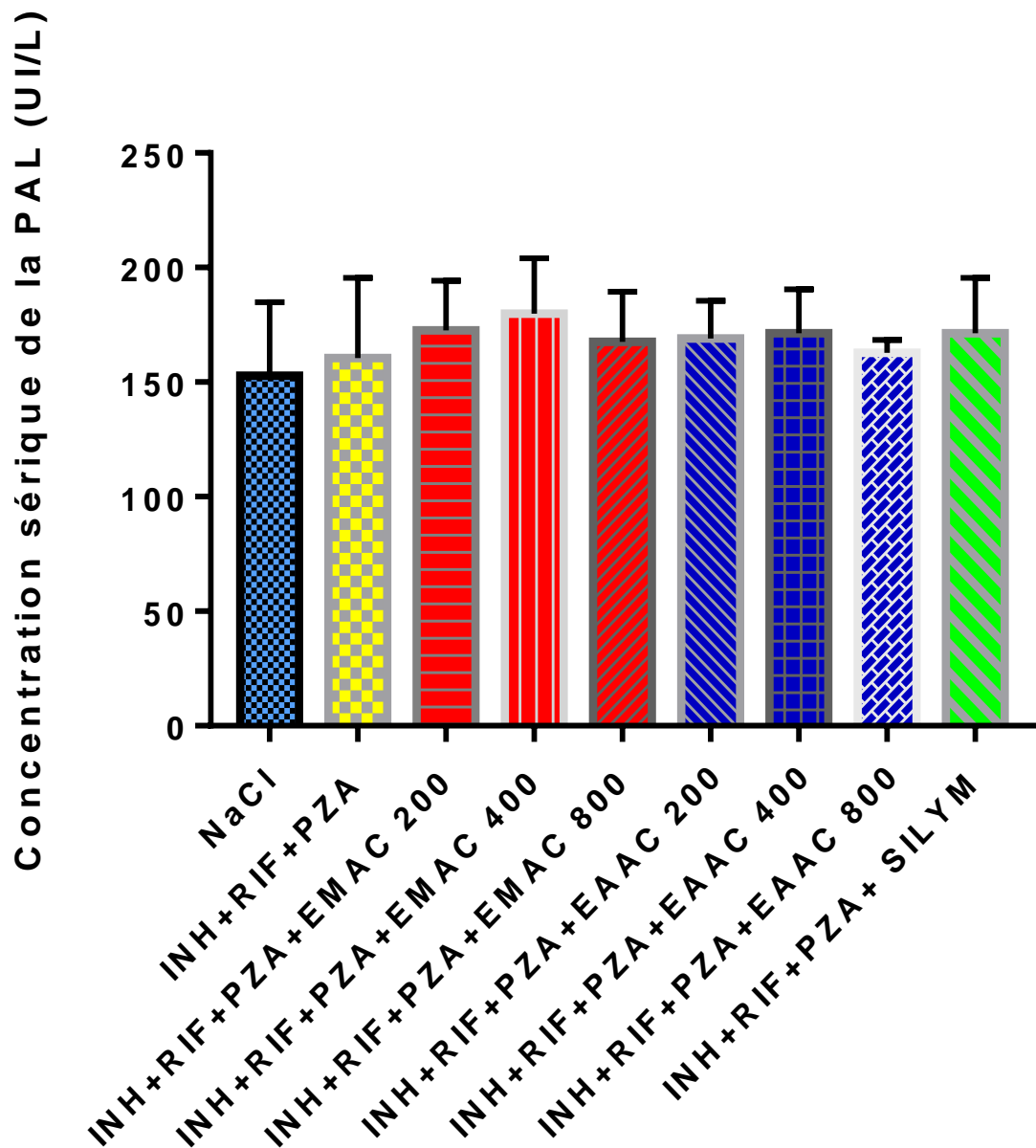
#### **III.4.1.2.4. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide**

Les valeurs moyennes des concentrations sériques de la PAL sont représentées sur la **figure 26**. L'association INH+RIF+PZA n'a entraîné aucune perturbation de l'activité enzymatique de la PAL ( $p = 0,11$ ). Les valeurs sériques de la PAL qui étaient de  $152,83 \pm 13,08$  UI/l sont restées sans variation significative. L'administration des extraits de feuilles de *A. cordifolia* a été également sans incidence sur cette activité.



**Figure 25:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de la phosphatase alcaline par l'association isoniazide et rifampicine

\* test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin négatif (NaCl), INH+RIF : Isoniazide+Rifampicine, EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*, EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*, SILYM : silymarine



**Figure 26:** Effet des extraits de *A. cordifolia* et sur les perturbations des valeurs sériques de la phosphatase alcaline par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide

### **Conclusion partielle sur la PAL**

L'incidence des antituberculeux sur les concentrations sériques de la PAL a été la suivante : l'INH seul, et l'association INH+RIF+PZA ont été sans incidence ( $p>0,05$ ). L'administration des différentes doses des différents extraits de feuilles de *A.cordifolia* n'a pas influencé les valeurs de la PAL.

L'association a provoqué quant à elle, une augmentation significative de 1,44 fois des valeurs de la PAL ( $p=0,04$ ). L'EMAC à 800 mg/kg, administré à la suite de la combinaison INH+RIF, a permis une diminution significative de la PAL ( $p = 0,04$ ). Les autres doses des extraits ont entraîné une diminution mais non significative de la PAL.

Les extraits seuls n'ont pas perturbé les concentrations sériques de la PAL.



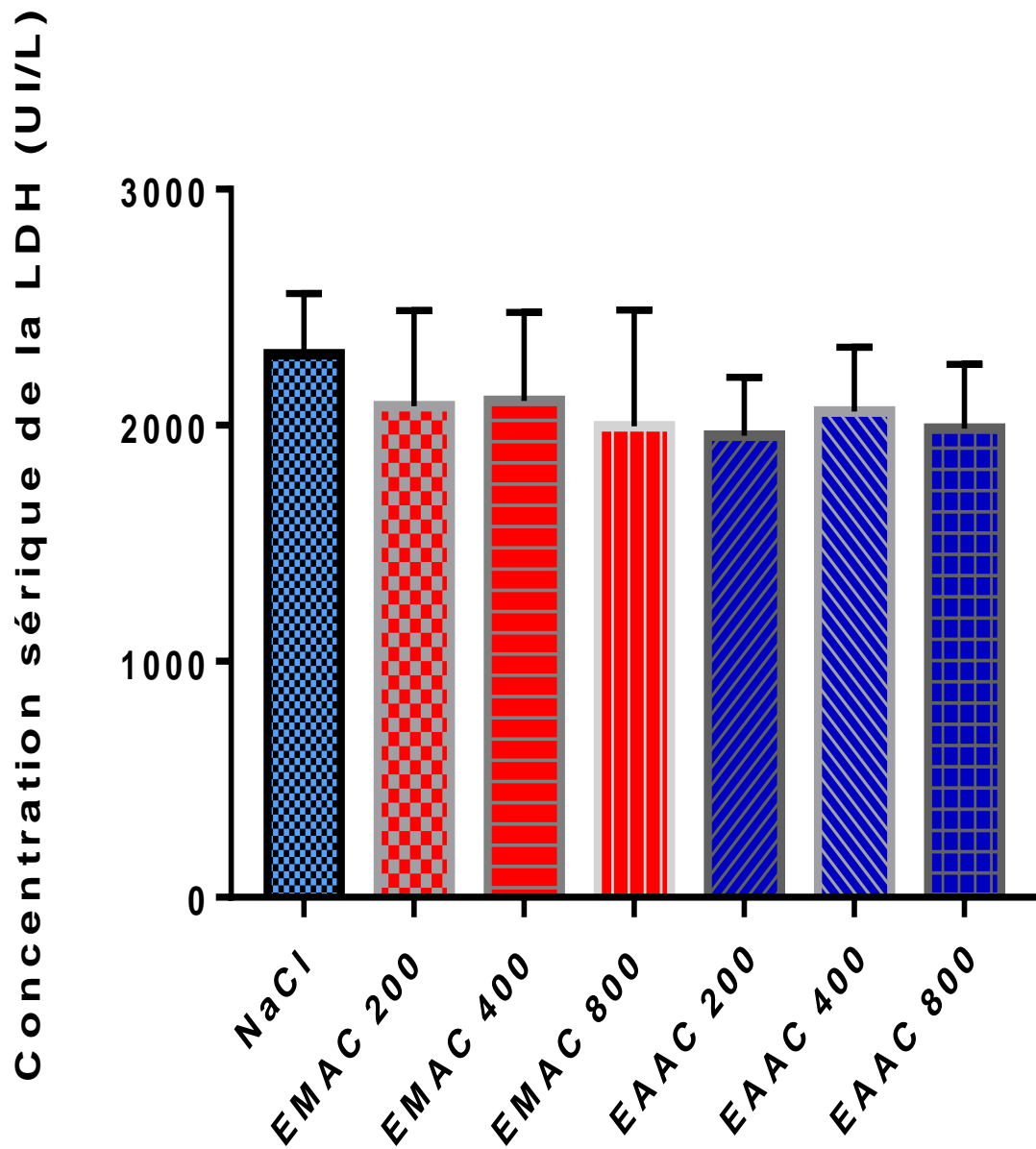
### **III.4.1.3. Effet sur la lactate déshydrogénase**

#### **III.4.1.3.1. Effets des extraits seuls**

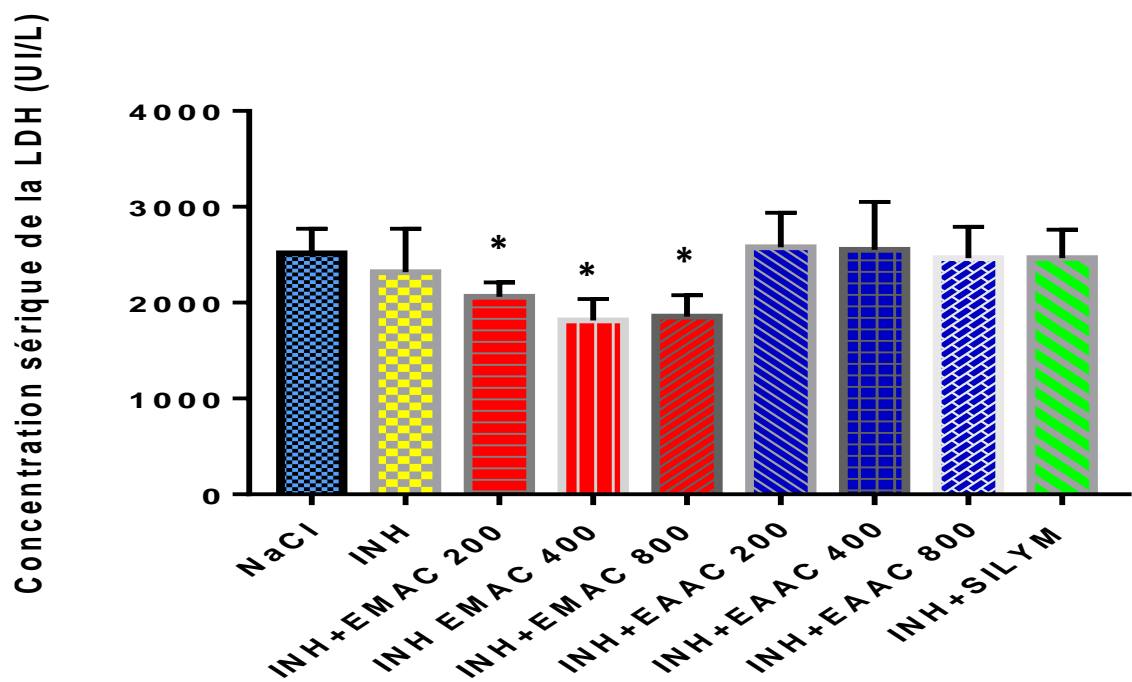
L'effet propre de l'administration des extraits aqueux et méthanoliques de *A. cordifolia* a été évalué sur l'activité enzymatique sérique de la LDH et représenté sur la **figure 27**. Les extraits seuls n'ont pas entraîné de perturbation des valeurs de la LDH ( $p > 0,05$ ) comparativement au lot ayant reçu le NaCl. Les rats du lot ayant reçu le NaCl ont eu en effet une concentration sérique moyenne en LDH de  $2301 \pm 105,5$  UI/l.

#### **III.4.1.3.2. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'isoniazide**

L'effet des extraits de plante sur sur l'activité enzymatique sérique de la LDH a été évalué et représenté sur la **figure 28**. L'INH n'a pas entraîné de perturbations des valeurs de la LDH ( $p = 0,75$ ). L'administration des différentes doses de l'EAAC est restée sans influence sur les valeurs sériques de la PAL ( $p > 0,05$ ). Par contre, l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, a entraîné une diminution significative des valeurs de la LDH comparativement au lot témoin négatif (NaCl).



**Figure 27:** Effet propres des extraits de *A. cordifolia* sur les valeurs sériques normales de la lactate déshydrogénase chez le rat



**Figure 28:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de la lactate déshydrogénase par l'isoniazide

\* test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin négatif (NaCl), INH : Isoniazide, EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*, EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*, SILYM : silymarine

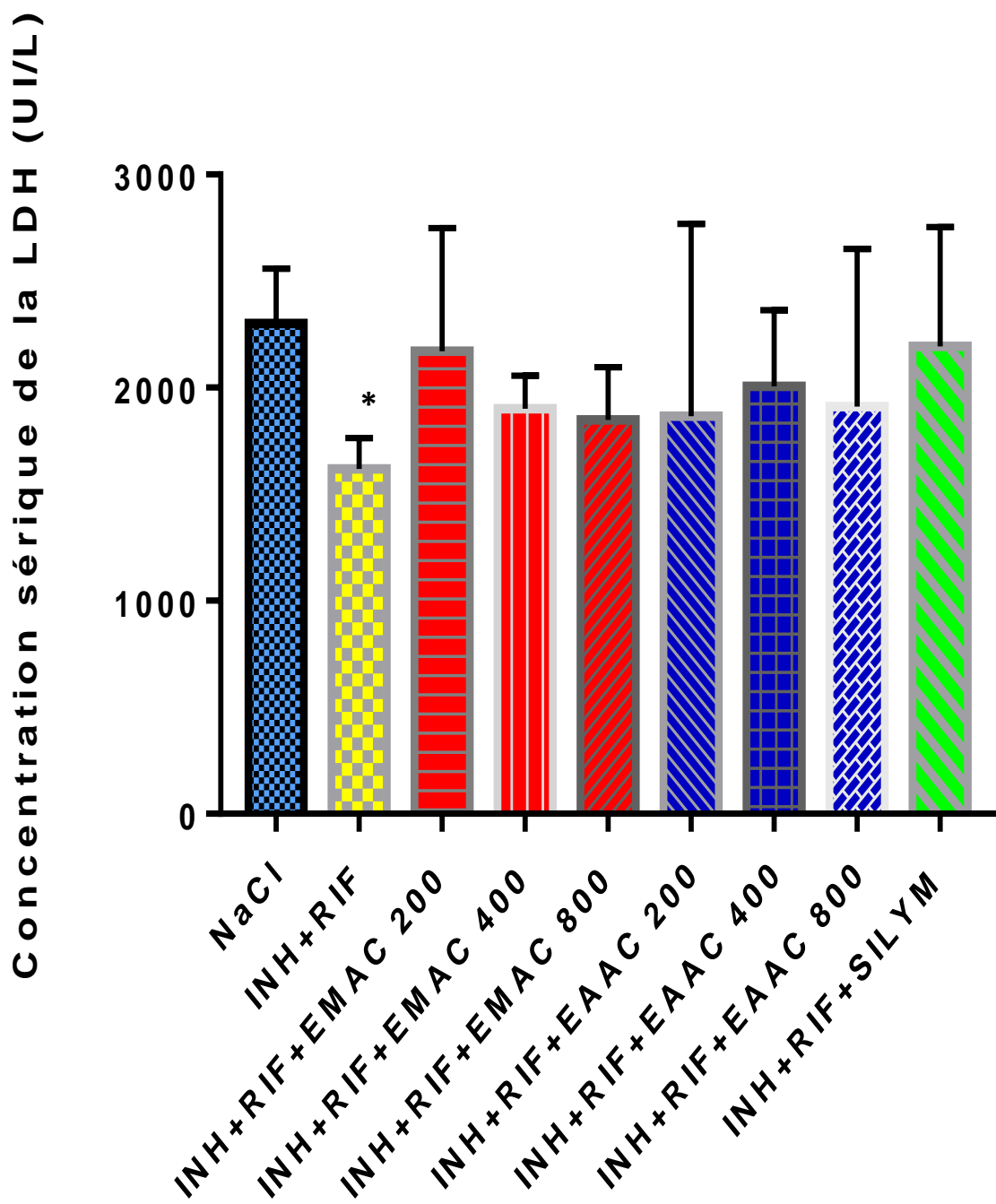
#### **III.4.1.3.3. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide et rifampicine**

L'effet des extraits de plante sur l'activité enzymatique sérique de la LDH a été évalué et représenté sur la **figure 29**. L'association INH+RIF n'a pas entraîné d'élévation de la concentration de la LDH. Les valeurs sériques de la LDH ont plutôt baissé à  $1618 \pm 59,10$  UI/l, comparativement à celles des rats du lot ayant reçu le NaCl qui étaient de  $2301 \pm 105,5$  UI/l ( $p = 0,02$ ).

Les différents extraits administrés n'ont pas non plus entraîné d'élévation des valeurs de la LDH. Au contraire, ils tendent à rehausser les valeurs de la LDH vers la valeur du lot témoin négatif.

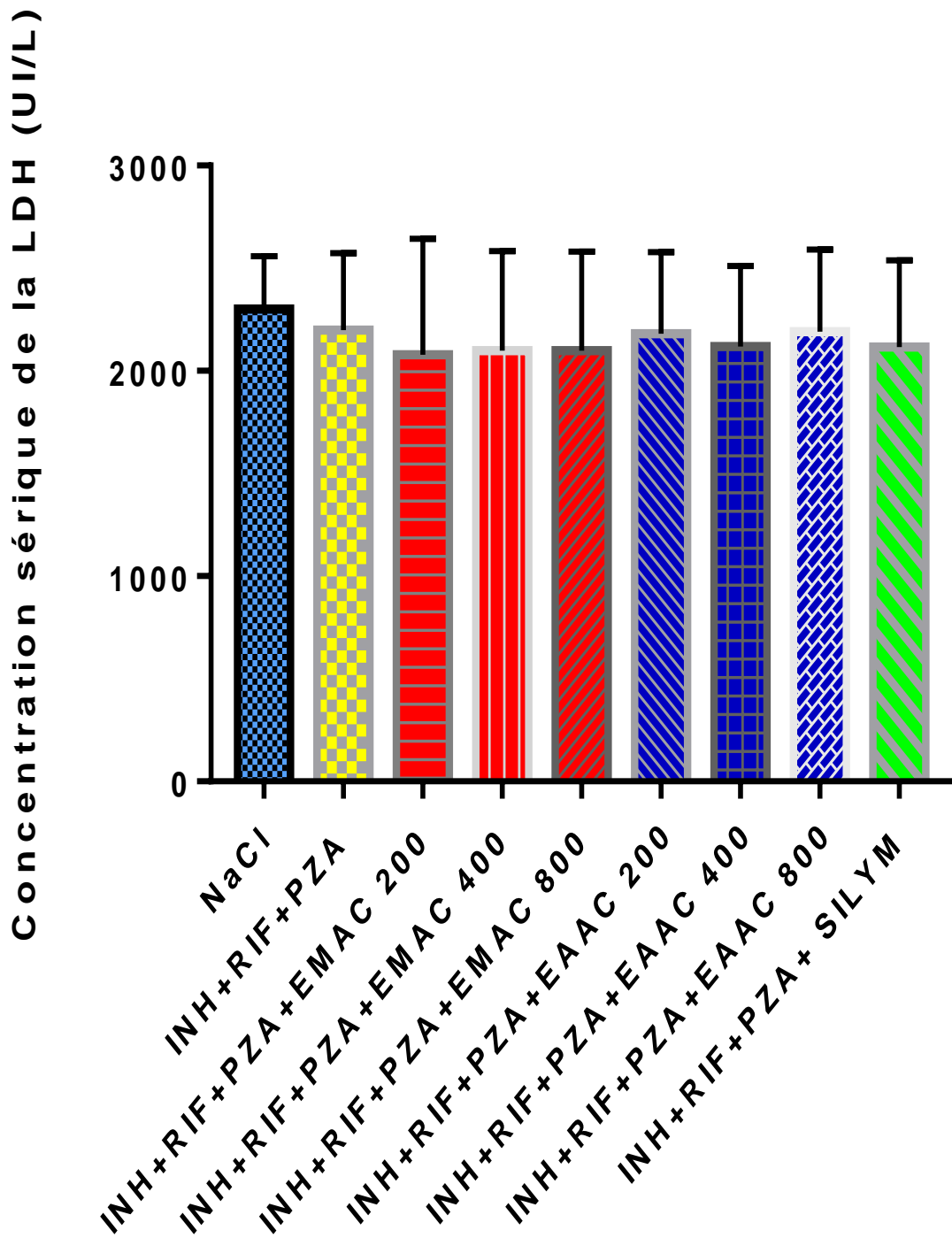
#### **III.4.1.3.4. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide**

L'effet des extraits de plante sur l'activité enzymatique sérique de la LDH a été évalué et représenté sur la **figure 30**. L'administration de l'association INH+RIF+PZA n'a pas eu d'incidence sur les valeurs de la LDH ( $p=0,75$ ). L'administration des extraits de feuilles de *A. cordifolia* a été également sans incidence sur ces valeurs.



**Figure 29:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de la lactate déshydrogénase par l'association isoniazide et rifampicine

\* test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin négatif (NaCl), INH+RIF : Isoniazide+Rifampicine, EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*, EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*, SILYM : silymarine



**Figure 30:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de la lactate déshydrogénase par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide

### **Conclusion partielle sur la LDH**

L'administration de l'INH n'a pas entraîné d'augmentation de la LDH. Les extraits administrés n'ont pas non plus perturbé les valeurs de la LDH. L'administration de l'extrait méthanolique a permis plutôt une diminution de l'activité enzymatique sérique de la LDH.

L'INH+RIF a entraîné une diminution significative de l'activité enzymatique sérique de la LDH. Les différents extraits administrés au contraire, tendent à rehausser cette activité vers celle du lot témoin négatif.

L'INH+RIF+PZA a été sans effet sur les valeurs de la LDH. Il en a été de même après administration des extraits de feuilles de *A. cordifolia*.

Par ailleurs, les extraits, administrés seuls n'ont pas perturbé l'activité enzymatique sérique de la LDH chez le rat.

#### **III.4.1.4. Effet sur la bilirubine directe**

##### **III.4.1.4.1. Effets des extraits seuls**

L'effet de l'administration des extraits aqueux et méthanolique de *A. cordifolia* a été évalué sur la BIL D et représenté sur la **figure 31**. Les extraits aux différentes doses n'ont pas perturbé les valeurs sériques de la BIL D ( $p > 0,05$ ). Cette valeur était de  $0,36 \pm 0,05$  UI/l chez les rats ayant reçu le NaCl.

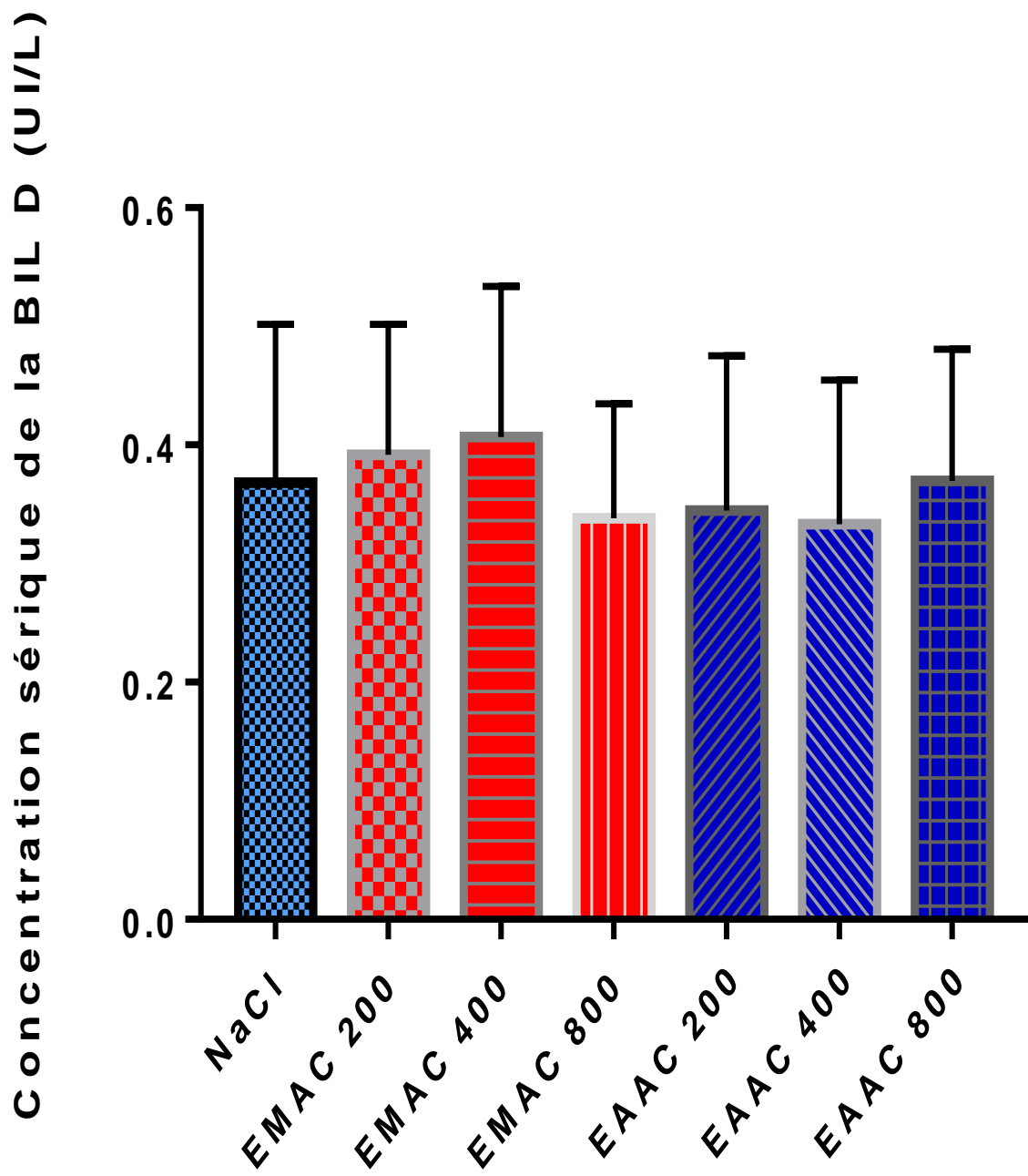
##### **III.4.1.4.2. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'isoniazide**

Les valeurs moyennes des concentrations sériques de la BIL D des différents lots de rats sont représentées sur la **figure 32**. L'INH a entraîné une élévation des concentrations sériques de la BIL D ( $p = 0,028$ ) chez les rats intoxiqués comparativement aux rats ayant reçu le NaCl. Cette augmentation est de l'ordre de 1,80 fois la valeur des rats du lot témoin négatif, qui de  $0,36 \pm 0,05$  UI/l est passée à  $0,65 \pm 0,13$  UI/l.

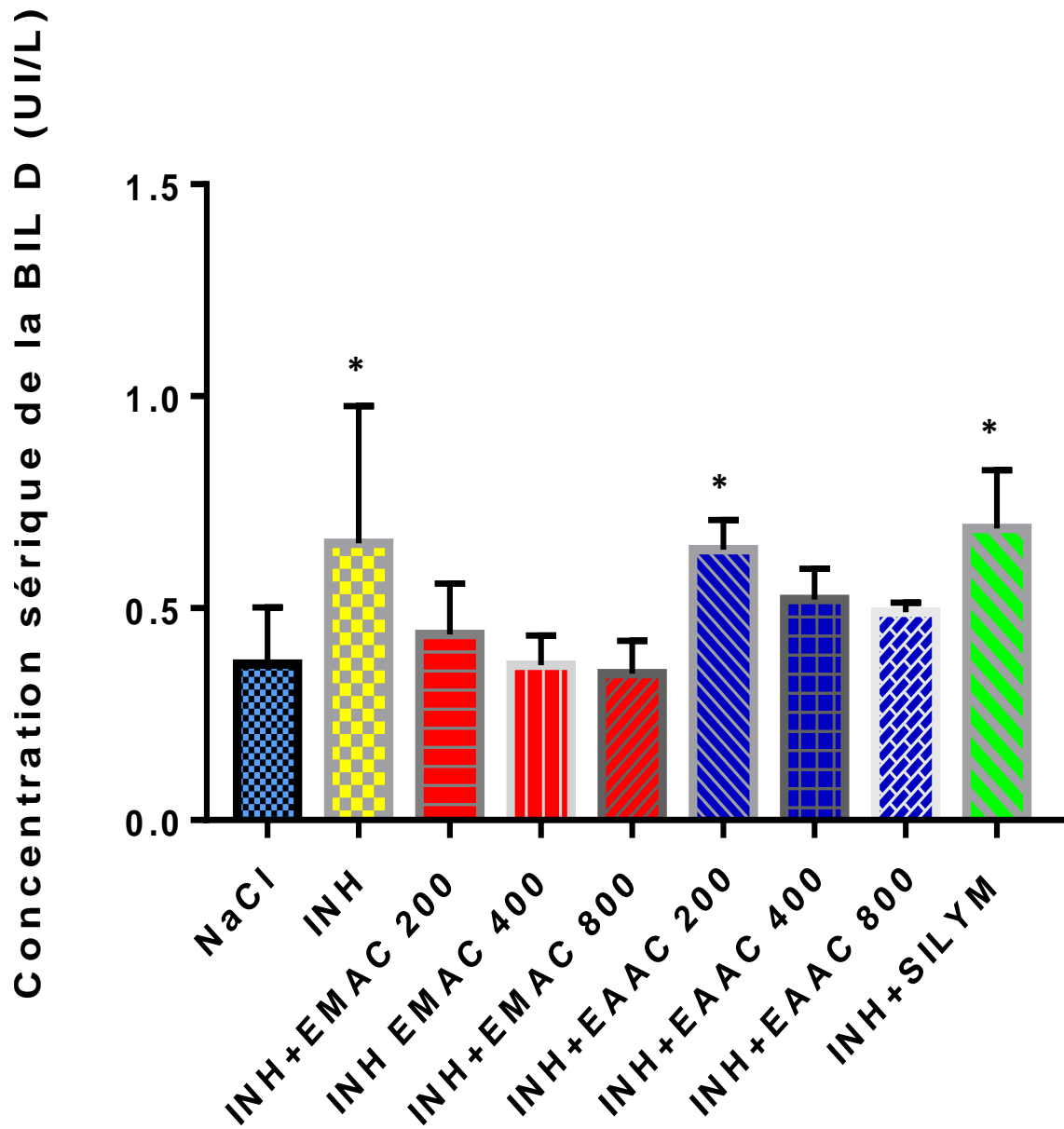
L'administration des différentes doses de l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, et de l'EAAC à 400 mg/kg et à 800 mg/kg respectivement aux lots de rats, a permis de réduire de façon significative les différentes valeurs perturbées ( $p < 0,05$ ). L'EAAC à 200 mg/kg et la silymarine n'ont pas entraîné de baisse significative des valeurs de la BIL D ( $p > 0,05$ ).

Une activité similaire a été notée entre l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, et l'EAAC à 400 mg/kg et à 800 mg/kg ( $p > 0,05$ ).





**Figure 31:** Effet des extraits de *A. cordifolia* seuls sur les valeurs sériques normales de la bilirubine directe chez le rat



**Figure 32:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de la bilirubine directe par l'isoniazide

\* test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin négatif (NaCl), INH : Isoniazide, EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*, EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*, SILYM : silymarine.

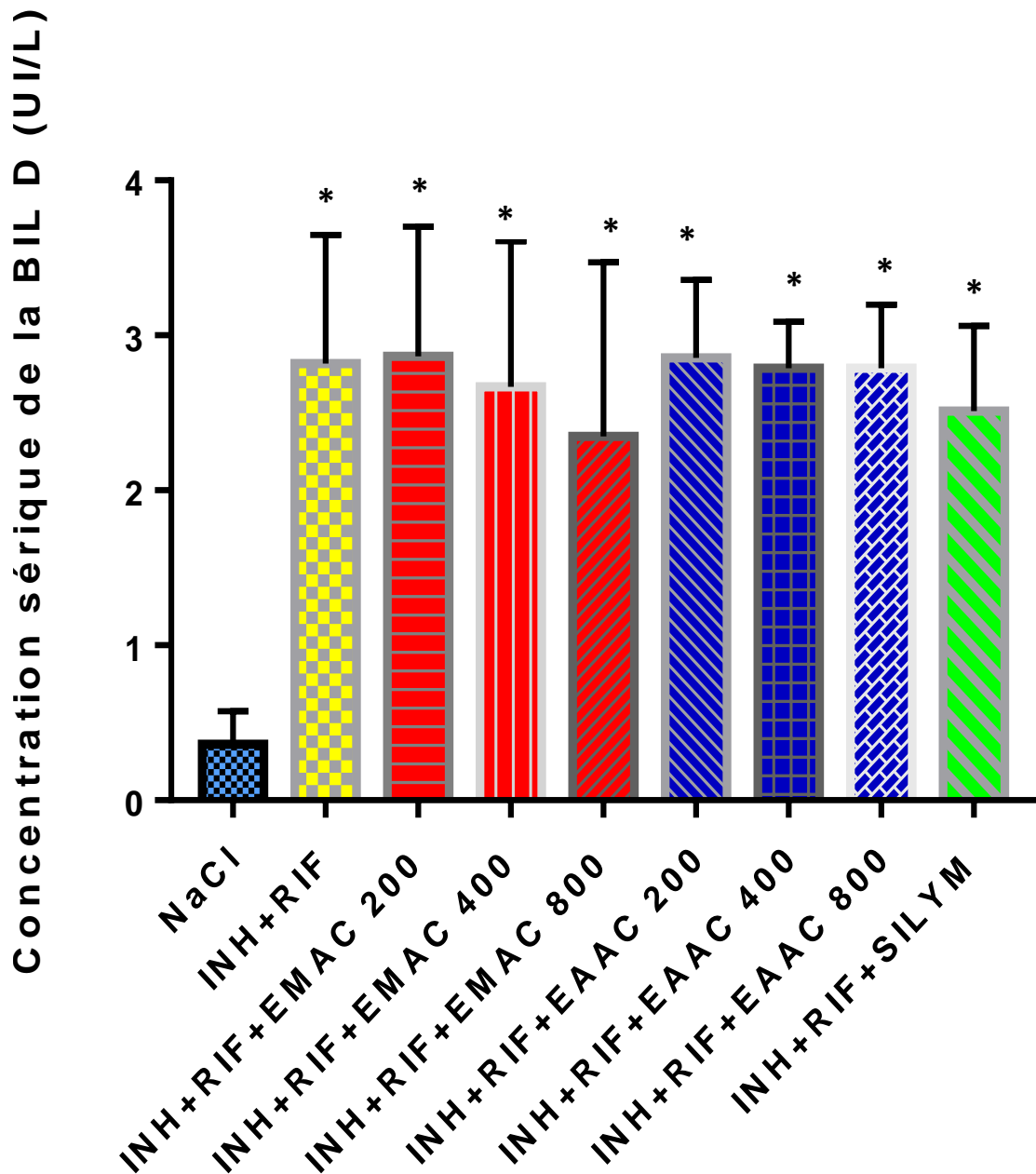
#### **III.4.1.4.3. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide et rifampicine**

L'effet des extraits de plante sur les concentrations sériques de la BIL D a été évalué et représenté sur la **figure 33**. L'association INH+RIF a entraîné une élévation de la BIL D ( $p=0,02$ ) de l'ordre de 7,83 fois. Cette augmentation est passée de  $0,36\pm 0,05$  UI/l avec les rats ayant reçu le  $\text{NaCl}_2$  à  $2,81\pm 0,33$  UI/l avec les rats ayant reçu la combinaison d'antituberculeux. L'administration des extraits de plantes et de la silymarine n'a pas permis de réduction significative des valeurs perturbées de la BIL D. Toutefois, cette perturbation n'a pas été aggravée par les extraits de feuilles de *A. cordifolia*.

#### **III.4.1.4.4. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide**

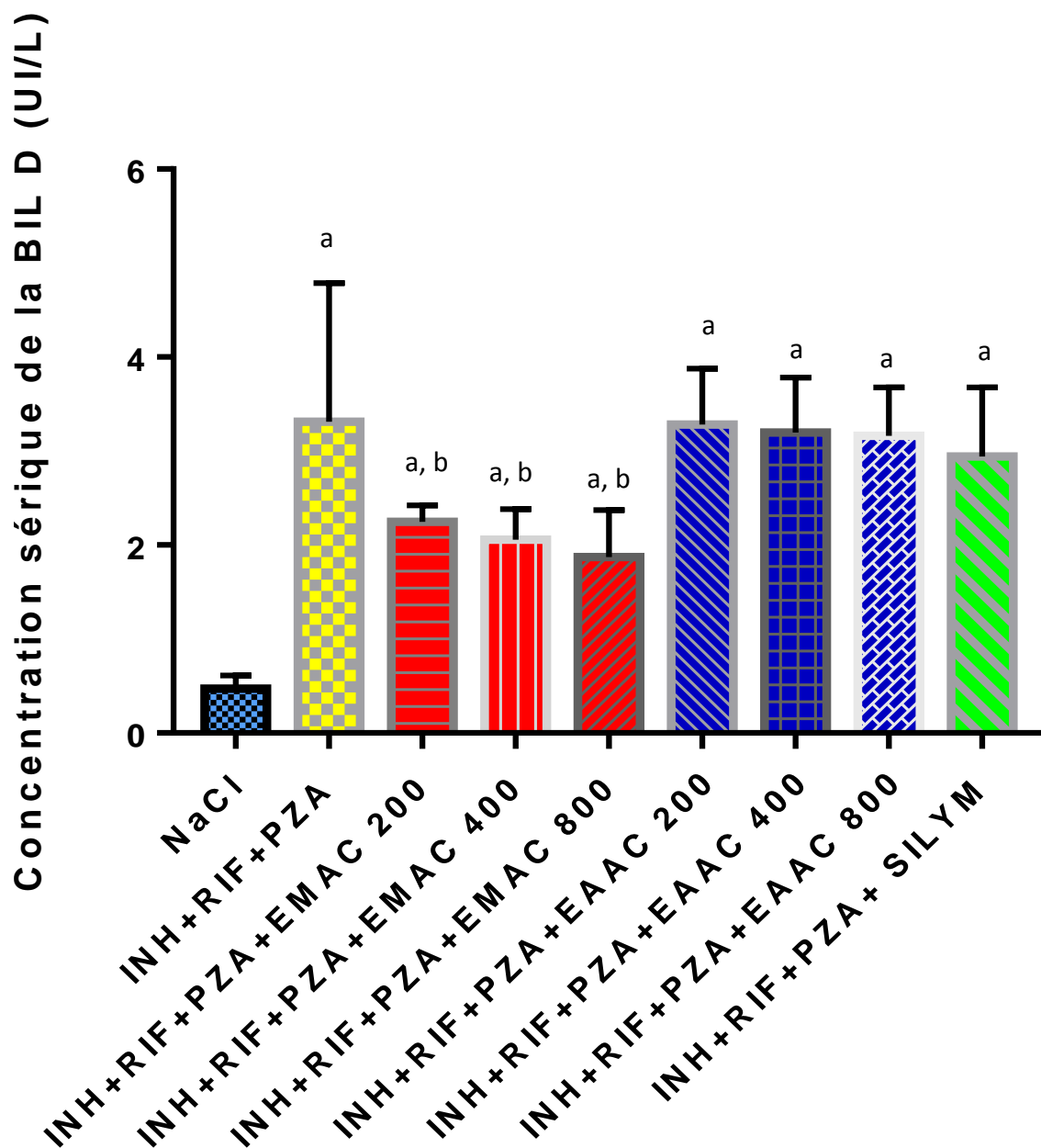
L'effet des extraits de plante sur les concentrations sériques de la BIL D a été évalué et représenté sur la **figure 34**. L'association INH+RIF+PZA a entraîné une augmentation significative des valeurs de la BIL D ( $p=0,02$ ) de 7 fois la valeur du témoin négatif. La valeur de la concentration sérique de la BIL D est passée en effet de  $0,36\pm 0,05$  UI/l à  $2,53\pm 0,60$  UI/l.

L'administration des doses de l'EMAC a permis une diminution significative des valeurs perturbées par la combinaison des antituberculeux ( $p<0,05$ ). Toutefois, les valeurs de la BIL D obtenues restent statistiquement supérieures à celle du lot témoin négatif. Les doses de l'EAAC n'ont pas entraîné de modification significative des valeurs de la BIL D ( $p>0,05$ ).



**Figure 33:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de la bilirubine directe par l'association isoniazide et rifampicine

\* test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin négatif (NaCl), INH+RIF : Isoniazide+Rifampicine, EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*, EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*, SILYM : silymarine



**Figure 34:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de la bilirubine directe par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide

<sup>a</sup> test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin négatif (NaCl), <sup>b</sup> test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin positif (INH+RIF+PZA), INH+RIF+PZA : Isoniazide+Rifampicine+Pyrazinamide, EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*, EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*, SILYM : silymarine

## **Conclusion partielle sur la BIL D**

L'INH a augmenté les valeurs de la BIL D de 1,8 fois. Quand la RIF et/ou le PZA ont été associées, l'augmentation a été de 7 fois environ la valeur des rats du lot témoin négatif.

L'INH a augmenté les valeurs de la BIL D de 1,8 fois. L'administration de l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, et de l'EAAC à 400 mg/kg et à 800 mg/kg a permis une diminution significative des valeurs de la BIL D.

Quand le degré de perturbation de la BIL D a été plus important notamment avec les associations INH+RIF et INH+RIF+PZA. L'effet des extraits de plante a été faible, voire nulle, notamment pour l'extrait aqueux. L'extrait méthanolique a permis une baisse, mais non significative des valeurs de la BIL D perturbées, alors que l'extrait aqueux est resté sans effet sur ces valeurs.

Les extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia*, administrés seuls, n'ont pas perturbé la teneur sérique de BIL D.

### **III.4.1.5. Effet sur la bilirubine totale**

#### **III.4.1.5.1. Effets des extraits seuls**

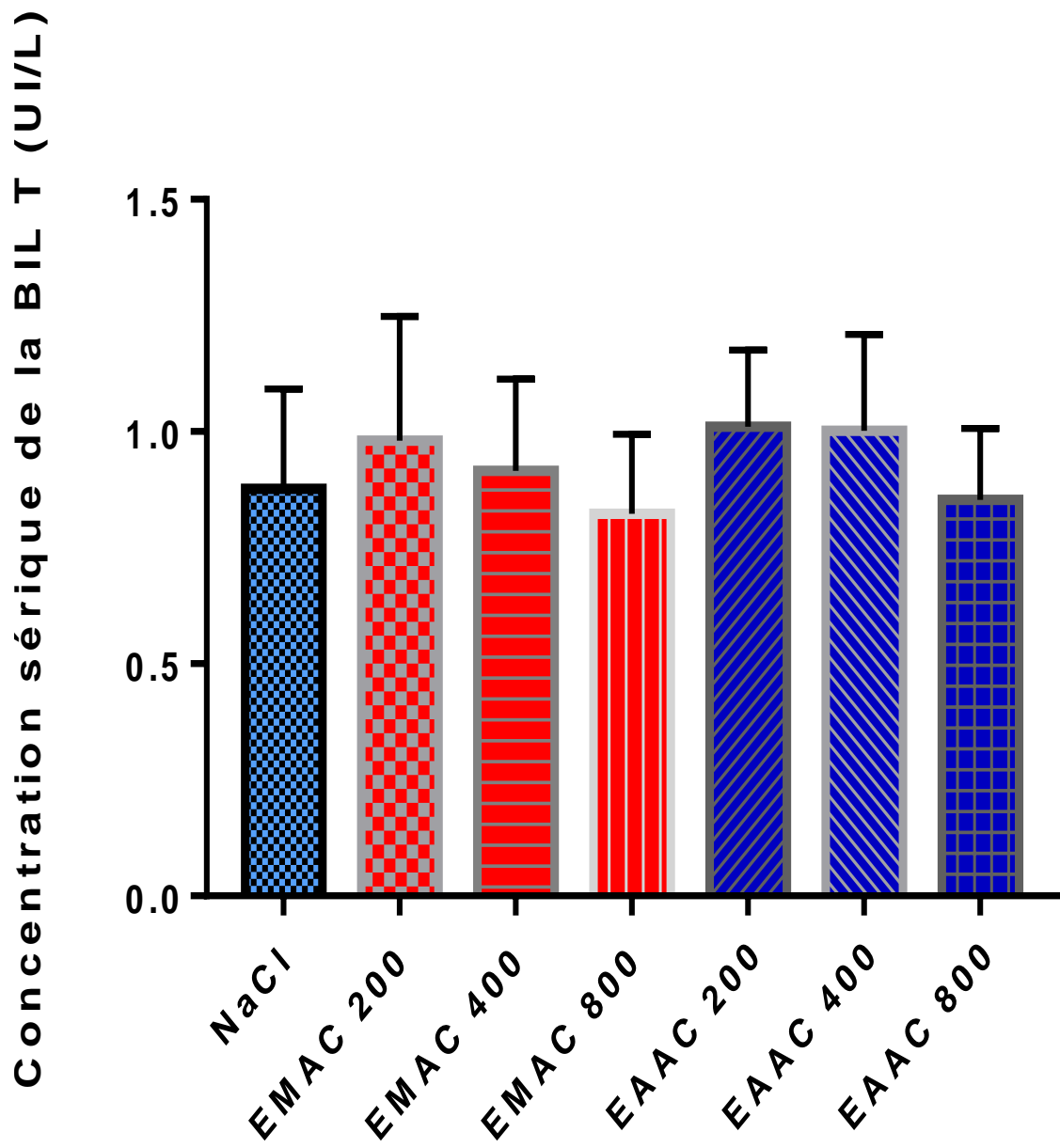
L'effet de l'administration des extraits aqueux et méthanolique de *A. cordifolia* a été évalué sur la BIL T et représenté sur la **figure 35**. Aucun des extraits n'a entraîné de perturbation significative des valeurs de la BIL T ( $p > 0,05$ ) comparativement au lot ayant reçu le NaCl pour lequel cette valeur était de  $0,87 \pm 0,08$  UI/l.

#### **III.4.1.5.2. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'isoniazide**

Les valeurs moyennes des concentrations sériques de la BIL T sont représentées sur la **figure 36**. L'INH a entraîné une élévation des concentrations sériques de la BIL T ( $p = 0,028$ ) chez les rats intoxiqués comparativement aux rats ayant reçu le NaCl. Cette augmentation est de 2,13 fois la valeur des rats du lot témoin négatif. Les concentrations sériques de la BIL T sont passées en effet, après administration de l'INH, de  $0,87 \pm 0,08$  UI/l à  $1,28 \pm 0,10$  UI/l.

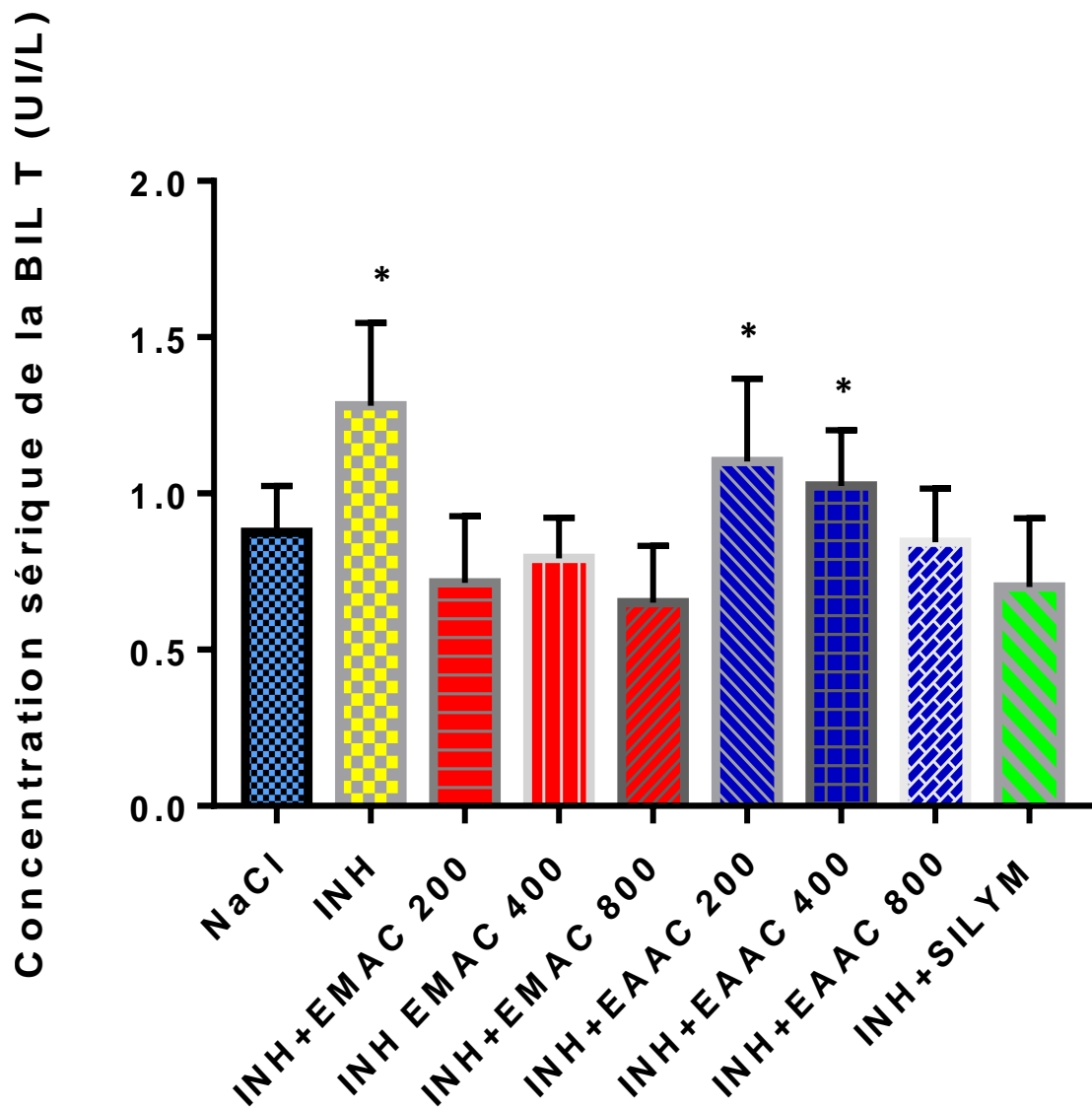
L'administration des différentes doses de l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, de l'EAAC à 800 mg/kg et de la silymarine aux rats a permis de réduire de façon significative les différentes valeurs perturbées ( $p < 0,05$ ). L'EAAC à 200 mg/kg et à 400 mg/kg n'a pas entraîné une baisse significative des valeurs de la BIL T ( $p > 0,05$ ).

Une activité similaire a été notée entre l'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, de l'EAAC à 800 mg/kg et de la silymarine ( $p > 0,05$ ).



**Figure 35:** Effet des extraits de *A. cordifolia* seuls sur les valeurs sériques normales de la bilirubine totale chez le rat





**Figure 36:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de la bilirubine totale par l'isoniazide

\* test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin négatif (NaCl), INH : Isoniazide, EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*, EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*, SILYM : silymarine

#### **III.4.1.5.3. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide et rifampicine**

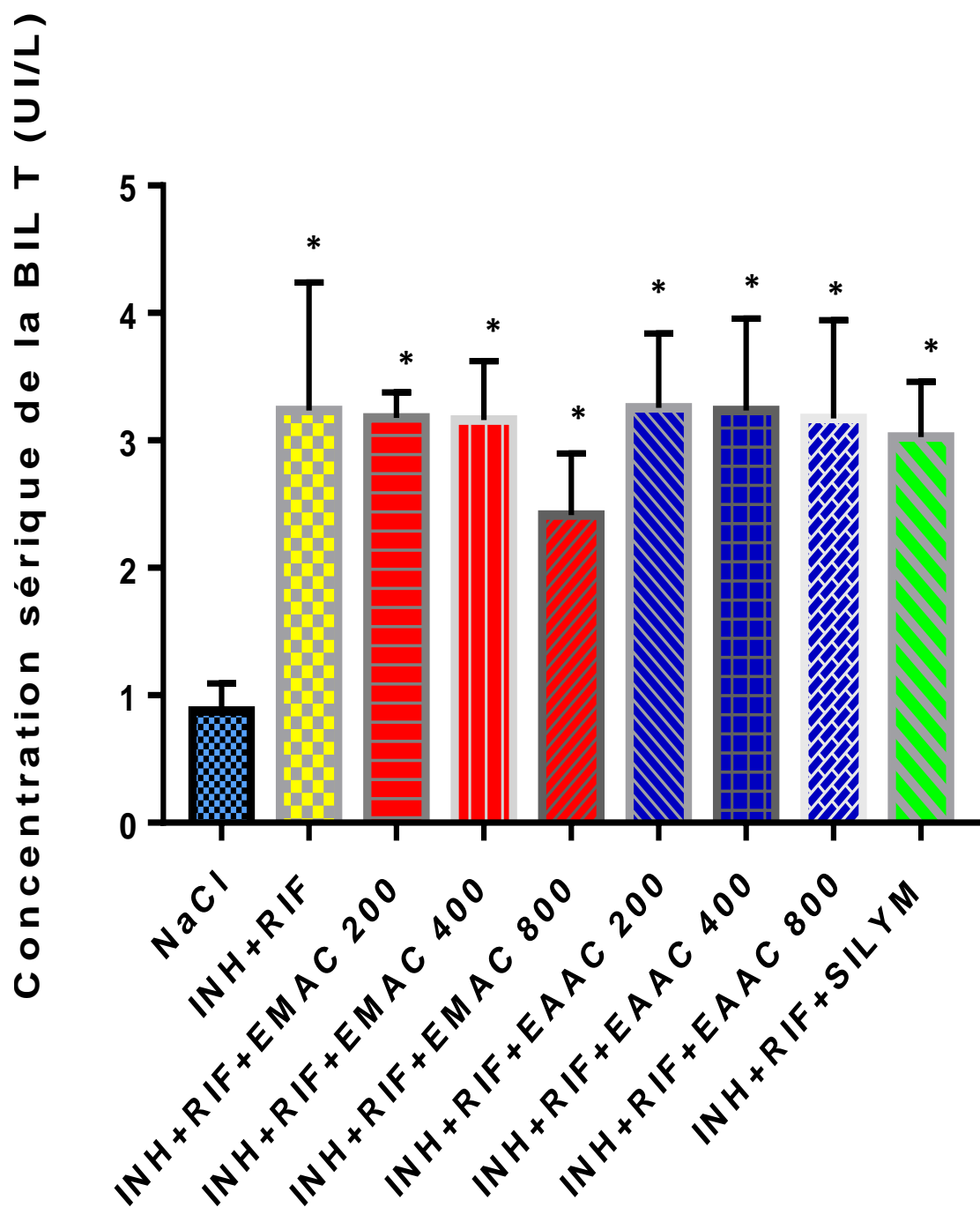
Les valeurs moyennes de la BIL T sont représentées sur la **figure 37**. L'association INH+RIF a entraîné une élévation de la de la BIL T ( $p=0,02$ ) de l'ordre de 3,73 fois, signifiant une variation de  $0,87\pm 0,80$  UI/l à  $3,25\pm 0,41$  UI/l.

Les différents extraits n'ont présenté aucun effet sur les valeurs sériques perturbés de la BIL T par l'association INH+RIF, sans pour autant les aggraver comparativement aux rats du lot témoin positif ( $p > 0,05$ ). L'EMAC à 800 mg/kg a tout de même permis une diminution, mais non significative des valeurs perturbées de la BIL T, les ramenant à  $2,41\pm 0,21$  UI/l.

#### **III.4.1.5.4. Effet des extraits sur l'hépatotoxicité induite par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide**

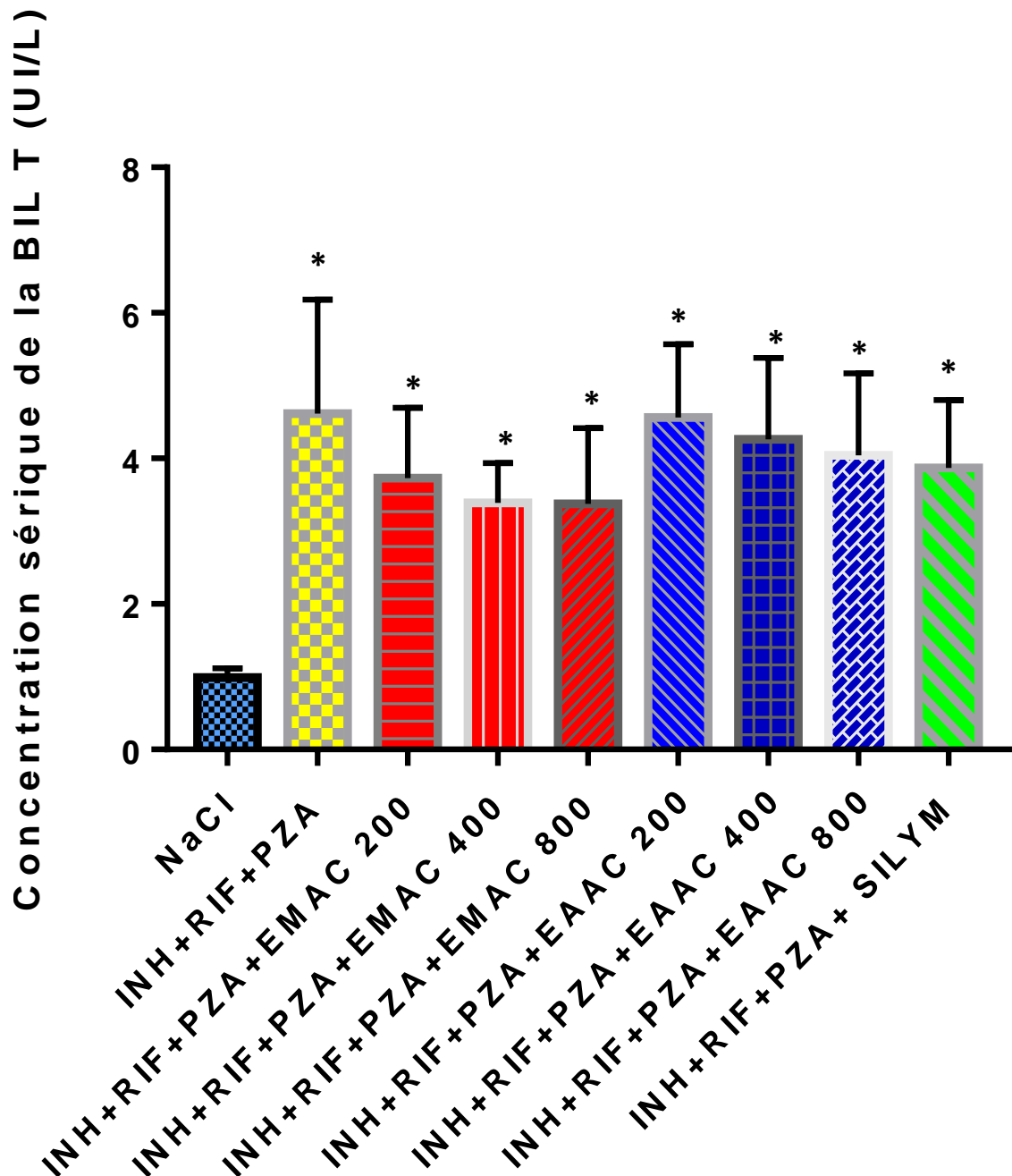
L'association INH+RIF+PZA a entraîné une augmentation significative des valeurs de la BIL D ( $p=0,02$ ) d'environ 5,29 fois la valeur du témoin négatif, la faisant passer de  $0,87\pm 0,08$  UI/l à  $4,61\pm 0,63$  UI/l. Les valeurs moyennes de la BILT sont représentées sur la **figure 38**.

L'administration des doses de l'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* et de l'extrait aqueux à 800 mg/kg a permis une baisse, mais non significative de la teneur en BIL T. Les doses de 200 mg/kg et de 400 mg/kg de l'extrait aqueux ont été sans effet ( $p>0,05$ ).



**Figure 37:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de la bilirubine totale par l'association isoniazide et rifampicine

\* test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin négatif (NaCl), INH+RIF : Isoniazide+Rifampicine, EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*, EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*, SILYM : silymarine



**Figure 38:** Effet des extraits de *A. cordifolia* sur les perturbations des valeurs sériques de la bilirubine totale par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide

\* test de Wilcoxon:  $p < 0,05$  comparé au témoin négatif (NaCl), INH+RIF+PZA :

Isoniazide+Rifampicine+ Pyrazinamide, EMAC : extrait méthanolique de *A. cordifolia*,

EAAC : extrait aqueux de *A. cordifolia*, SILYM : silymarine

## **Conclusion partielle sur la BIL T**

L'administration des antituberculeux a perturbé le taux de BIL T. l'INH et l'INH+RIF ont entraîné une augmentation des valeurs de plus de 2 fois la valeur du témoin négatif. L'INH+RIF+PZA a provoqué une élévation de la BIL T de plus de 5 fois la valeur du témoin négatif.

L'EMAC à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg ont réduit significativement les valeurs perturbées de la BIL T par l'INH.

Seul l'EMAC à 800 mg/kg a entraîné une diminution, mais non significative des valeurs perturbées de la BIL T par l'administration de l'INH+RIF.

Aucun extrait n'a eu d'effet sur les perturbations de la BIL T induites par l'INH+RIF et par l'INH+RIF+PZA. Toutefois, la perturbation de ces valeurs n'a pas été aggravée.

Les doses de l'extrait méthanolique, et l'extrait aqueux à 800 mg/kg ont entraîné une baisse, mais non significative de la BIL T perturbée par l'administration de l'association INH+RIF+PZA.

Les extraits, administrés seuls ont été sans incidence sur la concentration sérique de BIL T.

### **III.4.2. Résultats de l'étude histopathologique**

La structure des foies des animaux a été observée et représentée sur les **figures 39 à 59**. Les anomalies observées sont essentiellement les lésions élémentaires de clarification, de ballonisation, de nécrose acidophile, de péliose et de stéatose micro et macrovacuolaire. Le tableau VI ci-dessous indique les différentes lésions élémentaires observées, sachant que le foie d'un même rat peut associer plusieurs lésions à la fois.

**Tableau VI:** Lésions élémentaires observées avec les antituberculeux et les effectifs de foies

	<b>Clarification</b>	<b>Ballonisation</b>	<b>Nécrose acidophile</b>	<b>Pélioise</b>	<b>Stéatose</b>
<b>INH</b>	1/6 (16,67%)	1/6 (16,67%)	4/6 (66,67%)	2/6 (33,33%)	2/6 (33,33%)
<b>INH+RIF</b>	3/6 (50%)	1/6 (16,67%)	3/6 (50%)	1/6 (16,67%)	2/6 (33,33%)
<b>INH+RIF+PZA</b>	0/6 (0%)	0/6 (0%)	2/6 (33,33%)	3/6 (50%)	2/6 (33,33%)

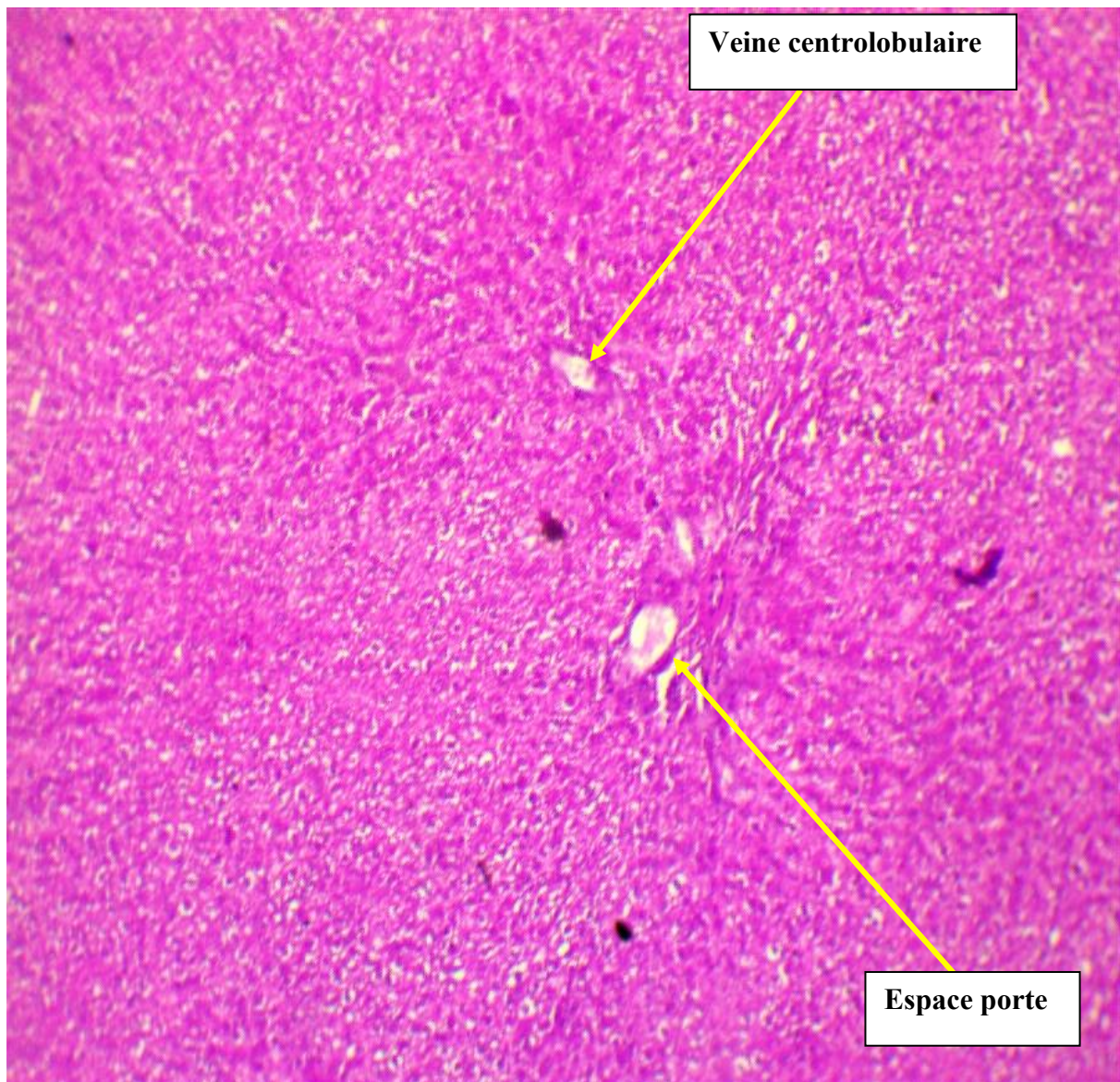
#### **III.4.2.1. Résultats de l'histopathologie du foie non intoxiqué**

L'observation de la section du foie du rat témoin négatif (non intoxiqué) montre sur la **figure 39** un parenchyme hépatique normal avec des travées hépatocytaires régulières, un espace porte et une veine centrolobulaire.

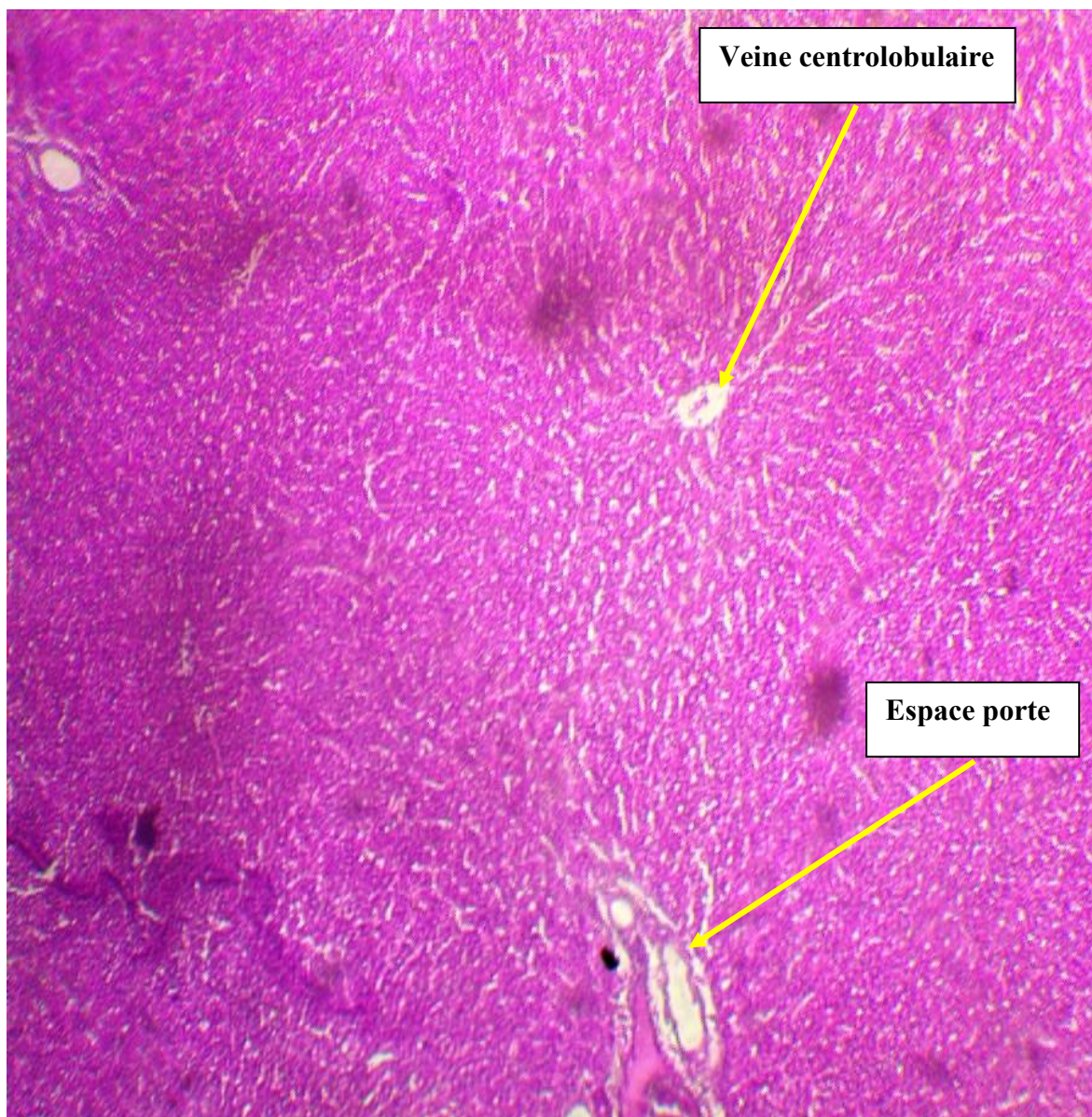
#### **III.4.2.2. Résultats de l'effet des extraits seuls sur l'histologie du foie**

Les microphotographies des sections de foie ayant reçu uniquement les extraits de *A. cordifolia* sont représentées sur les **figures 40 et 41**. Elles montrent une structure hépatique normale sans particularité.

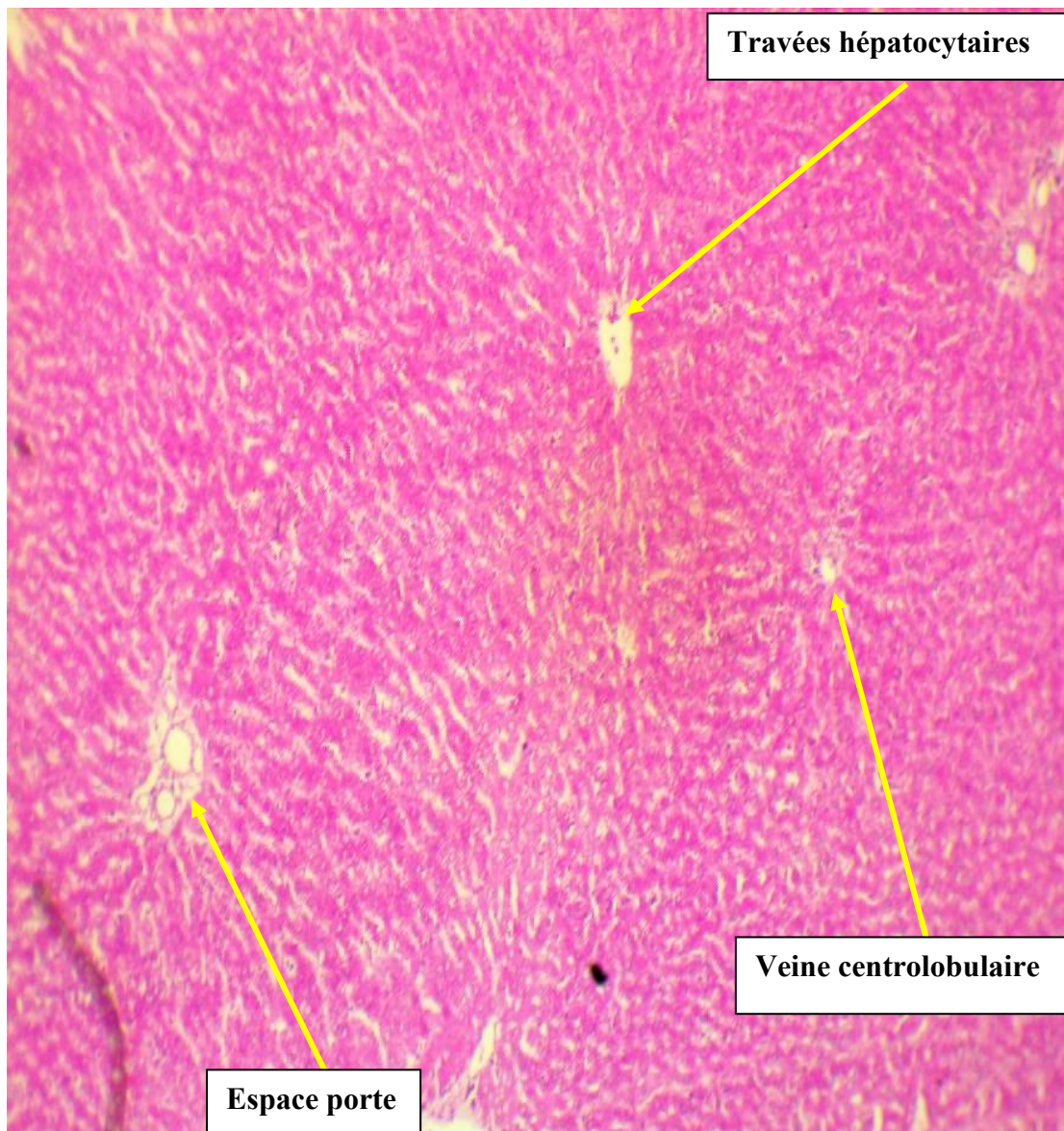




**Figure 39** (HE x 250) : microphotographie du foie du rat témoin non intoxiqué montrant un parenchyme hépatique normal avec un espace porte et une veine centrolobulaire.



**Figure 40** (HE x 250): microphotographie du foie du rat ayant reçu l'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* seul à 800 mg/kg montrant un parenchyme hépatique normal avec un espace porte et une veine centrolobulaire



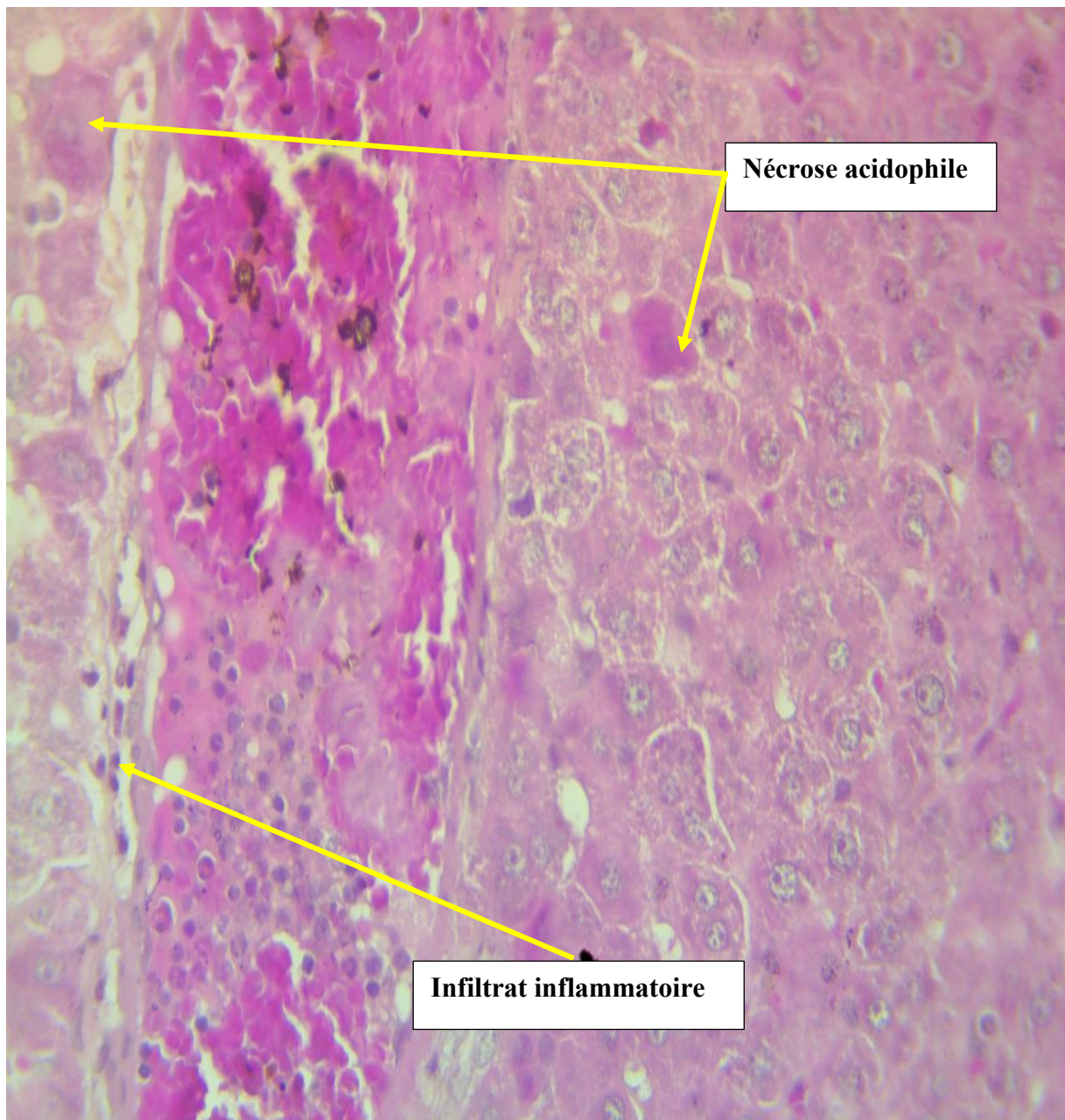
**Figure 41** (HE x 250) : microphotographie du foie du rat ayant reçu l'extrait aqueux de feuilles de *A. cordifolia* seul à 800 mg/kg montrant un parenchyme hépatique normal avec un espace porte, une veine centrolobulaire et des travées hépatocytaires

### III.4.2.3. Résultats de l'histopathologie du foie intoxiqué par l'isoniazide et ayant reçu les extraits de *A. cordifolia*

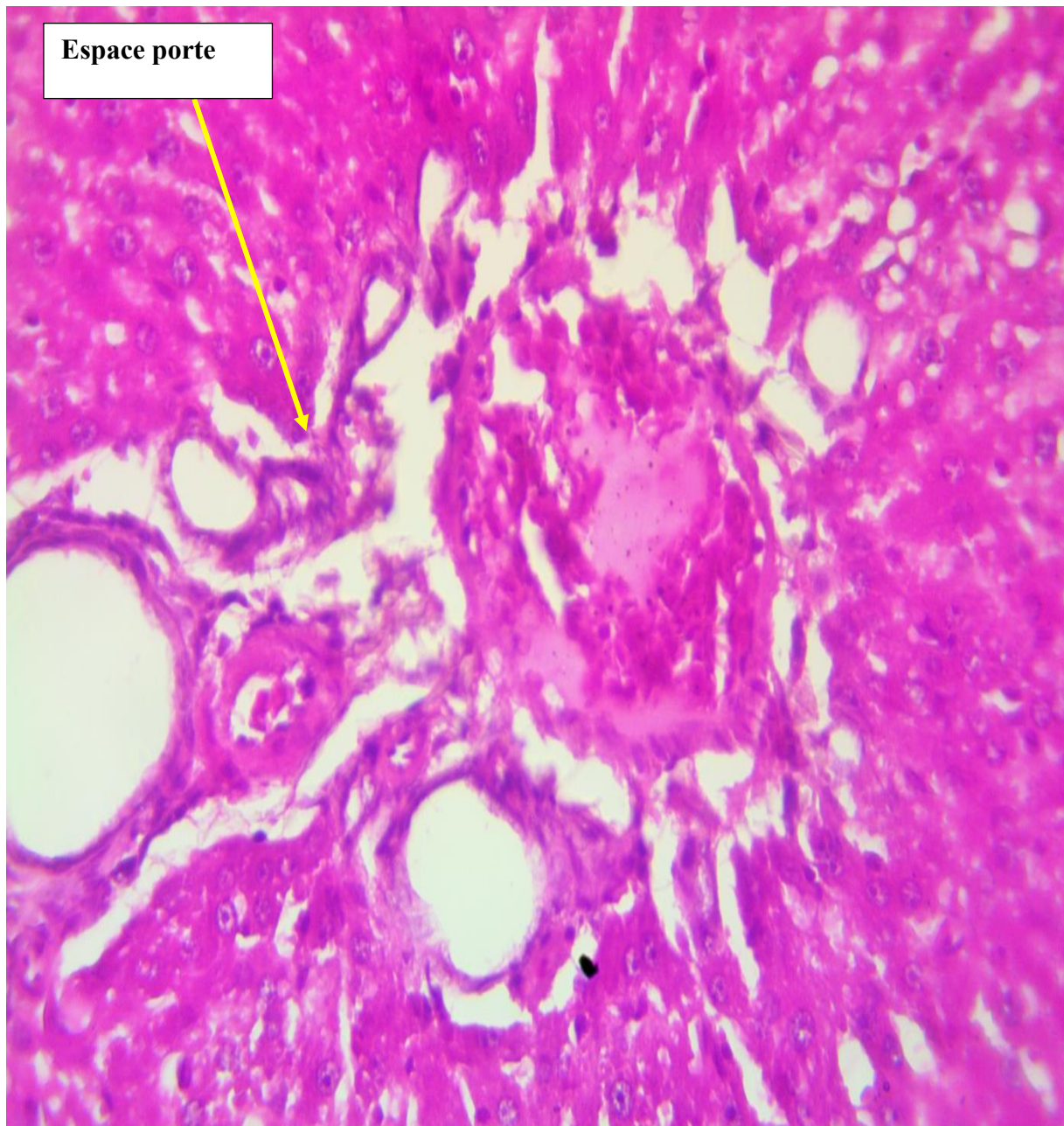
La **figure 42** montre la microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'INH. On y observe une nécrose acidophile et un infiltrat inflammatoire.

Les sections du foie intoxiqué par l'INH et traité par l'EMAC à 800 mg/kg, l'EMAC à 400 mg/kg ou l'EAC à 800 mg/kg sont représentées sur les **figures 43, 44 et 45**. Elles montrent un parenchyme hépatique normal.

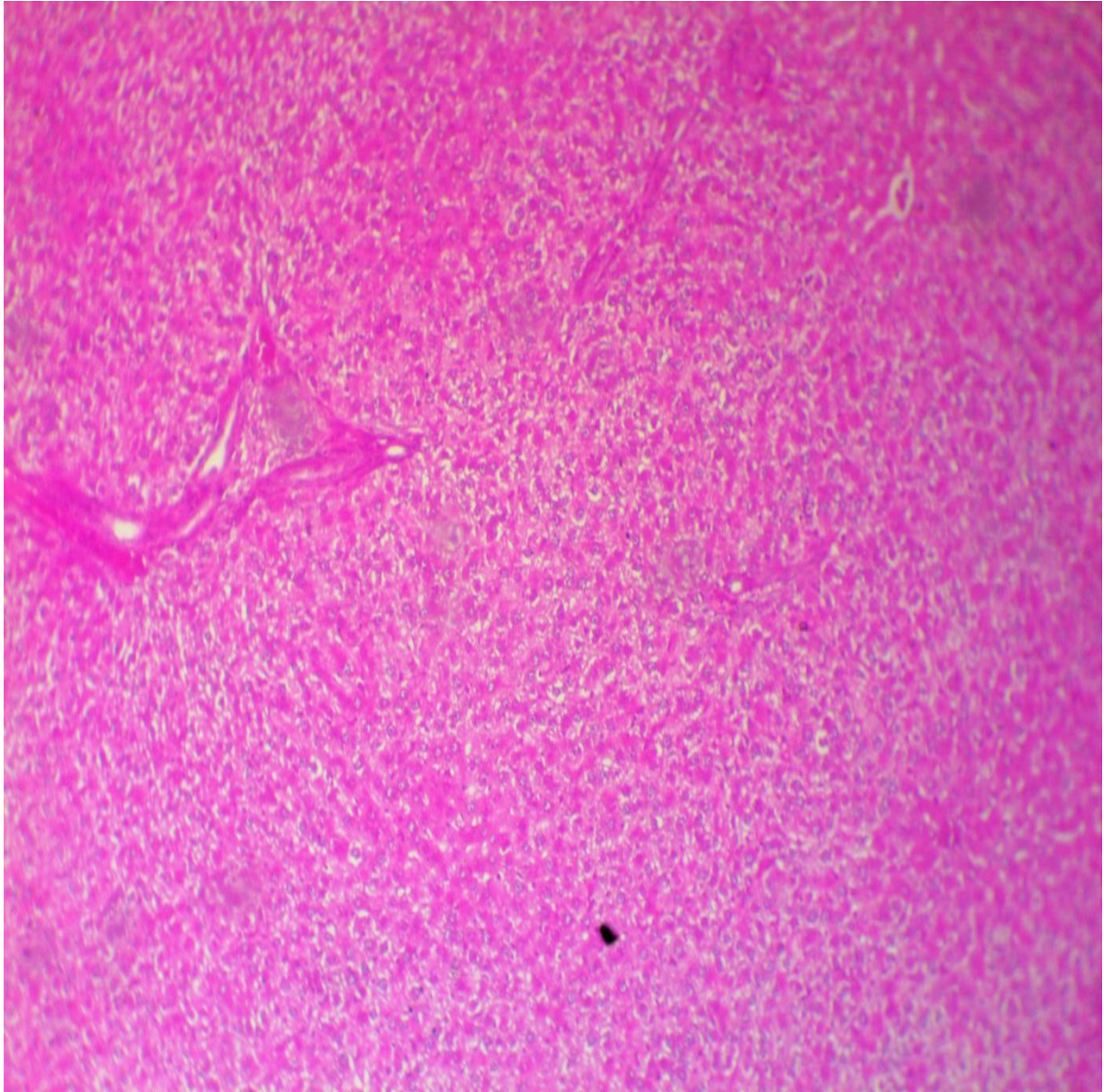
Par contre, les autres doses des extraits ont été sans effet sur les lésions hépatocytaires induites par l'INH comme c'est le cas avec l'EMAC à 200 mg/kg, l'EAC à 400 mg/kg et l'EAC à 200 mg/kg dont les microphotographies des foies des rats montrent une stéatose micro et macrovacuolaire (**figures 46 et 47**), une clarification, une dilatation sinusoidale et une stéatose (**figures 48**).



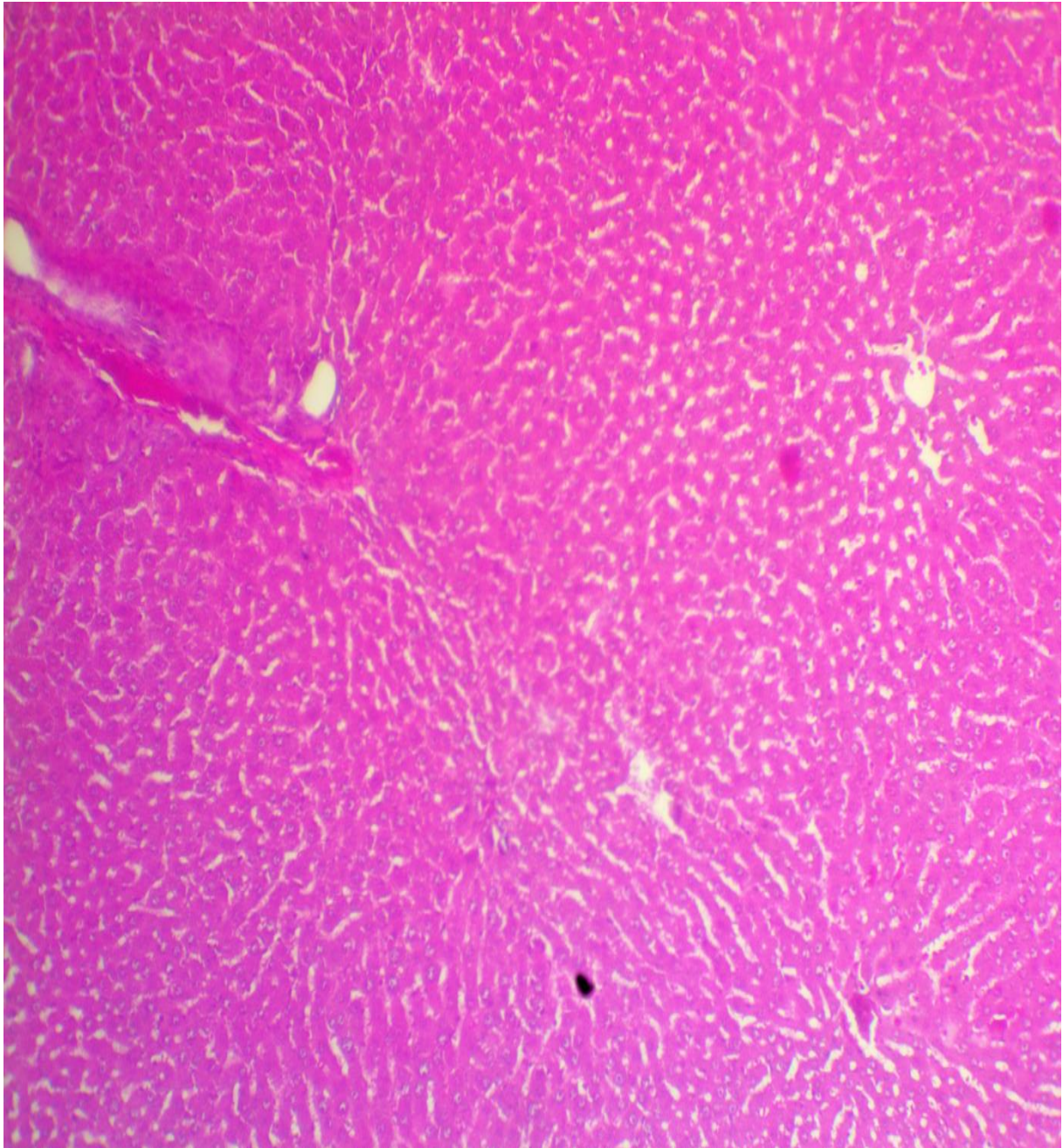
**Figure 42** (HE x 400) : microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'isoniazide, montrant une nécrose acidophile et un infiltrat inflammatoire



**Figure 43** (HE x 400): microphotographie du foie intétoxiqué par l'isoniazide et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* à 800 mg/kg, montrant un espace porte et une disparition de la nécrose induite par l'isoniazide

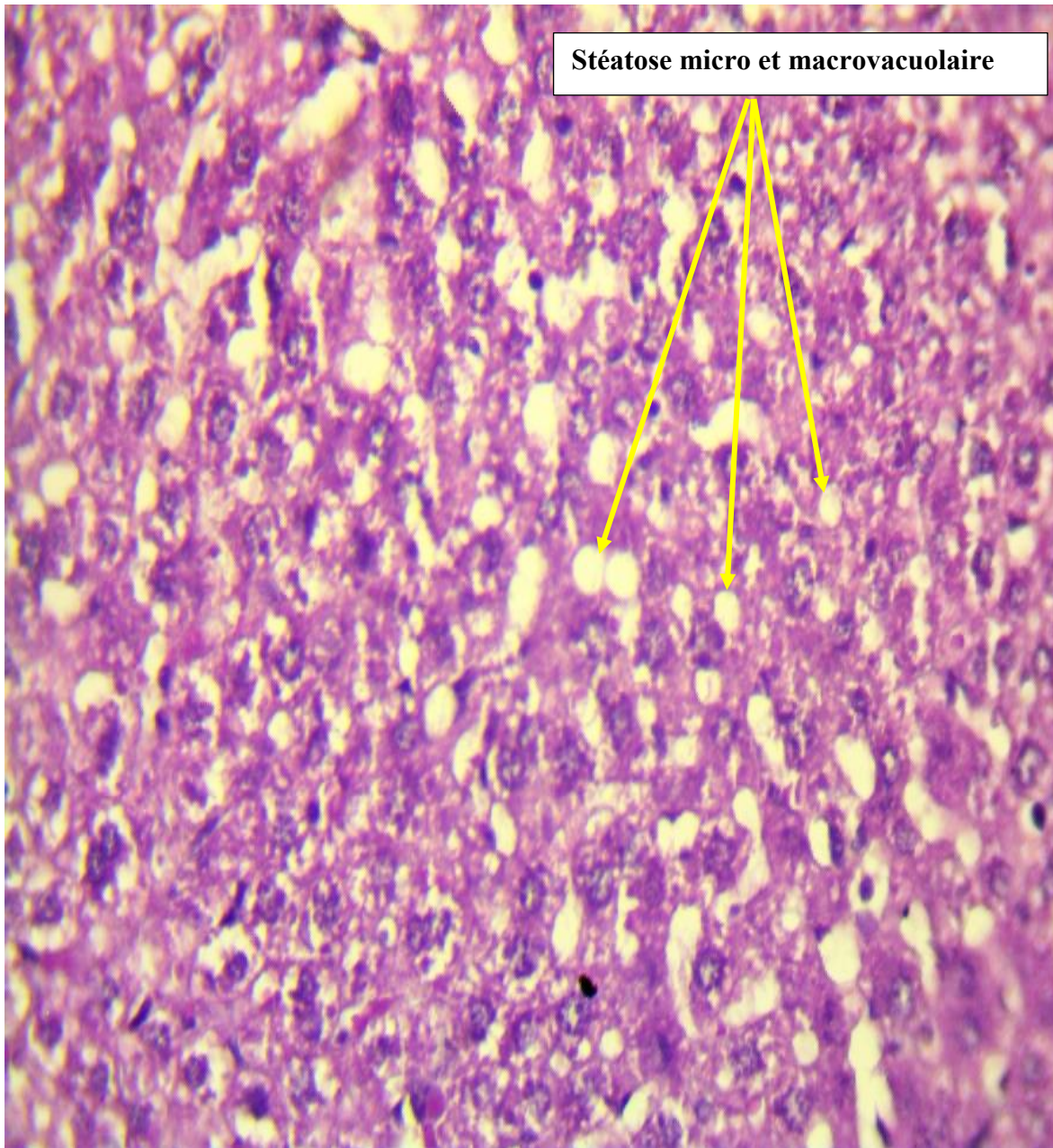


**Figure 44** (HE x 250): microphotographie du foie intoxiqué par l'isoniazide et traité par l'extrait aqueux de feuilles de *A. cordifolia* à 800 mg/kg, montrant une structure normale

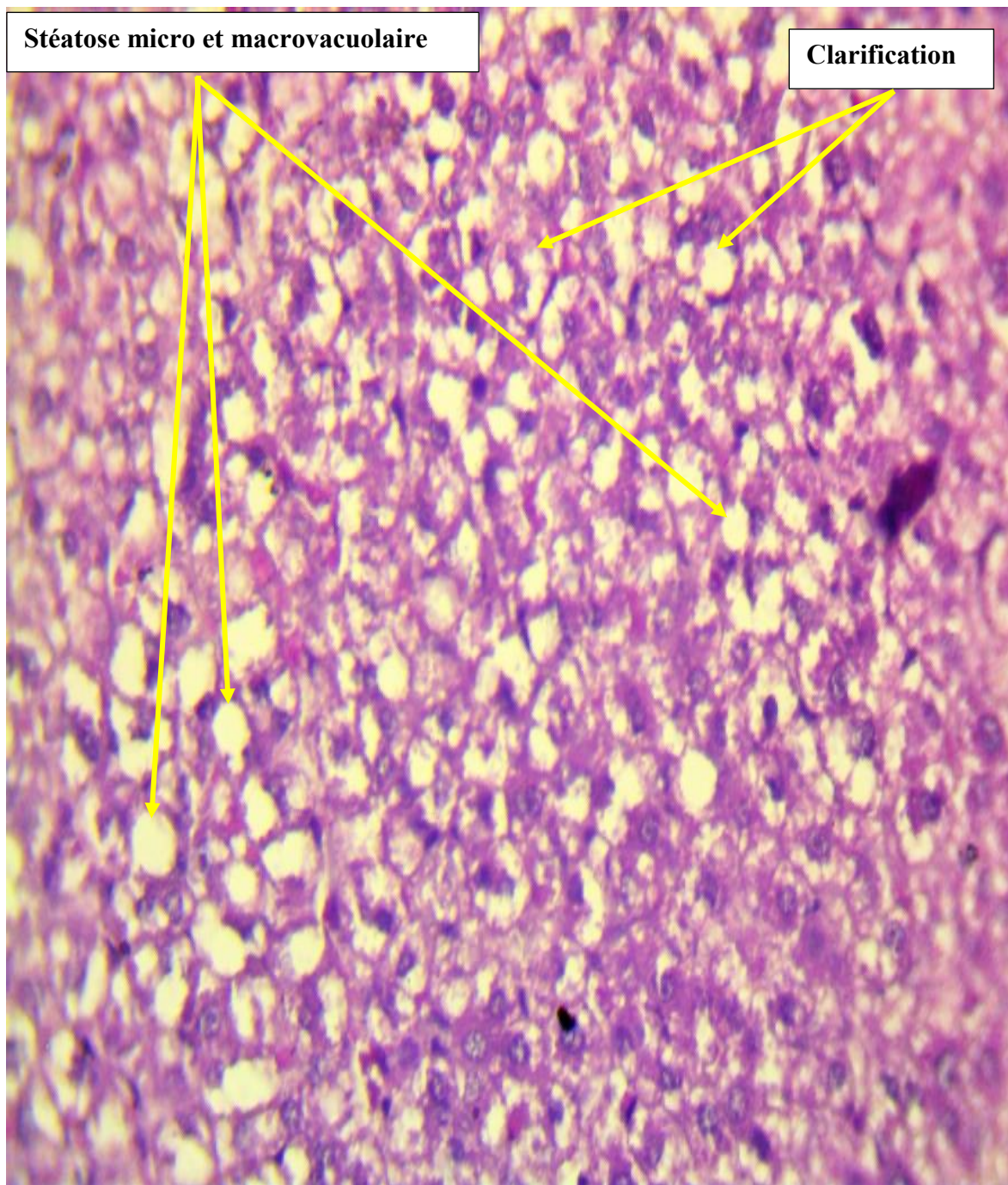


**Figure 45** (HE x 250): microphotographie du foie intoxiqué par l'isoniazide et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* à 400 mg/kg, montrant une structure normale.





**Figure 46** (HE x 400) : microphotographie du foie intoxiqué par l'isoniazide et traité par l'extrait aqueux de feuilles de *A. cordifolia* à 400 mg/kg, montrant une stéatose micro et macrovacuolaire



**Figure 47** (HE x 400) : microphotographie du foie intoxiqué par l'isoniazide et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* à 200 mg/kg, montrant une stéatose micro et macrovacuolaire

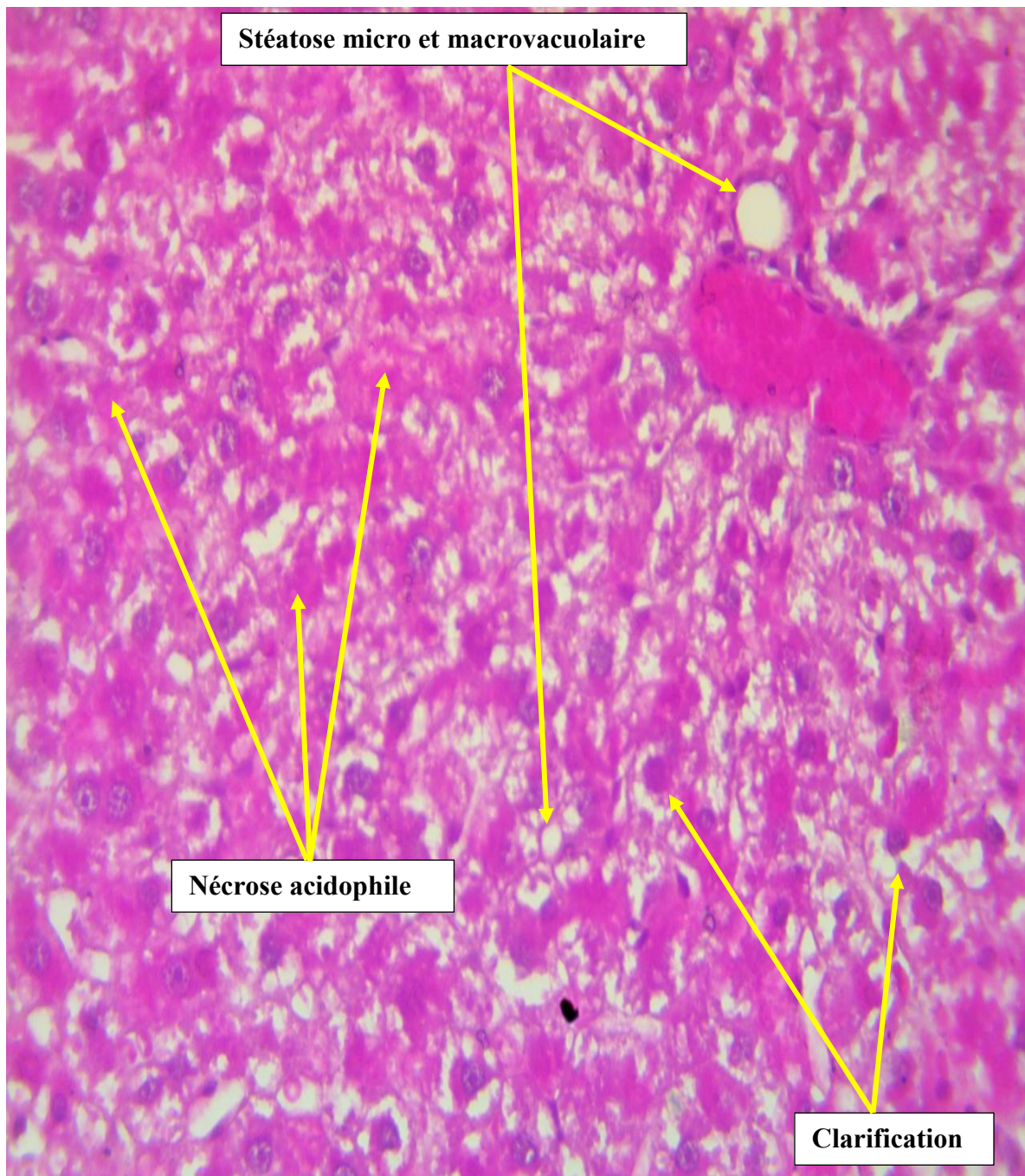


**Figure 48** (HE x 400): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'isoniazide et traité par l'extrait aqueux de feuilles de *A. cordifolia* à 200 mg/kg, montrant une dilatation sinusoidale et une stéatose

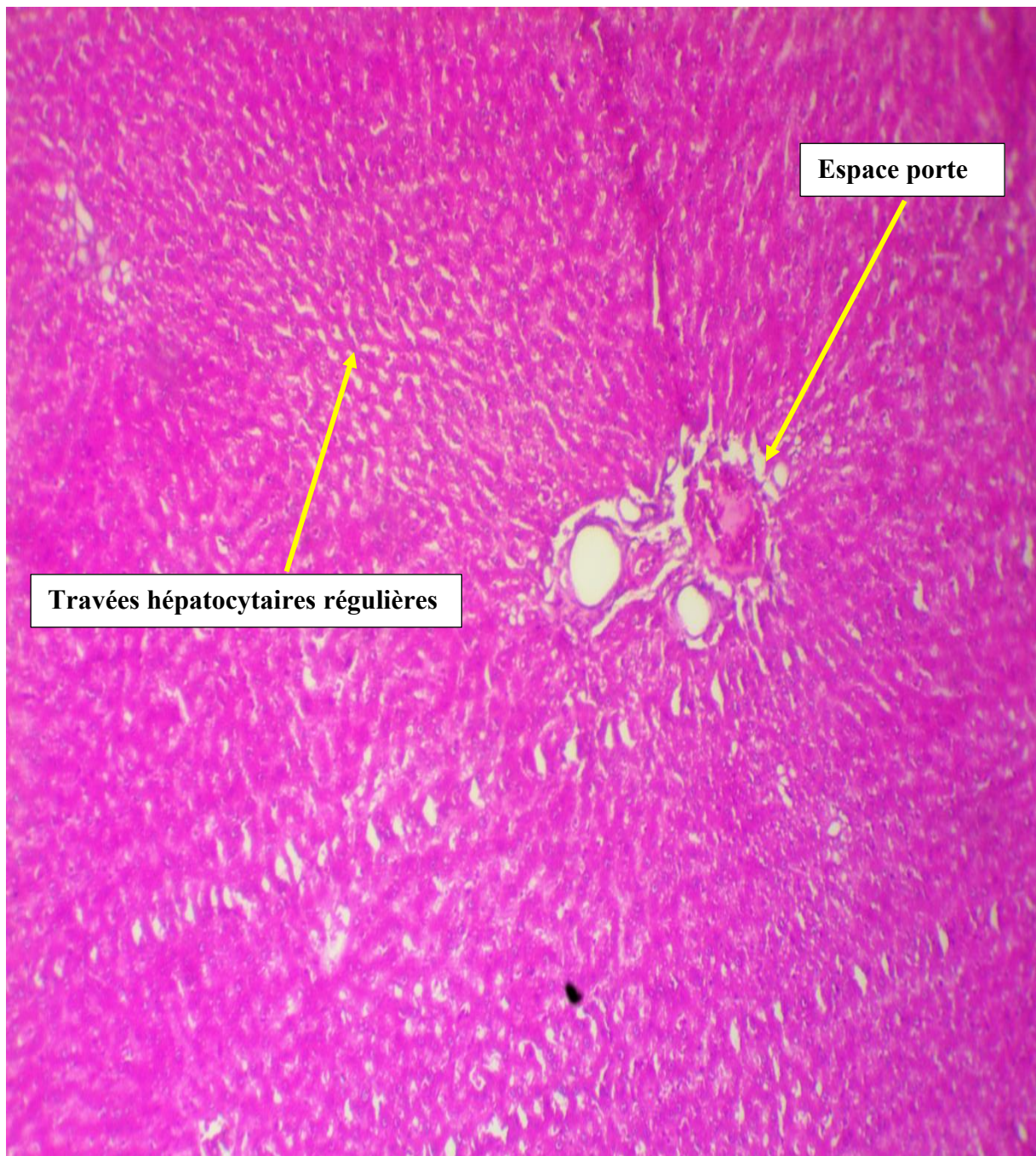
#### **III.4.2.4. Résultats de l'histopathologie du foie intoxiqué par l'association isoniazide+rifampicine et ayant reçu les extraits de *A. cordifolia***

L'observation de la section du foie du rat intoxiqué par l'INH+RIF montre sur la **figure 49** une clarification, une nécrose acidophile modérée avec désorganisation trabéculaire et des hépatocytes associant des stéatoses micro et macrovacuolaires.

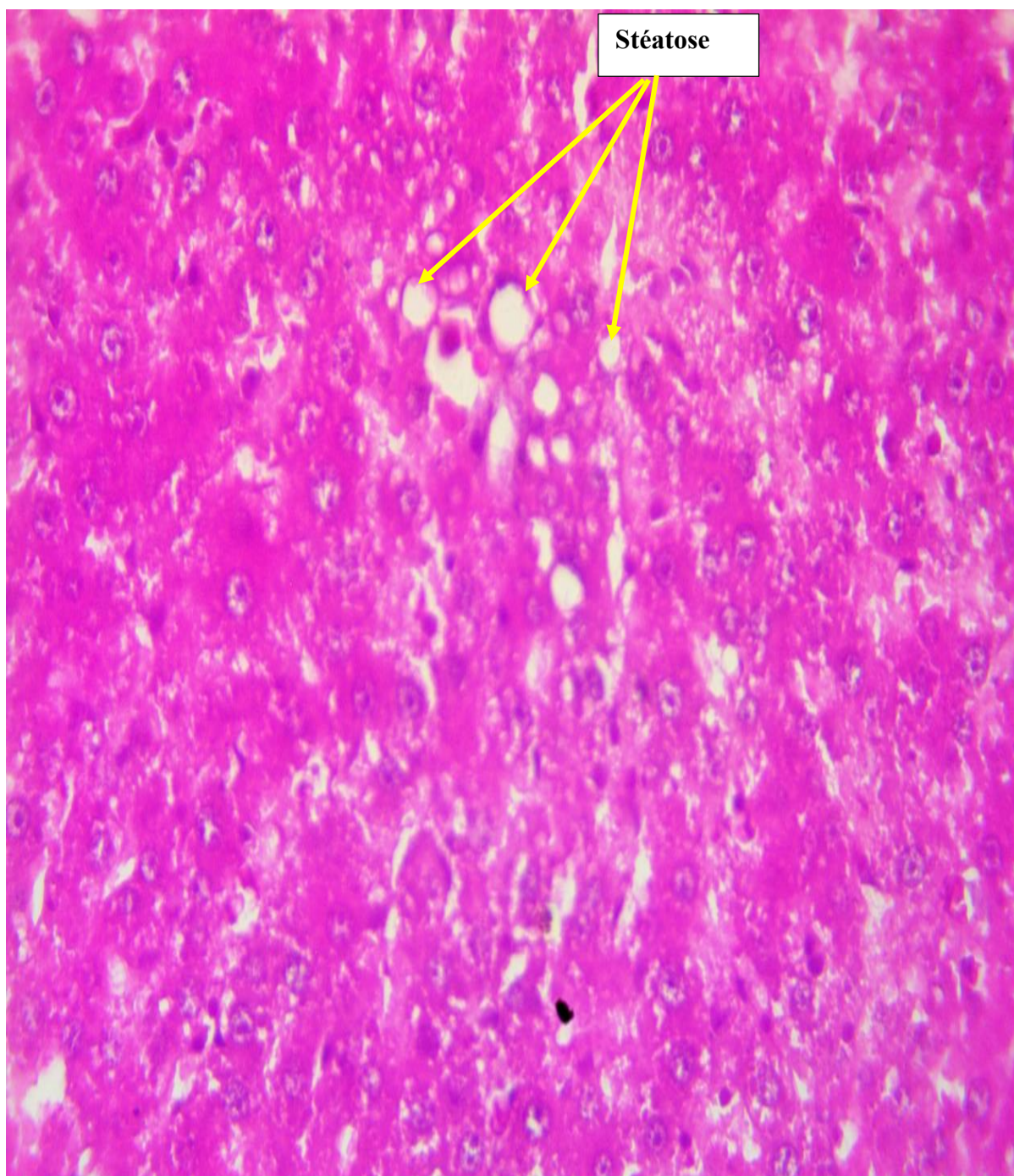
Les microphotographies de la section du foie intoxiqué par l'INH+RIF et traité par l'EMAC à 800 mg/kg, l'EMAC à 400 mg/kg ou l'EAAC à 800 mg/kg sont représentées sur les **figures 50, 51 et 52**. Elles montrent une structure de foie avec des travées régulières avec l'EMAC à 800 mg/kg, une stéatose minime avec l'EMAC à 400 mg/kg, et une clarification et une ballonnisation minime avec l'EAAC à 800 mg/kg. Les foies des rats ayant reçu l'INH+RIF et traité par l'EAAC à 400 mg/kg ou par l'EMAC à 200 mg/kg présentent également une clarification et une ballonnisation, mais aussi une nécrose acidophile avec une désorganisation trabéculaire (**figures 53 et 54**).



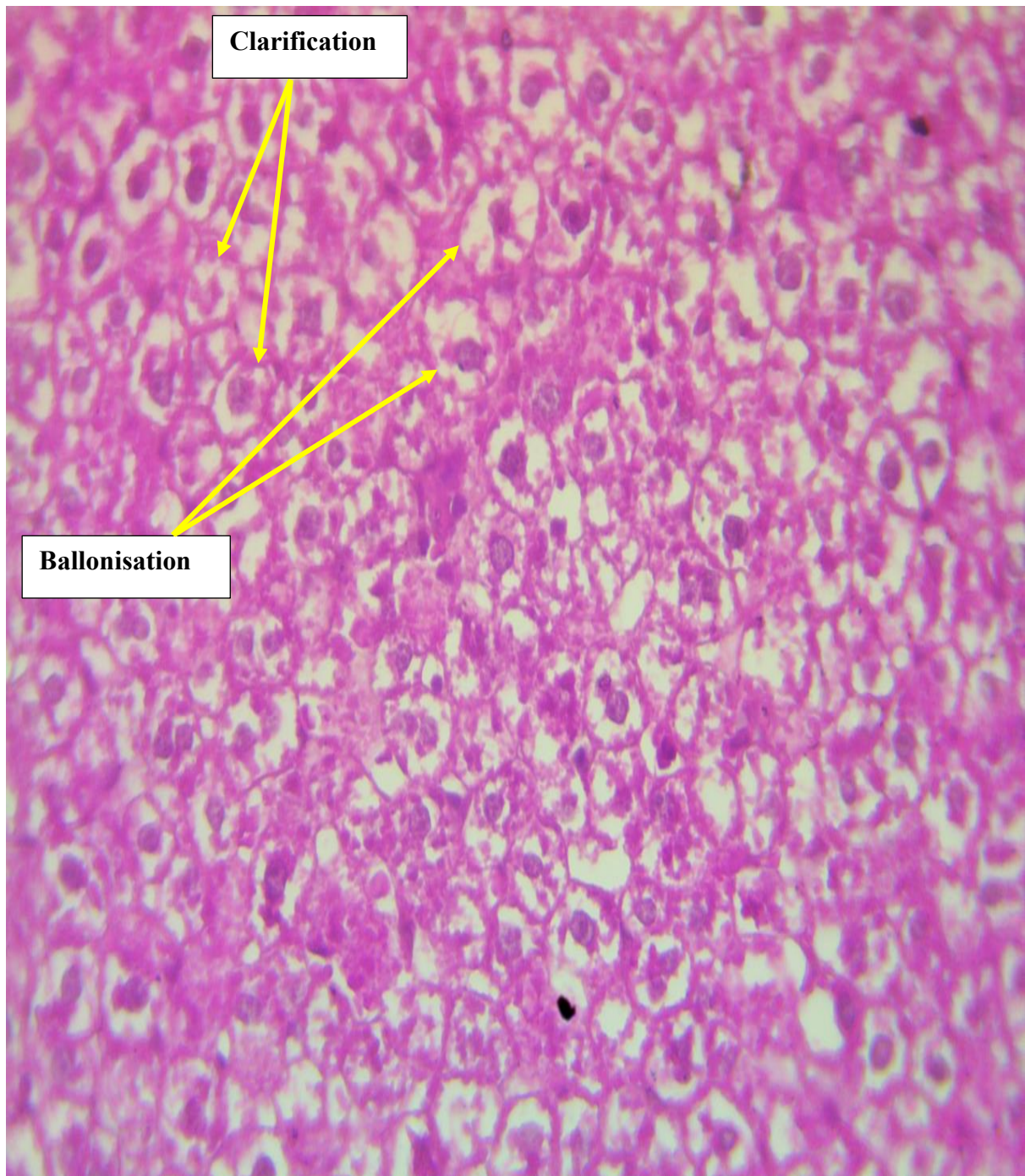
**Figure 49** (HE x 400) : microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide et rifampicine, montrant une nécrose acidophile, une stéatose micro et macrovacuolaire et des lésions de clarification.



**Figure 50** (HE x 250) : microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide et rifampicine et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* à 800 mg/kg, montrant des travées hépatocytaires régulières et un espace porte

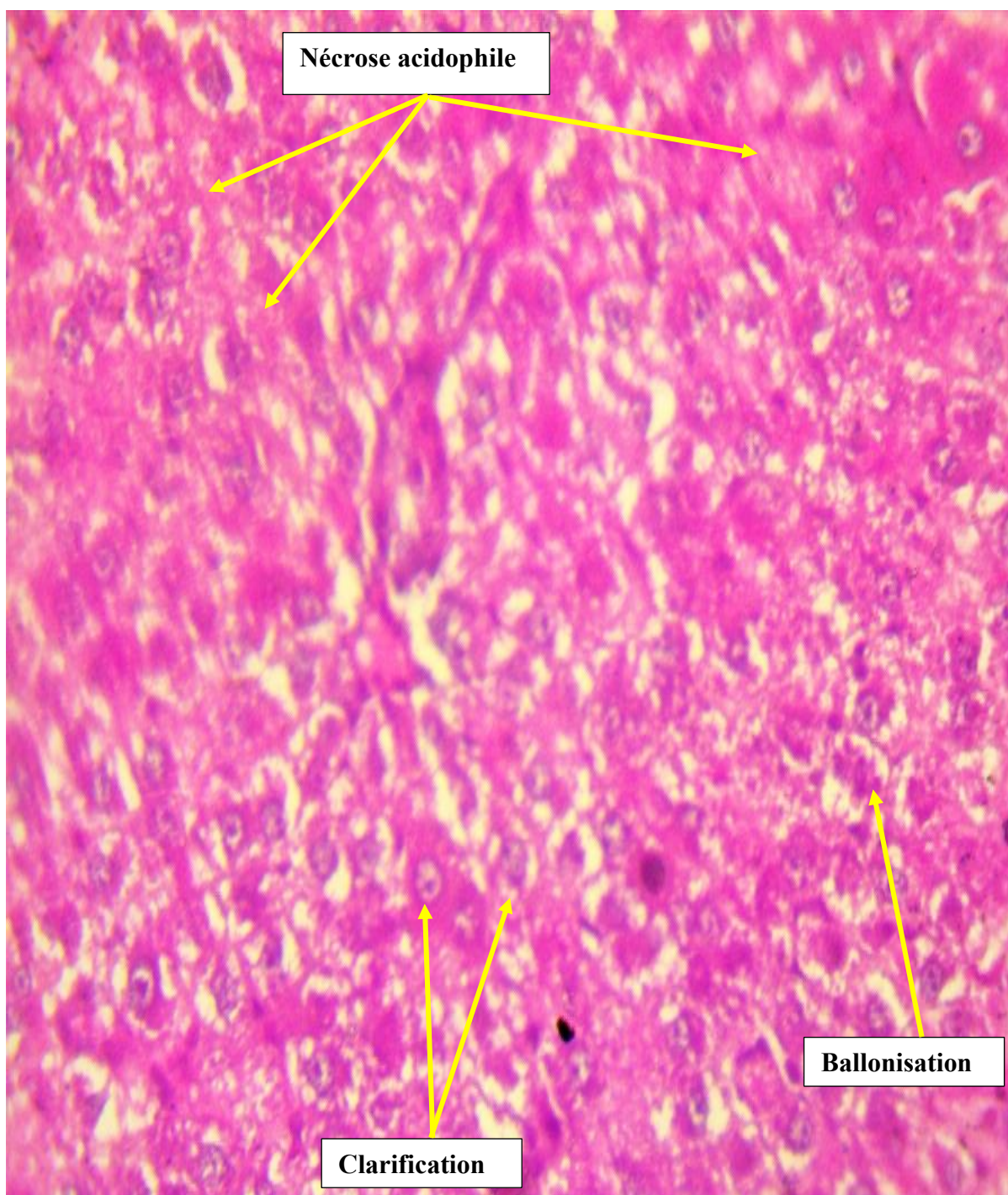


**Figure 51** (HE x 400): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide et rifampicine et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* à 400 mg/kg, montrant une stéatose minimale

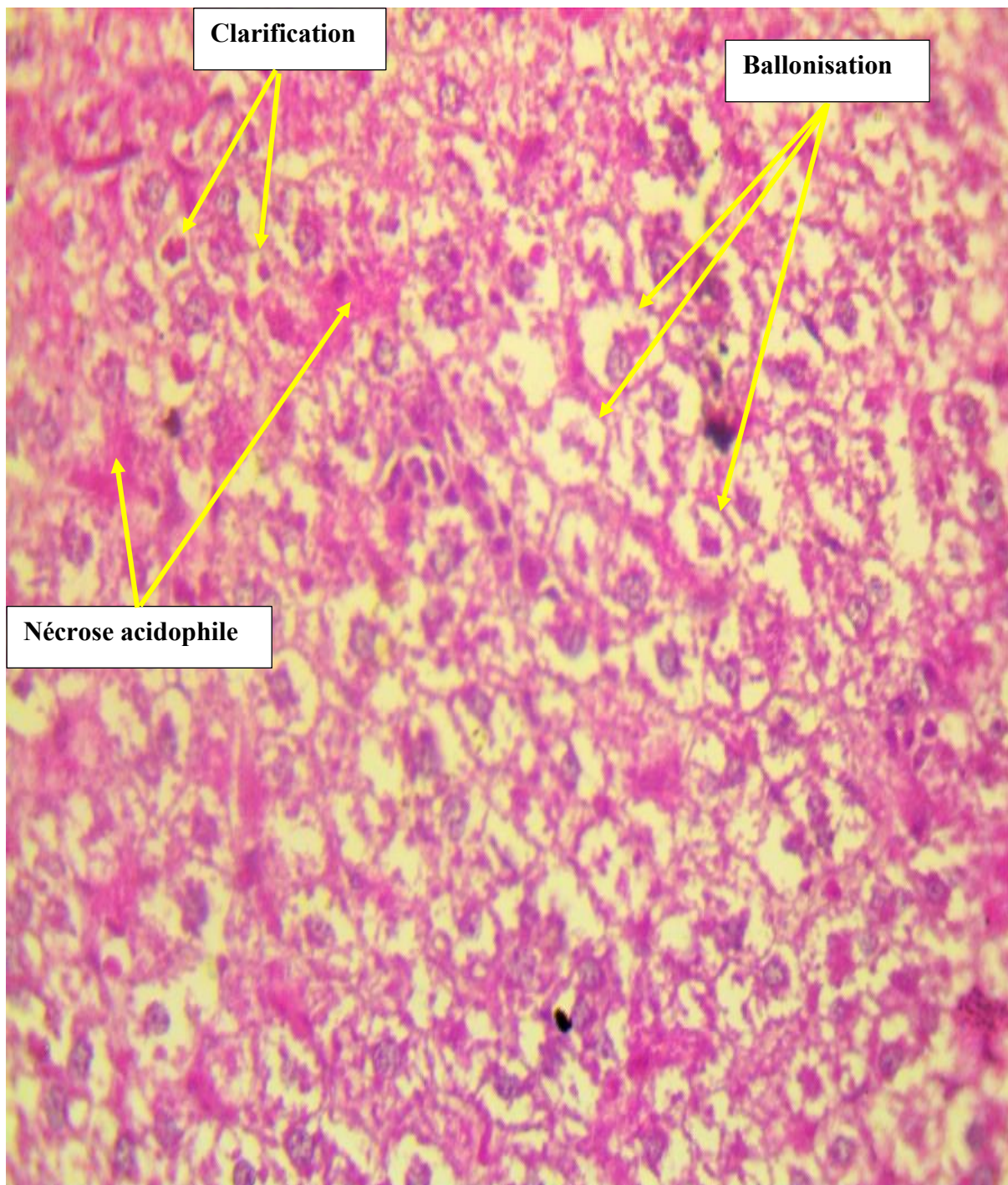


**Figure 52** (HE x 400): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide et rifampicine et traité par l'extrait aqueux de feuilles de *A. cordifolia* à 800 mg/kg, montrant des lésions de clarification et de ballonisation





**Figure 53** (HE x 400) : microphotographie du foie intoliqué par l'association isoniazide et rifampicine et traité par l'extrait aqueux de feuilles de *A. cordifolia* à 400 mg/kg, montrant des foyers de nécrose acidophile, de clarification et de ballonisation avec désorganisation trabéculaire

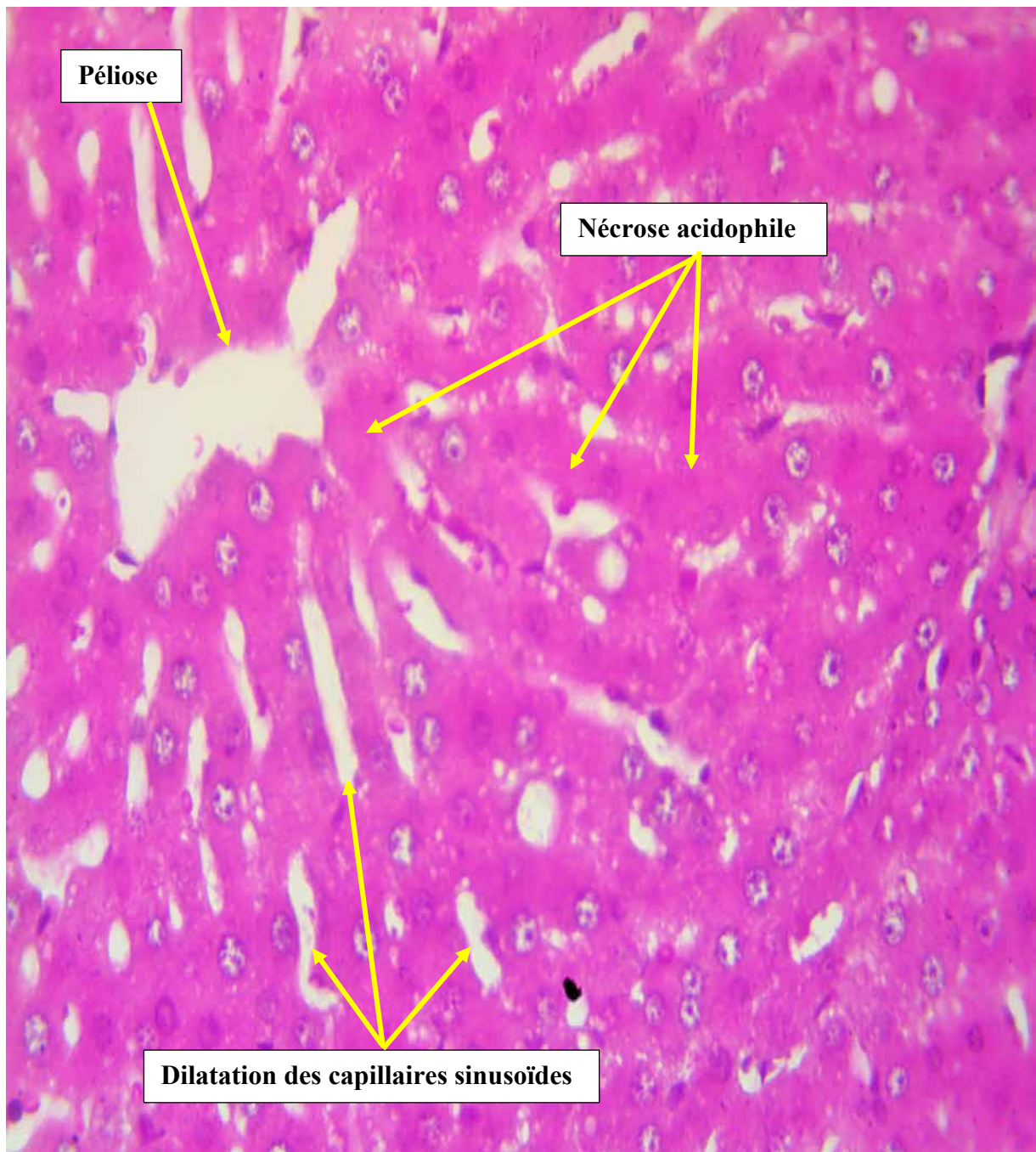


**Figure 54** (HE x 400) : microphotographie du foie intoxiqué par l'association isoniazide et rifampicine et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* à 200 mg/kg, montrant des foyers de nécrose acidophile, de clarification et de ballonisation avec désorganisation trabéculaire

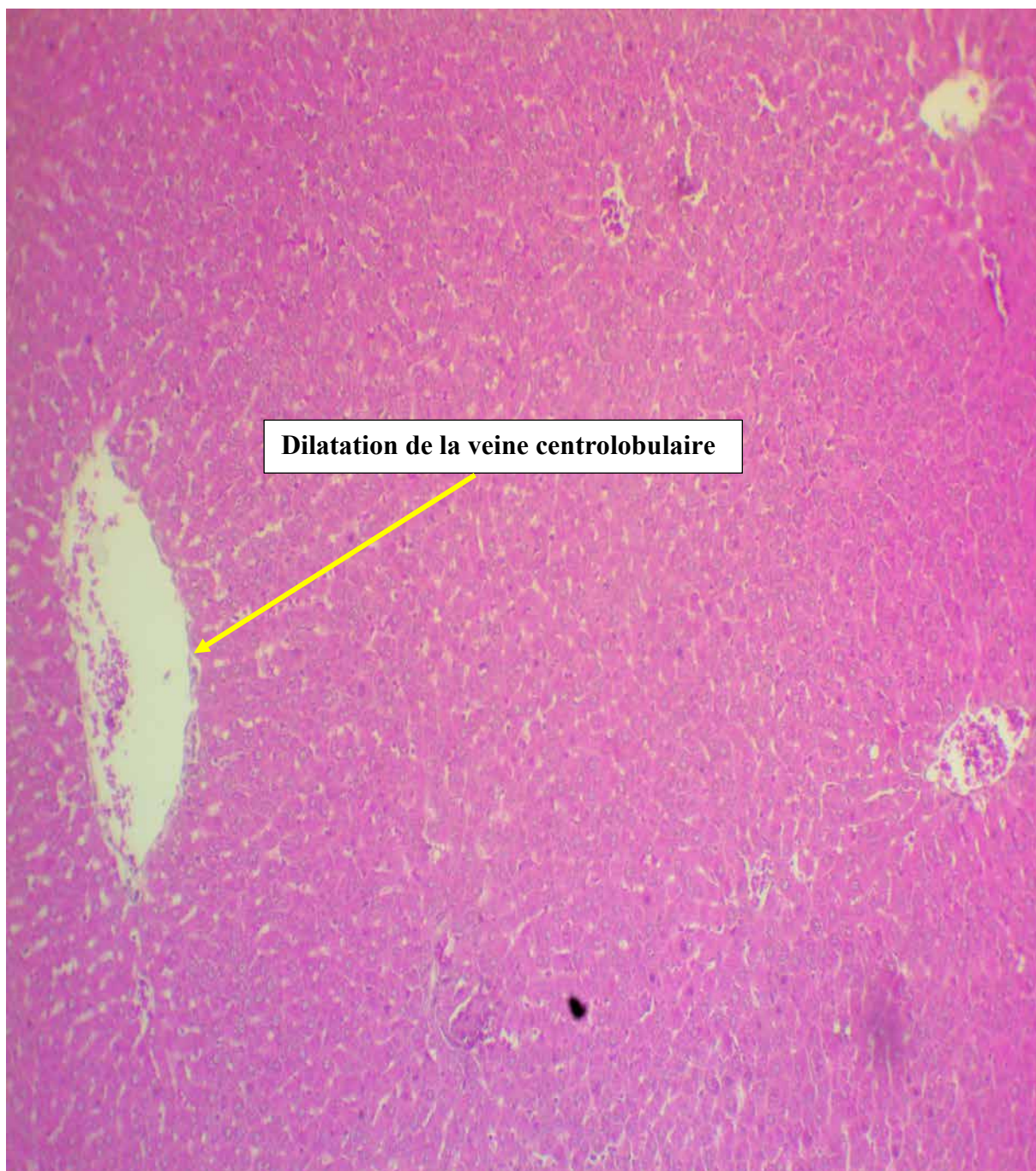
#### **III.4.2.5. Résultats de l'histologie du foie intoxiqué par l'association isoniazide+rifampicine+pyrazinamide et ayant reçu les extraits de *A. cordifolia***

La **figure 55** montre la section du foie du rat intoxiqué par l'INH+RIF+PZA. Elle montre une péliose, des foyers de dilatation des capillaires sinusoides et une nécrose acidophile.

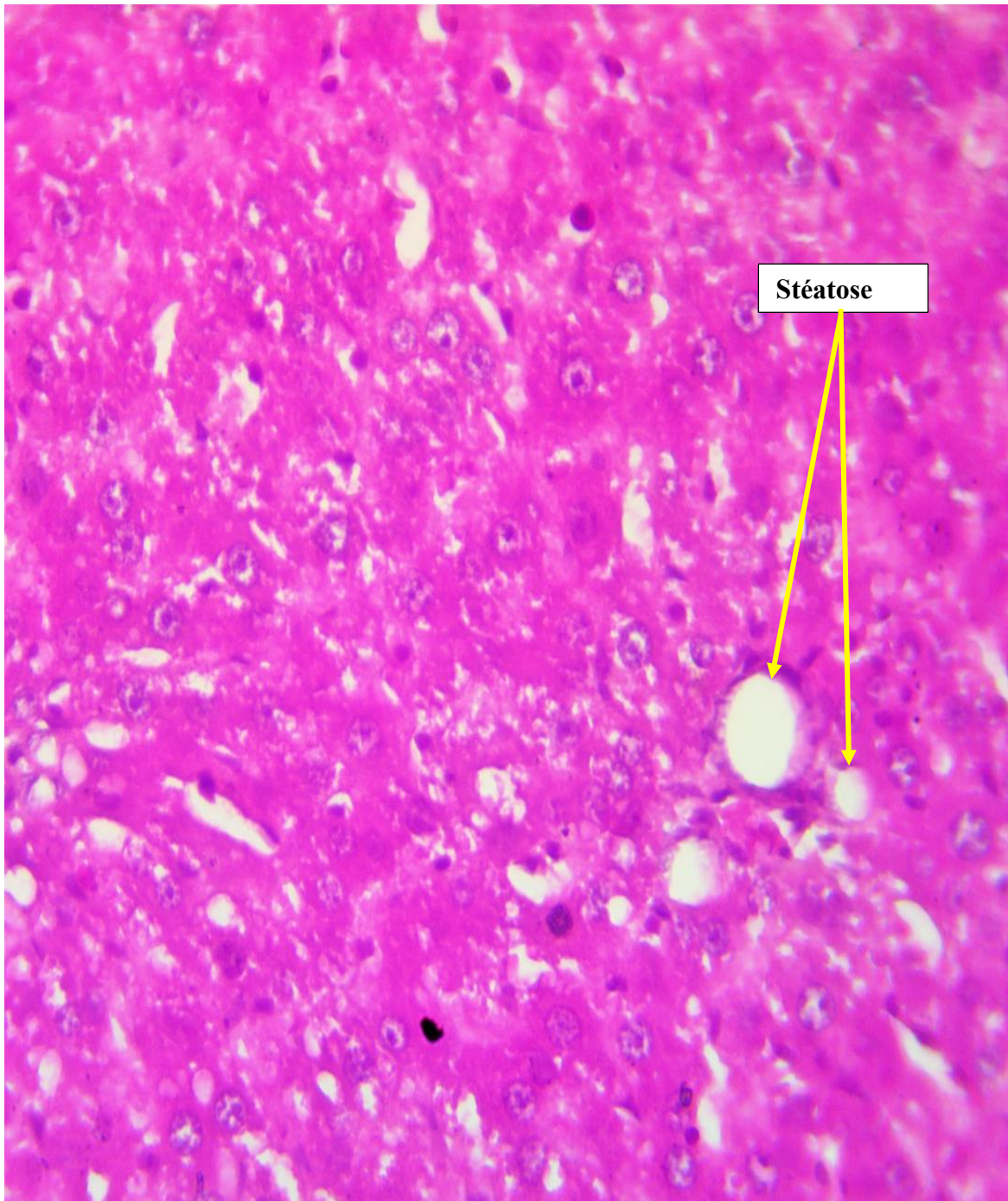
Les sections du foie intoxiqué par l'INH+RIF+PZA et traité par l'EMAC à 800 mg/kg, l'EMAC à 400 mg/kg, l'EAAC à 800 mg/kg ou l'EAAC à 400 mg/kg sont représentées respectivement sur les **figures 56, 57, 58 et 59**. Elles montrent une dilatation de la veine centrolobulaire avec l'EMAC à 800 mg/kg, une stéatose avec l'EMAC à 400 mg/kg, une péliose et une clarification avec l'EAAC à 800 mg/kg, et une stéatose et une péliose avec l'EAAC à 400 mg/kg.



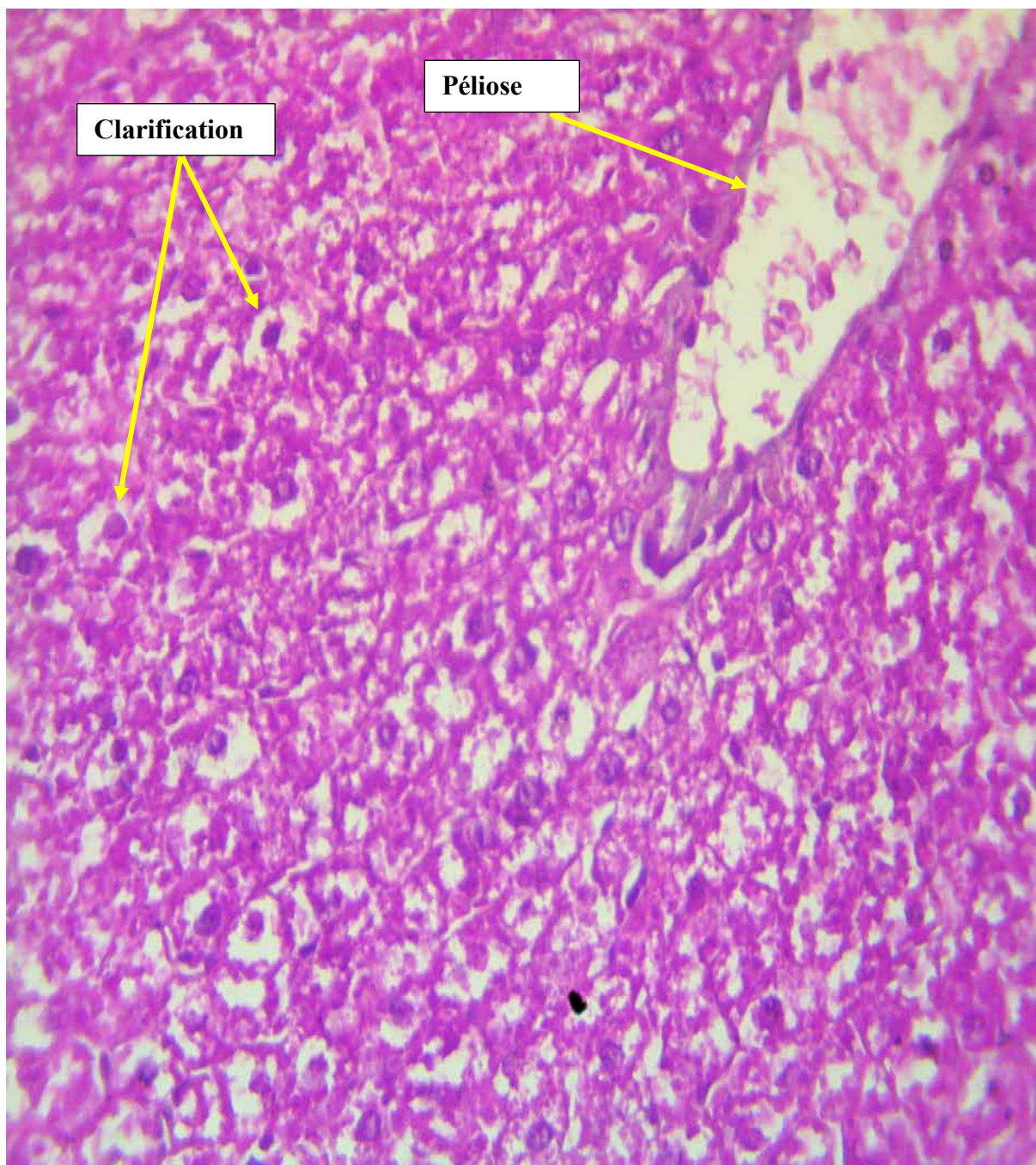
**Figure 55** (HE x 400): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide, montrant une péliose, des foyers de dilatation des capillaires sinusoides et une nécrose acidophile



**Figure 56** (HE x 250): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* à 800 mg/kg, avec une dilatation de la veine centrolobulaire



**Figure 57** (HE x 400): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide et traité par l'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* à 400 mg/kg, montrant une stéatose



**Figure 58** (HE x 400): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide et traité par l'extrait aqueux de feuilles de *A. cordifolia* à 800 mg/kg, montrant une clarification et une péliose



**Figure 59** (HE x 400): microphotographie du foie du rat intoxiqué par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide et traité par l'extrait aqueux de feuilles de *A. cordifolia* à 400 mg/kg, montrant une stéatose et une pélioze



### **III.5. Résultats sur la mortalité des rats**

Des rats sont morts au cours de notre étude. Le **tableau VII** ci-dessous montre les pourcentages de mortalité. Aucune mortalité n'a été observée avec les rats ayant reçu uniquement les antituberculeux. Aucune mortalité n'a non plus été observée avec les rats ayant reçu seulement les extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia*.

**Tableau VII:** Pourcentage de mortalité au cours de l'étude de l'effet hépatoprotecteur des extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia*

Substance	Effectif (n)	Nombre de morts	Pourcentage de mortalité (%)	Jour du constat de la mort
EMAC 200	6	0	0,00	
EMAC 400	6	0	0,00	
EMAC 800	6	0	0,00	
EAAC 200	6	0	0,00	
EAAC 400	6	0	0,00	
EAAC 800	6	0	0,00	
INH	6	0	0,00	
INH+EMAC 200	6	0	0,00	
<b>INH+EMAC 400</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>16,67</b>	<b>J<sub>10</sub></b>
<b>INH+EMAC 800</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>16,67</b>	<b>J<sub>8</sub></b>
<b>INH+EAAC 200</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>16,67</b>	<b>J<sub>3</sub></b>
INH+EAAC 400	6	0	0,00	
INH+EAAC 800	6	0	0,00	
INH+SILYMARINE	6	0	0,00	
INH+RIF	6	0	0,00	
INH+RIF+EMAC 200	6	0	0,00	
INH+RIF+EMAC 400	6	0	0,00	
<b>INH+RIF+EMAC 800</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>16,67</b>	<b>J<sub>10</sub></b>
<b>INH+RIF+EAAC 200</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>16,67</b>	<b>J<sub>7</sub></b>
INH+RIF+EAAC 400	6	0	0,00	
<b>INH+RIF+EAAC 800</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>16,67</b>	<b>J<sub>2</sub></b>
INH+RIF+SILYMARINE	6	0	0,00	
INH+RIF+PZA	6	0	0,00	
<b>INH+RIF+PZA+EMAC 200</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>16,67</b>	<b>J<sub>2</sub></b>
<b>INH+RIF+PZA+EMAC 400</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>16,67</b>	<b>J<sub>8</sub></b>
<b>INH+RIF+PZA+EMAC 800</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>16,67</b>	<b>J<sub>10</sub></b>
INH+RIF+PZA+EAAC 200	6	0	0,00	
INH+RIF+PZA+EAAC 400	6	0	0,00	
INH+RIF+PZA+EAAC 800	6	0	0,00	
INH+RIF+PZA+SILYMARINE	6	0	0,00	

## **IV. Discussion**

Le foie est le principal organe impliqué dans le métabolisme et la détoxification de diverses substances endogènes et exogènes (Akindede et al., 2010; Santhosh et al., 2007). Cependant, les cellules du foie sont sujettes à une attaque et une nécrose par les radicaux libres (Pramod et al., 2008) qui entraînent des lésions cellulaires. Ces lésions résultent d'une réaction de ces radicaux libres avec les acides gras polyinsaturés de la membrane hépatocytaire, à l'origine de troubles de la fluidité, de la perméabilité et de la stabilité. La médecine conventionnelle fournissant à l'heure actuelle très peu de médicaments qui pourraient protéger efficacement le foie contre ces lésions, l'utilisation des plantes médicinales devient une opportunité. Nous nous sommes proposé dès lors, dans cette étude, d'évaluer l'activité hépatoprotectrice d'un extrait aqueux et d'un extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* contre l'hépatotoxicité induite par les médicaments antituberculeux chez le rat.

L'originalité de ce travail réside dans le fait que les précédentes études d'activité hépatoprotectrice de *A. cordifolia*, l'ont été dans un modèle animal en utilisant des agents hépatotoxiques comme le paracétamol à forte dose (2 g/kg) ou le tétrachlorure de carbone (réactif chimique). Cependant, les antituberculeux, notamment l'isoniazide, la rifampicine et le pyrazinamide, sont responsables à dose usuelle de nombreux effets indésirables hépatiques (Blumberg et al., 2003; Yee et al., 2003).

#### **IV.1. Activité antioxydante *in vitro* et tri phytochimique**

En prélude à l'étude de l'activité hépatoprotectrice des extraits de feuilles de *A. cordifolia*, l'activité antioxydante de ces extraits a été évaluée *in vitro* par les méthodes de réduction du fer (Yildirim et al., 2001), de piégeage du radical de DPPH (Parejo et al., 2000) et de stabilisation du radical ABTS (Re et al., 1999). Un tri phytochimique suivi d'un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes ont été réalisés pour identifier les groupes chimiques qui pourraient être responsables de l'activité antioxydante.

La méthode de réduction du fer permet, à la présence des réducteurs dans un extrait, de provoquer la réduction de fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ). Les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (Siddhuraju et Becker, 2007). D'autres études ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé pourrait servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Jeong et al., 2004 ; Kumaran et Karunakaran, 2007). Nos résultats ont montré que les extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* ont un pouvoir de réduction du fer dose dépendante.

Une activité similaire a été observée entre les deux extraits pouvant être justifiée par leur composition phytochimique. En effet, la présence de polyphénols dans les deux extraits pourrait justifier leur pouvoir de réduction du fer. Les travaux de **Yildirim et al. (2001)** ont montré un lien entre les composés phénoliques et le pouvoir réducteur.

Le radical DPPH implique un processus de transfert d'atomes d'hydrogène (**Kaviarasan et al., 2007**). L'activité antiradicalaire se traduit par un don d'électrons ou de protons réduisant la forme radicalaire hydrazyle du DPPH en forme non radicalaire hydrazine. Toutes les substances dotées capacité de piégeage de radicaux libres sont qualifiées d'antioxydants (**Dehpour et al., 2009**). Les extraits aqueux et méthanolique de *A. cordifolia* ont piégé le radical DPPH et de ce fait, peuvent avoir une activité antioxydante. Cette activité antioxydante est superposable entre les extraits et à celle de la vitamine C utilisée comme référence. Cette activité pourrait être attribuée également à la présence de polyphénols dans les deux extraits. En effet, selon **Zeng et Wang (2001)**, les polyphénols possèdent une activité antioxydante due à leur potentiel d'oxydoréduction qui leur permet de neutraliser les radicaux libres par don d'électrons ou de protons.

Le radical ABTS<sup>+</sup> est généré par oxydation de l'ABTS<sup>+</sup> avec du persulfate de potassium et est réduit en présence d'agents antioxydants donneurs d'hydrogène (**Re et al., 1999**). Nos résultats ont montré que les extraits aqueux et méthanolique de *A. cordifolia* possèdent un pouvoir de réduction du radical ABTS<sup>+</sup> qui est dose dépendante, avec une activité superposable entre l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux et le trolox. La présence de polyphénols pourrait justifier également cette activité (**Shiney et Ganesh, 2012**).

Il est ressort une potentielle activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia*. Des études ont montré que l'activité antioxydante était principalement due à la présence de polyphénols (**Shiney et Ganesh, 2012**). **Manga et al. (2004)** ont découvert aussi que les flavonoïdes possèdent des activités anti-oxydantes. **Huong et al. (1998)** ont montré également que les saponosides étaient doués de propriétés antioxydantes. En effet, la présence de saponosides et une teneur plus importante de polyphénols dans l'extrait méthanolique pourrait justifier la supériorité d'activité de cet extrait par rapport à l'extrait aqueux, quoique la différence ne soit pas statistiquement significative.

Cette activité antioxydante est globalement superposable à celle du trolox et de la vitamine C. **Osadebe et al. (2012)** ont également montré au cours de leur étude une activité antioxydante

superposable de l'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* à celle de la vitamine C. D'autres études sur un extrait éthanolique de feuilles de *A. cordifolia* ont montré une meilleure activité antioxydante que la vitamine E (**Olalelye et al., 2006**).

L'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* pourrait contribuer à leur conférer un effet protecteur du foie qui est sujet d'attaque et de nécrose par les radicaux libres (**Pramod et al., 2008**).

#### **IV.2. Activité hépatoprotectrice**

L'activité hépatoprotectrice des extraits aqueux et méthanolique de *A. cordifolia* a été mise en évidence en utilisant des antituberculeux à forte dose, sur 10 jours. La combinaison de médicaments antituberculeux, utilisée dans la présente étude pour induire une hépatotoxicité chez les animaux de laboratoire, est un modèle bien établi (**Saraswathy et al., 1998**). Ils produisent divers degrés de dommages au foie, y compris une nécrose centrolobulaire, une prolifération des cellules du foie (**Graham et al., 2004**) et une suppression du système antioxydant.

Les lésions oxydatives médiées par un médicament antituberculeux sont généralement attribuées à la formation d'espèces hautement réactives de l'oxygène qui agissent comme des stimulateurs de la peroxydation des lipides et une source de destruction et d'endommagement des membranes cellulaires (**Georgieva et al., 2004; Santhosh et al., 2007**). Des altérations de divers mécanismes de défense cellulaire constitués de composants enzymatiques et non enzymatiques ont été rapportées dans l'hépatotoxicité induite par l'isoniazide ou l'association isoniazide et rifampicine (**Tasduq et al., 2005**).

La réduction de la fonction antioxydante hépatique a également été suggérée comme l'un des autres mécanismes d'hépatotoxicité causés par les médicaments antituberculeux. Des études de cas tant chez l'animal que chez l'homme ont montré que cette hépatotoxicité induite par la combinaison d'antituberculeux se manifeste principalement par une stéatose hépatocellulaire et une nécrose centrolobulaire associée à une cholestase. Il a été suggéré que les métabolites toxiques de l'isoniazide se lient de manière covalente aux macromolécules cellulaires (**Tostmann et al., 2008**).

La fonction hépatique peut être évaluée en estimant les activités de l'ALAT, de l'ASAT, de la PAL, de la LDH et de la bilirubine (**Ahsan et al., 2009**). En cas d'atteinte hépatique avec lésions

hépatocellulaires et nécrose cellulaire parenchymateuse, ces enzymes sont libérées des tissus endommagés et leurs taux augmentent dans le flux sanguin (Nkosi et al., 2005). Il s'agit en effet de d'enzymes hépatiques liées aux fonctions sous-cellulaires des mitochondries (Dwivedi et al., 1993). De plus, la PAL et la BIL D sont deux enzymes dont le taux augmente au cours des obstructions des voies biliaires (Seetharam et al., 1986; Précis de terminologie médicale, 1987). Le taux de BIL T, quant à lui, augmente lorsque la fonction métabolique du foie est altérée (Précis de terminologie médicale, 1987).

#### **IV.2.1. Effets des extraits seuls sur les paramètres biochimiques d'hépatotoxicité**

Les extraits méthanolique et aqueux, administrés seuls à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg sur 10 jours n'ont pas entraîné de perturbations des paramètres biochimiques d'hépatotoxicité. Seul l'extrait méthanolique a entraîné une augmentation, mais non significative ( $p > 0,05$ ) des transaminases. Les autres paramètres (PAL, LDH, BIL D et BIL T) n'ont pas été perturbés.

Une augmentation significative de l'activité enzymatique des transaminases a cependant été retrouvée chez des rats mâles par d'autres auteurs en administrant aussi un extrait méthanolique de feuilles *A. cordifolia* à 800 mg/kg et à 1600 mg/kg sur 8 jours (Ajibade et Olayemi, 2015). *A. cordifolia* est cependant considérée comme une plante à marge de sécurité élevée en administration unique (OCDE, 1998). Par ailleurs, au cours de l'extraction, nous avons utilisé du méthanol à 70% contrairement à Ajibade et Olayemi (2015) qui ont utilisé le méthanol pur. L'abaissement du titre du méthanol pourrait expliquer l'absence de toxicité de notre extrait, puisqu'aussi l'extrait aqueux de feuilles de *A. cordifolia* ne s'est pas montré toxique. De plus, le lieu de la récolte pourrait étayer cette absence de toxicité de notre extrait à 800 mg/kg. Nous avons en effet récolté la plante de notre étude à l'état sauvage en Côte d'Ivoire alors que Ajibade et Olayemi (2015) ont fait leur récolte dans un jardin botanique au Nigeria.

#### IV.2.2. Hépatotoxicité induite par l'isoniazide

L'isoniazide seul a entraîné une augmentation des transaminases (ALAT et ASAT), de la BIL D et de la BIL T, qui pourrait traduire une hépatite cytolytique (**Bénichou, 1990 ; Pessayre et al., 1999 ; Navarro et Senior, 2006**). Les valeurs de la PAL et de la LDH n'ont pas été perturbées par l'isoniazide.

L'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, ainsi que l'extrait aqueux à 400 mg/kg et à 800 mg/kg ont réduit les valeurs perturbées des transaminases (ALAT et ASAT), de la BIL D et de la BIL T. Cette capacité des extraits à baisser ces valeurs pourrait suggérer un effet hépatoprotecteur des feuilles de *A. cordifolia*. Cet effet se manifesterait par une stabilisation de la membrane hépatique et une régénération des hépatocytes. L'extrait empêcherait en outre un relargage des enzymes hépatiques au niveau du torrent sanguin par une réduction des lésions tissulaires (**Madhu et al., 2012 ; Singh et al., 2012**). La bilirubine est l'un des marqueurs le plus prédictif de la gravité de la nécrose et son accumulation témoigne des fonctions de conjugaison, ainsi que de la capacité excrétoire des hépatocytes. La diminution de la bilirubine sérique indiquerait l'efficacité des extraits dans la restauration du fonctionnement normal du foie. Par conséquent, la réduction du taux d'ALAT et de bilirubine supposerait une amélioration dans le mécanisme de sécrétion des cellules hépatiques. En effet, l'efficacité de toute substance hépatoprotectrice dépend de sa capacité à réduire l'effet nocif ou à redonner une physiologie hépatique normale, suite à l'intoxication avec un agent hépatotoxique (**Madhu et al., 2012 ; Singh et al., 2012**). Les résultats obtenus avec les rats ayant reçu les extraits de plantes après intoxication, montreraient alors un effet protecteur des extraits contre les dommages induits par l'isoniazide.

L'extrait méthanolique semble avoir eu une meilleure activité que l'extrait aqueux, puisque même à 200 mg/kg, il a un effet. Cela pourrait être justifié par le fait que les solvants plus polaires sont à même d'extraire plus de principes actifs pour une meilleure activité, comme observé avec les rendements d'extraction. Cela pourrait être confirmé par la teneur de flavonoïdes retrouvé dans l'extrait méthanolique ( $0,054 \pm 0,002$  mg EAG) comparativement à l'extrait aqueux ( $0,048 \pm 0,001$  mg EAG) ( $p=0,06$ ). **Manga et al. (2004)** ont découvert que les flavonoïdes possèdent des activités anti-oxydantes qui pourraient contribuer à conférer une meilleure activité hépatoprotectrice de l'extrait méthanolique de *A. cordifolia* contre l'hépatotoxicité de l'isoniazide chez le rat. Cette activité des extraits de plante semble même



meilleure à celle de la silymarine utilisée comme substance dans cette étude (**Parthasarathy et al., 2007**) puisqu'elle a été sans effet sur les valeurs de la BIL D perturbée par l'isoniazide.

#### **IV.2.3. Hépatotoxicité induite par l'association isoniazide et rifampicine**

L'association isoniazide et rifampicine a élevé non seulement les transaminases (ALAT et ASAT), la BIL D et de la BIL T tout comme l'isoniazide seul, mais aussi la PAL, ce qui pourrait refléter ici, une hépatite mixte (**Bénichou, 1990 ; Pessayre et al., 1999 ; Navarro et Senior, 2006**).

L'administration de l'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* à 800 mg/kg a permis une diminution significative des transaminases (ALAT et ASAT) et de la PAL, et une diminution, mais non significative de la teneur en BIL D et en BIL T. Les autres doses de l'extrait méthanolique (200 mg/kg et à 400 mg/kg), ainsi que l'extrait aqueux à 800 mg/kg, n'ont quant à eux, réduit de façon significative uniquement que les valeurs perturbées des transaminases (ALAT et ASAT).

En effet, le degré de perturbation de la BIL D lorsque la rifampicine, est passé de 1,80 à 7,83 fois la valeur des rats non intoxiqués, ce qui signifierait une cytolyse et/ou une cholestase sévère. Les extraits de plante semblent donc peu actifs en cas d'hépatite mixte sévère. L'extrait méthanolique à 800 mg/kg posséderait tout de même une activité plus marquée, par son effet sur l'ALAT, l'ASAT, la PAL et même sur la BIL D et la BIL T, quoique la réduction de la teneur en BIL D et en BIL T ne soit pas significative. Le solvant d'extraction et la bonne teneur en composés phytochimiques, notamment en flavonoïdes (**Manga et al., 2004**), qui en découlent, pourraient justifier cette activité de l'extrait méthanolique à 800 mg/kg.

#### **IV.2.4. Hépatotoxicité induite par l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide**

L'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide a entraîné une augmentation de l'ALAT, de la BIL D et de la BIL T, ce qui traduirait également une hépatite cytolitique (**Bénichou, 1990 ; Pessayre et al., 1999 ; Navarro et Senior, 2006**).

L'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, ainsi que l'extrait aqueux à 800 mg/kg ont réduit les valeurs perturbées de l'ALAT. L'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* à 400 mg/kg et à 800 mg/kg a entraîné par ailleurs une diminution non significative des valeurs de la BIL D et de la BIL T. En effet l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide a également augmenté le degré de perturbation de la

BIL D avec qui est passé à 7 fois la valeur des rats non intoxiqués au lieu de 1,80 fois avec l'isoniazide seul, ainsi que le degré de perturbation de la BIL T qui est passé de 2 à plus de 5 fois la valeur du témoin non intoxiqué. L'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide entraînerait une cytolysse sévère. Les extraits de plante semblent donc moins actifs en cas d'hépatite cytolysse sévère.

En définitive, les extraits de feuilles de *A. cordifolia* sont dotés d'une capacité à réduire l'activité des enzymes (ALAT, ASAT, PAL, BIL D et BIL T) relarguées dans le flux sanguin par la lyse des cellules hépatiques et/ou une obstruction des voies biliaires suite à une intoxication par les antituberculeux. Cette activité a été plus marquée avec l'extrait méthanolique à 200 mg/kg, à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, ainsi que l'extrait aqueux à 400 mg/kg et à 800 mg/kg lorsque l'agent hépatotoxique était l'isoniazide seul. Lorsque la rifampicine a été associée, l'extrait méthanolique à 800 mg/kg a maintenu son activité. Une activité moins marquée a été noté avec les autres doses de l'extrait méthanolique, et l'extrait aqueux à 800 mg/kg. Il en est de même quand le pyrazinamide a été ajouté à la combinaison.

Cette capacité à baisser les valeurs de ces enzymes pourrait conférer aux extraits de feuilles de *A. cordifolia*, une activité hépatoprotectrice. Cette activité se manifesterait par une stabilisation de la membrane hépatique et une régénération des hépatocytes. Les extraits empêcheraient en outre un relargage des enzymes hépatiques au niveau du torrent sanguin par une réduction des lésions tissulaires (**Madhu et al., 2012 ; Singh et al., 2012**).

L'activité hépatoprotectrice d'un extrait éthanolique et d'un extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* a déjà été démontrée chez le rat contre l'hépatotoxicité induite par le paracétamol à forte (**Olaleye et al., 2006 ; Olaleye et al., 2007 ; Arhoghro et al., 2015**) et par le tétra chlorure de carbone (**Osadebe et al., 2012**). Les résultats de nos travaux sur l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* confirment cette propriété de *A. cordifolia*, plante très prisée en médecine traditionnelle africaine.

Cependant, il a été constaté des rats morts avec les extraits chez lesquels l'effet hépatoprotecteur a été manifestement meilleur, tandis que dans les lots des rats ayant reçu uniquement l'agent hépatotoxique ou uniquement l'extrait de feuilles de *A. cordifolia*, il n'y a pas eu de mortalité. Il serait alors important d'explorer la cause de cette mortalité afin de savoir s'il existe un lien avec l'association des antituberculeux et les extraits de feuilles de *A. cordifolia*.

Par ailleurs, l'effet hépatoprotecteurs des extraits de feuilles de *A. cordifolia* ne serait-il pas dû à une interaction pharmacocinétique entre les antituberculeux et les extraits ? Au niveau de l'absorption, les extraits n'auraient-ils pas empêché l'absorption des antituberculeux qui aurait pu entraîner une diminution de la biodisponibilité des antituberculeux et pas conséquent, une réduction de leur effet hépatotoxique? Cette hypothèse pourrait être réfutée puisque les extraits ont été administrés deux (2) heures après les antituberculeux. L'absorption des antituberculeux n'aurait donc pas été entravée par les extraits en dehors de toute induction enzymatique au niveau intestinal.

Pour ce qui est de la distribution, les extraits de feuilles de *A. cordifolia* auraient-ils interagi avec la diffusion des antituberculeux au niveau hépatique, amenuisant ainsi leur effet ? Cette hypothèse reste discutable compte tenu de la demi vie relativement longue des antituberculeux.

Au sujet du métabolisme, sachant que *A. cordifolia* est substrat du cytochrome P450, et que la rifampicine est un inducteur enzymatique, les extraits de feuilles de *A. cordifolia* n'auraient pas pu accélérer le métabolisme des antituberculeux, donc n'auraient pas atténué leur effet hépatotoxique.

Concernant l'excrétion, *A. cordifolia* n'aurait-elle pas par un effet diurétique accélérer l'excrétion des agents hépatotoxiques, diminuant leur effet ? Cette hypothèse reste également discutable vu le temps de séjour long des antituberculeux dans l'organisme.

Cependant, on pourrait retenir l'hypothèse que les extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* seraient hépatoprotecteurs puisque dans d'autres modèles d'hépatotoxicité induite par le paracétamol à forte dose (**Olaleye et al., 2006 ; Olaleye et al., 2007 ; Arhoghro et al., 2015**) ou par le tétrachlorure de carbone (**Osadebe et al., 2012**), *A. cordifolia* s'est montré hépatoprotecteur.

#### **IV.2.5. Effet des extraits sur l'histopathologie des foies des rats**

Les antituberculeux administrés dans cette étude, se sont montrés toxiques pour le foie. L'isoniazide a entraîné des lésions de nécrose acidophile et un infiltrat inflammatoire; l'association isoniazide et rifampicine a provoqué une clarification, une nécrose acidophile, une stéatose et une désorganisation trabéculaire; et l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide a entraîné des lésions de péliose, des foyers de dilatation des capillaires sinusoides et une nécrose acidophile. Divers études de cas chez l'animal ou chez l'homme ont

montré que l'hépatotoxicité induite par la combinaison d'antituberculeux se manifeste principalement par une stéatose hépatocellulaire et une nécrose centrolobulaire associée à une cholestase, par liaison covalente des molécules médicamenteuses aux macromolécules cellulaires (Tostmann et al., 2008). Les perturbations des paramètres biochimiques d'hépatotoxicité (ALAT, ASAT, PAL, BIL D et BIL T) pourraient être justifiées par cette atteinte hépatocellulaire.

L'administration des extraits de *A. cordifolia*, notamment l'extrait méthanolique à 400 mg/kg et à 800 mg/kg et l'extrait aqueux à 800 mg/kg a permis d'atténuer les dommages causés par ces antituberculeux comme le montrent les images de l'étude histopathologique. L'extrait méthanolique, à toutes les doses, a prévenu les lésions de nécrose et l'infiltrat inflammatoire induits par l'isoniazide. Quant à l'extrait aqueux de feuilles de *A. cordifolia* à 200 mg/kg, il n'a pas protégé le foie. Les doses les plus fortes de l'extrait aqueux de feuilles de *A. cordifolia*, c'est-à-dire 400 mg/kg et 800 mg/kg associées à l'isoniazide ont manifestement protégé le foie puisque les coupes histologiques n'ont pas révélé de lésions.

Lorsqu'on observe les images d'histopathologie des foies de rats ayant reçu l'association isoniazide+rifampicine et l'extrait méthanolique à 800 mg/kg, l'on note une disparition des lésions hépato-cellulaires et une régularisation des travées hépatocytaires. Avec l'extrait méthanolique à 400 mg/kg, il persiste encore une stéatose minime. La dose 200 mg/kg de l'extrait méthanolique a été sans effet sur les dommages histologiques causés par l'association isoniazide+rifampicine. Avec l'extrait aqueux à 800 mg/kg, il y a également une regression de la nécrose acidophile, la microphotographie ne montrant qu'une clarification et une ballonnisation. Les autres doses de l'extrait aqueux n'ont pas protégé le foie.

Pour ce qui est de l'association isoniazide+rifampicine+pyrazinamide, il y a eu une péliose, une nécrose acidophile et une dilatation des capillaires sinusoides qui ont été atténuées par les extraits de *A. cordifolia*. En effet, les images de foie de rat ayant reçu l'extrait méthanolique à 800 mg/kg ne montrent qu'une dilatation de la veine centrolobulaire avec résorption de la péliose et de la nécrose acidophile. Il en est de même avec l'extrait méthanolique à 400 mg/kg qui a permis une disparition de la péliose et de la nécrose acidophile avec tout de même une persistance de stéatose. L'extrait aqueux à 800 mg/kg et à 400 mg/kg ne semble pas avoir protégé le foie car les images des foies des rats qui l'ont reçu, montrent encore des foyers de péliose, de clarification et de stéatose.

Par ailleurs, ces extraits administrés seuls, n'ont entraîné ni nécrose, ni clarification, ni ballonnisation, ni stéatose hépatique. Les microphotographies des foies des rats ayant reçu uniquement les extraits sont le reflet de l'absence de perturbation des paramètres biochimiques observée.

Les résultats de nos travaux sont en accord avec les travaux de **Jacob et al. (2014)** qui, au cours d'une étude dans un modèle animal d'hépatotoxicité, ont montré que *A. cordifolia* atténuait les lésions hépatocellulaires induites par le paracétamol à forte dose.

Cependant, **Ajibade et Olayemi (2015)** ont montré que l'extrait méthanolique de *A. cordifolia*, administré seul à 800 mg/kg et à 1600 mg/kg sur 8 jours, provoquait des lésions hépatocellulaires.

*A. cordifolia* est cependant considérée comme une plante à marge de sécurité élevée en administration unique (**OCDE, 1998**). Par ailleurs, au cours de l'extraction, nous avons utilisé du méthanol à 70% contrairement à **Ajibade et Olayemi (2015)** qui ont utilisé le méthanol pur. L'abaissement du titre du méthanol pourrait expliquer l'absence de toxicité de notre extrait. De plus, le lieu de la récolte pourrait étayer cette absence de toxicité de notre extrait à 800mg/kg. Nous avons en effet récolté la plante de notre étude à l'état sauvage en Côte d'Ivoire alors que **Ajibade et Olayemi (2015)** ont fait leur récolte dans un jardin botanique au Nigeria. Il en est de même de la plante d'étude de **Jacob et al. (2014)** qui a été récoltée à l'état sauvage sur des terres agricoles non cultivées.

Par ailleurs, ayant constaté des morts parmi les rats de l'étude, une étude histopathologique de leurs foies aurait pu contribuer à situer la cause de la mort. Cependant, les foies auraient dû être prélevés dans l'heure qui suit la mort avant l'installation des phénomènes d'autolyse. Or la constatation de la mort des rats a été faite le jour suivant, entraînant une non viabilité des organes du rat pour une étude histopathologique.

# **Conclusion et perspectives**

## Conclusion

Notre travail avait pour objectif d'évaluer l'activité hépatoprotectrice d'un extrait aqueux et d'un extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* contre l'hépatotoxicité induite par les médicaments antituberculeux chez le rat.

Sachant que les radicaux libres sont impliqués dans les lésions hépatocytaires, en prélude à l'évaluation de l'activité hépatoprotectrice des extraits de feuilles de *A. cordifolia*, il a été mis en évidence un effet antioxydant de ces extraits, révélé par leur pouvoir de réduction du fer, par le piégeage du radical DPPH et par leur pouvoir de stabilisation du radical ABTS<sup>•+</sup>. Cette activité serait liée à la présence dans les extraits de polyphénols.

Quant à l'évaluation de l'activité hépatoprotectrice, il ressort que les combinaisons d'antituberculeux ont provoqué une augmentation de 1,7 à 2,2 fois l'activité enzymatique des transaminases (ALAT et ASAT), de 1,4 fois celle de la PAL, et de 1,8 à 7,8 fois les concentrations de la BIL D et de la BIL T. Ils ont aussi entraîné des lésions de clarification, de ballonnisation, de nécrose acidophile, de péliose et de stéatose.

Les extraits de feuilles de *A. cordifolia* administrés à la suite des antituberculeux, ont réduit de 20% jusqu'à parfois même 100% les concentrations sériques des enzymes (ALAT, ASAT, PAL, BIL D et BIL T) relarguées dans le flux sanguin par la lyse des cellules hépatiques suite à l'intoxication par les antituberculeux.

De même, l'étude histopathologie des foies des rats ayant reçu les extraits à la suite des combinaisons d'antituberculeux, a montré une aptitude des extraits à annihiler ou à atténuer les dommages hépatocellulaires des antituberculeux.

Cette protection observée contre les dommages hépatocellulaires et les troubles biochimiques, a été plus marquée avec l'extrait méthanolique de *A. cordifolia* à 400 mg/kg et à 800 mg/kg, ainsi qu'avec l'extrait aqueux à 800 mg/kg. Cette supériorité d'activité de l'extrait méthanolique pourrait être justifiée en partie par la teneur en polyphénols totaux plus importante dans l'extrait méthanolique comparativement à l'extrait aqueux. En effet, l'extrait méthanolique s'est montré plus riche en polyphénols totaux ( $0,055 \pm 0,002$  mg EAG) que l'extrait aqueux ( $0,035 \pm 0,001$  mg EAG).

Ainsi, les extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* on réduit de façon significative l'hépatotoxicité induite par les médicaments antituberculeux chez le rat.

## Perspectives

Dans la dynamique de poursuivre les explorations sur l'activité hépatoprotectrice des extraits de feuilles de *A. cordifolia* contre l'hépatotoxicité des médicaments antituberculeux, nous nous attèlerons à :

- Etudier les interférences pharmacocinétiques entre les extraits de feuilles de *A. cordifolia* et les antituberculeux ;
- Réévaluer l'activité hépatoprotectrice de feuilles de *A. cordifolia* avec les antituberculeux dans les conditions réelles d'utilisation ;
- Evaluer l'effet des extraits sur les enzymes antioxydantes hépatiques dans le but d'identifier le mécanisme hépatoprotecteur des extraits de feuilles de *A. cordifolia*.



# Références

**Abbiw DK (1990).** Useful plants of Ghana – *Royal Botanic Garden Kew Ed*; p 126-247.

**Adeneye AA, Oreagba AI, Ishola IO, et Kalejaiye HA (2014).** Evaluation of the anti-arthritis activity of the hydroethanolic leaf extract of *Alchornea cordifolia* in rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*;11(2):402–410.

**Adewunmin CO, Agbedahunsi JM, Adebajo CA, Aladesanmi AJ, Murphy N, Wando J (2001).** Criblage des plantes médicinales nigériennes pour les propriétés trypanocidales. *J Ethnopharmacol* ; 77 (1) : 19-24.

**Adeyemi A, Omonigbehin E, Stella S, Oluwatosin O, et Jumoke S (2008).** Antibacterial activity of extracts of *Alchornea cordifolia* (Schum and Thonn) Mull. Arg., *Boerhavia diffusa* (L) and *Bridellia micrantha* (Hoscht) Baill. used in traditional medicine in Nigeria on *Helicobacter pylori* and four diarrhoeagenic bacterial pathogens. *Afr J Biotechnol*;7 :20.

**Adjanooun EJ, Ake-Assi L (1979).** Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire. *Ed. Centre National floristique, Abidjan*; 40, 118-119.

**Agbor GA, Léopold T, Jeanne NY. (2014).** The antidiarrhoeal activity of *Alchornea cordifolia* leaf extract. *Phytother Res*; 18(11): 873–876.

**Agyare C, Owusu-Ansah A, Ossei PPS, Apenteng JA et Boakye YD (2014).** Wound healing and anti-infective properties of *Myrianthus arboreus* and *Alchornea cordifolia*. *Med Chem*; 4(7): 533–539.

**Ahsan MR, Islam KM, Bulbul IJ, Musaddik MA, Haque E (2009).** Hepatoprotective activity of methanol extract of some medicinal plants against carbon tetrachloride-induced Hepatotoxicity in Albino Rats. *Euro J Sci Res*; 37(2): 302-310

**Ajali U (2000).** Activité antibactérienne d'écorce de tige de *Alchornea cordifolia*. *Fitoterapia* ; 71 (4): 436-8.

**Ajibade TO et Olayemi FO (2015).** Reproductive and toxic effects of methanol extract of *Alchornea cordifolia* leaf in male rats. *Andrologia* ; 47 :1034–1040

**Aké-Assi L (1985).** Contribution à l'identification et au recensement des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle et la pharmacopée en République Centrafricaine – *Collection A.C.C.T Ed. Paris*; p.66.

**Akindele AJ, Ezenwanebe KO, Anunobi CC, Adeyemi OO (2010).** Hepatoprotective and *in vivo* antioxidant effects of *Byrsocarpus coccineus* Schum. And Thonn (Connaraceae). *J Ethnopharmacol*; 129: 46–52.

**Alan L, Miller N (1996).** Antioxidant flavolids: structure, function and clinical usage. *Alt Med Rev* ; 1(2): 103-111.

**Altam C, Blour M, Grange JD (1993).** Toxicité hépatique des antituberculeux: rôle des différents médicaments:199 observations. *Presse Med*; 22 : 1212-1216

**Ames BN, Shigenaga K et Hagen TM (1993).** Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA*; 90, 7915-7922.

**Andreone P, Fiorino S, Cursaro C, Gramenzi A, Margotti M, Giammarion DIL, Biselli M, Miniero R, Gasbarrini G et Bernardi M (2001).** Vitamin E as treatment of chronic hepatitis B : results of randomized controlled pilot trial. *Antiviral Res*; 49: 75-81.

**Annaházi A, Mracskó E, Süle Z, Karg E, Penke B, Bari F et Farkas E (2007).** Pre-treatment and post-treatment with  $\alpha$ -tocopherol attenuates hippocampal neuronal damage in experimental cerebral hypoperfusion. *Eur J Pharmacol*; 571:120–128.

**Anonyme, (1977).** Liver disease and vitamin C. *Br Med J*; 1: 735-736.

**Aouam K, Chaabane A, Loussaief C et al. (2007).** Les effets indésirables des antituberculeux : épidémiologie, mécanismes et conduite à tenir. *Med Mal Inf*; 37: 253-261

**Apak R, Güçlü K, Demirata B, Özyürek M, Çelik SE, Bektaşoğlu B, Berker KI et Özyurt D (2007).** Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules* ; 12 :1496-1547.

**Arbonnier M (2002).** Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. Montpellier : CIRAD, 574 p.

**Arhoghro EM, Ikeh CH, Eboh AS and Angalabiri-Owei B (2015).** Liver function of wistar rats fed by the combined ethanolic leaf extract of *alchornea cordifolia* and *Costus afer* in paracetamol-induced toxicity. *WJPR*; 4 (5): 01-12.

**Assagou KAS (2015).** Tolérance du traitement court de 9 mois de la tuberculose multiresistante en Côte d'Ivoire. *Mémoire CES Med Abidjan*; N°2372: 103p.

**Ayisi NK, Nyadedzor C (2003).** Comparative in vitro effects of AZT and extracts of *Ocimum gratissimum*, *Ficus polita*, *Clausena anisata*, *Alchornea cordifolia*, and *Elaeophorbia drupifera* against HIV-1 and HIV-2 infections. *Antiviral Res*; 58(1): 25–33.

**Babu BH, Shylesh BS, Padikkala J (2004).** Antioxidant and hepatoprotective effect of *Acanthus ilicifolius*. *Fitoterapia*; 72(3): 272-277.

**Baskin SI et Salem H (1994).** Oxidant, Antioxidant and Free Radicals. *Academic Press Inc*; 363: 25-62

**Bauer WJ, Badoud R, Löliger J et Etournaud A (2010).** Science et technologie des aliments: Principes de chimie des constituants et de technologie des procédés. *Edition PPUR Presses polytechniques* ; Genève : p 212.

**Bedossa P (1992).** Aspects morphologiques du foie normal et pathologique. *Path. Biol* ; 47(9): 879-885.

**Bennet H (1950).** *Alchornea cordifolia* leaves and bark from Nigeria. *Colonial Plant Annual Products* ; 1 : 132-134.

**Benhamou J, Erlanger S (2008).** Maladie du foie et des voies biliaires. Lavoisier MSP, 5ème édition. Paris

**Benhamou JP (1998).** *Hépatologie clinique*. Flammarion, Paris: 566-597.

**Bénichou C (1990).** Criteria of drug-induced liver disorders: report of an international consensus meeting. *J Hepatol*; 11: 272-276.

**Benzie IF et Strain JJ (1996).** Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of an antioxidant power: the FRAP assay. *Anal Biochem*; 239: 70-76.

**Bergmeyer HU, Horder M, Rej R (1985).** Approved recommendation of IFCC methods for measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *J Clin Chem Biochem* ; 24 :497-510

**Bergmeyer HU, Horder M, Rej R (1986).** Approved recommendation of IFCC methods for measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. *J Clin Chem Biochem* ; 24 :481-495

**Betti JL, Caspa R, Ambara J, Kourogue RL (2013).** Ethno-botanical study of plants used for treating malaria in a forest: Savanna Margin area, East region, Cameroon. *Glob J Res Med Plants Indig Med*; 2(10): 692.

**Bhakta T, Banerjee S, Mandal SC, Maity TK, Saha BP, Pal M (2001).** Hepatoprotective activity of *Cassia fistula* leaf extract. *Phytomedicine*; 8(3): 220-224.

**Binita RS, Karen S, Richard S, et al. (1995).** Acute isoniazid neurotoxicity in a urban hospital. *Pediatrics* ; 95 :700-704.

**Biour M, Poupon R, Grangé JD, Chazouillères O, lévy VG, Jaillon P, et al. (1998).** Hépatotoxicité des médicaments. 11<sup>ème</sup> mise à jour du fichier bibliographique des atteintes hépatiques et des médicaments responsables. *Gastroenterol Clin Biol*; 22: 1004-1044

**Blumberg HM, Burman WJ, Chaisson RE, Daley CL, Etkind SC, Friedman LN, Fujiwara P et al. (2003).** American Thoracic Society/Center for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America treatment of tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*; 167: 603-662

**Boldyrev AA (1993).** Does carnosine possess direct antioxidant activity? *Int. J. Biochem* ; 25(8) : 1101-1107.

**Borg JM, Reeber A (2008).** Biochimie métabolique. *Ed. Elipses*, France. Pp. 257-269

**Bougandoura N, Nassima B (2013).** Direct evidence that oxygen-derived free radicals contribute to postischemic myocardial dysfunction in the intact dog. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86:4695-4699.

**Boulanouar A, Abdallah E, Elbakkali M, et al. (1995).** Neuropathies optiques toxiques graves induites par l'isoniazide. *J Fr Ophtalmol*; 18: 183-187

**Burton GW et Ingold KU (1984).**  $\beta$ -carotène an unusual type of lipid antioxidant. *Sciences* ; 224: 569-573

**Cano N, Barnoud D, Schneider SM, Vasson MP, Hasselmann M et Leverve X (2006).** Traité de nutrition artificielle de l'adulte. *Edition Springer ; Paris* :255.

**Carg R, Vaidbhav, Mehras S, et al. (2009).** Isoniazid induced gynecomastia: a case report. *Indian J Tuberc*; 56: 51-54

**Carr A, Frei B (1999).** Does vitamin C act as pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J*; 13(9): 1007-1024.

**Castro KS, Jereb JA, koppaka VR, et al. (2003).** Fatal liver injury associated with rifampicin-pyrazinamide treatment of latent tuberculosis infection. *Chest*; 23: 967.

**Causse C (2005).** Les secrets de santé des antioxydants : C'est naturel, c'est ma santé. *Alpen éditions sam*; p 30.

**Center SA (1999).** Chronic liver disease: current concepts of disease mechanisms. *J Small Anim Pract*; 40: 106-114.

**Césarini JP (2004).** Le sélénium: actualités. *John Libbey Eurotext Edition; Paris*: p 14.

**Chen TC, Lu PL, LinWR, et al. (2009).** Rifampicin-associated pseudo-membranous colitis. *Am J Med Sci*; 338: 156-158

**Chia-Fung K, Shun C and Burgess JR (1995).** Deficiency of vitamin E and selenium enhances calcium-independent phospholipase A2 activity in rat lung and liver. *J Nutr*; 125(6): 1419-1429.

**Chow KM, Szeto CC, Leung CB (2004).** Recurrent acute pancreatitis after isoniazid. *Neth J Med*; 62:172-4

**Christophe P, Christophe S (2011).** Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. *Edition Springer Verlag; Paris*: p 84.

**Chyka PA, Butler AY, Holliman BJ, Herman MI (2000).** Utility of acetylcysteine in treating poisonings and adverse drug reactions. *Drug Safety*; 22: 123-148.

- Cormican LJ, Schey S, Milburn HJ (2004).** G-CSF enables completion of tuberculosis therapy associated with iatrogenic neutropenia. *Eur Respir J*; 23: 649-50.
- Cotelle N (2001).** Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr Top Med Chem*; 1: 569-590.
- Coulibaly I (2004).** Prise en charge des effets secondaires des anti-tuberculeux au C.A.T. d'Adjamé. *Thèse Med. Abidjan*; N°3823, 95p.
- Crete P (1965).** Précis de botanique : systématiques des angiospermes. Tome2. 2è éd. Paris: Masson, 1965. 430 p.
- Crispe I N (2003).** Hepatic T cells and liver tolerance. *Nat Rev Immunol*; 76 : 123
- Crook MJ (2003).** Isoniazid- induced anaphylaxis. *J Clin Pharmacol*; 43: 545-546
- Dalton TP, Shertzer HG, Puga A (1999).** Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* ; 39: 67-101.
- Dash DK, Yerigar VC, Nayak SS, Ghosh T, Rajalingam D, Sengupta P et al. (2007).** Evaluation of hepatoprotective and antioxidant activity of *Ichnocarpus frutescens* (Linn.) R. Br. on paracetamolinduced hepatotoxicity in rats. *Trop J Pharm Res*; 6(3): 755-765.
- Dautzenberg B, Frechet-jachym M, Maffre JP et al. (2004).** Quand ne pas appliquer le traitement standard de la tuberculose maladie ? *Rev Mal Respir*; 21 (suppl 3): 3S75-3S97.
- De Novo RC (2006).** Hépatites chroniques du chien. *Prat Med Chir Anim Comp*; 41: 241-246.
- Dehpour AA, Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Navabi SM (2009).** Antioxidant activity of methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas Aceites* ; 60: 405-412
- Delattre J, Beaudoux JL and Bonnefont-Rousselot (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris, 1- 405.
- Doumas BT, Perry BW, Seasse EA, Stramfjordil AT (1973).** Bilirubin determination. *Clinical Chem.* 19: 984-993.

**Dröge W (2002).** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*; 82: 47-95

**Drotman RB, Lawhorn GT (1978).** Serum enzymes are indicators of chemical induced liver damage. *Drug Chem Toxicol*; 1: 163-171.

**Duong TTH, Antao S, Ellis NA, Myers SJ, Witting PK (2008).** Supplementation with a synthetic polyphenol limits oxidative stress and enhances neuronal cell viability in response to hypoxia–re-oxygenation injury. *Brain Research*; 1219 : 8-18.

**Duroux P (1979).** Surveillance et accidents de la chimiothérapie antituberculeuse. *Rev Prat*; 29 : 2881-2889.

**Dutta-Roy AK (1999).** Molecular Mechanism of Cellular Uptake and Intracellular Translocation of  $\alpha$ -Tocopherol: role of Tocopherol-binding Proteins. *Food and Chemical Toxicology*; 37: 967-971.

**Dwivedi Y, Rastogi R. Chander R. Sharma SK, Kapoor NK, Garg NK, Dhawan BN (1993).** Hepatoprotective activity of picroliv against carbon-tetrachloride induced damage in rats. *Ind. J. Med. Res*; 92:1995-2000.

**Ebi (2001).** Chromatographie gazeuse : Activités antimicrobiennes de *Alchornea cordifolia*. *Fitoterapia* ; 72 (1): 69-72.

**Effo KE, Kouakou-Siransy G, Irie-Nguessan G, Sawadogo RW, Dally IL, Kamenan AB, Kouakou LS, Kablan-Brou J (2013).** Acute toxicity and antipyretic activities of a methanolic extract of *Alchornea cordifolia* leaves. *Pharmacol Pharm*; 4: 1-6.

**Emmanuel N (2010).** Ethno medicines used for treatment of prostatic disease in Foumban, Cameroon. *Afr J Pharm Pharmacol*; 4(11): 793–805.

**Enikuomihin OA et Oyedeji EO (2010).** Fungitoxic effect of some plant extracts against tomato fruit rot pathogens. *Arch Phytopathol Plant Prot*; 43(3): 233–240.

**Essien EE, Newby JS, Walker TM, Setzer WN, et Ekundayo O (2015).** Characterization and antimicrobial activity of volatile constituents from fresh fruits of *Alchornea cordifolia* and *Canthium subcordatum*. *Medicines*; 3(1): 1.



- Fain O (2004).** Mise au point : Carences en vitamine C. *Rev Led Int* ; 25 : 872–880.
- Favier A (2003).** Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actual Chim*; 269-270 :108-115
- Fenniche S, Maalej S, Fekih L, Hassene H, Belhabib D, Megdiche ML (2003).** Manifestions d’hypersensibilité à la rifampicine. *Presse Med*; 32: 1167-1169
- Flatland B (2003).** Botanicals, vitamins, and minerals in the liver: therapeutic applications and potential toxicity. *Compendium Vet Learn*; 25: 514-524.
- Frank C L (1992).** Toxicologie. MASSON Paris Milan Barcelone Bonn. Page: 41, 82-85, 198.
- Gabrail NY (1987).** Severe febrile reaction to isoniazid. *Chest*; 91:620-1
- Georgieva N, Gadjeva V, Tolekova A (2004).** New isonicotinoylhydrazones with SSA protect against oxidative-hepatic injury of isoniazid. *Trakia J. Sci*; 2: 37–43.
- Germano MP, D'Angelo V, Sanogo R, Morabito A, Pergolizzi S, De Pasquale R. (2004).** Hepatoprotective activity of *Trichilia roka* on carbon tetrachloride-induced liver damage in rats. *J Pharm Pharmacol*; 53(11): 1569-74.
- Ghaisas MM, Navghare VV, Takawale AR, Zope VS, Deshpande AD (2008).** *In-vitro* antioxidant activity of *Tectona grandis linn*. *Pharmacology Online*; 3: 296-305.
- Gilbert V (2003).** Anatomie du foie et du pancréas : 99-107.
- Godel A, Marchou B (2007).** Rifampicine. Eneyel Med Chir (Elsevier Masson Sas Paris), Traité de médecine Akos, 5-0080 : 1-4
- Gohlam AN, Seddigeh A, Nzal SZ, Hamid S (2003).** Antioxidant effect of flavonoids on the susceptibility of LDL oxidation. *Mol Cell Biochem* ; 246: 193-193.
- Gonzales J, Dautzenberg B (1996).** Incidents et accidents du traitement antituberculeux. *Rev Prat Med Gen*; 10: 11-15
- Goudable J et Favier A (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Métabol* ; 11 : 115-120.

**Gournay J et Richonce C (2002).** Traitement de l'hépatite chronique C : effets secondaires, tolérance et qualité de vie. *Gastroentérol Clin Biol*; 26: 60-75

**Graham GG, Scott KF, Day RO (2004).** Alcohol and paracetamol. *Australian Prescribe* ; 27 : 14–15.

**Greff M (2011).** Post'U FMC-HE. *Springer Verlag Edition*; Paris: p 39.

**Halliwell A, Gutteridge MC (1990).** The antioxidant of human extracellular fluids. *Arch Biochem and Biophys*; 280: 1-8.

**Halliwell B (2008).** Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? *Arch Biochem Biophys*; 476: 107–112.

**Halliwell B, Gutteridge JMC (1986).** Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch Biochem Biophys*; 246: 501-514.

**Hegnauer R (1973).** Chemotaxonomie der Pflanzen, Birkhäuser Verlag, Basel, Stuttgart, 6, 761p.

**Heim EK, Tagliaferro AR et Bobilya DJ (2002).** Flavonoid antioxidantse: chemistry, metabolism ant structure-activity relationship. *J Nutr BiochemI* ; 13: 572-584.

**Herrera E, Barbas C (2001).** Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *J Physiol Biochem*; 57: 43-56.

**Horn DB (1972).** Standardisation of mechanised serum alkaline phosphatase determination. *Clinica Chimica Acta*; 37: 43–46.

**Horo K, Djè Bi H, Koné A, Koffi MO, Brou-Godé VC, Ahui Brou JM et al. (2016).** Dynamique des indicateurs de la prise en charge ambulatoire de la tuberculose au centre antituberculeux d'Adjamé. *Rev Pneumol Clin* ; 72: 129-135

**Huong NTT, Matsumoto K, Kasai R, Yamasaki K, Waranabe H. (1998).** In vitro antioxidant activity of Vietnamese ginseng saponin and its components. *Biol Pharmaceut Bull*; 21: 978-983.

**Idu M, Umweni AA, Odaro T, Ojelede L (2009).** Ethnobotanical Plants Used for Oral Healthcare Among the Esan Tribe of Edo State, Nigeria. *Ethnobot Leaflet*; (4): 15.

- Inoue T, Ikeda N, Kurasaura T, et al. (1999).** Hyperuricemia and arthralgia during Phyrzaminamide treatment. *Nihon Kokyuyuki Zasshi*; 37: 115-8.
- Iserin P (2001).** Larousse des plantes médicinales : Identification, préparation, soins. Ed. Larousse: 10p.
- Ishola IO, Ashorobi RB, Adeoluwa O (2012).** Evaluation of the antinociceptive activities of the aqueous root extract of *Alchornea cordifolia* (Schumach and Thonn) Müll. Arg.(Euphorbiaceae). *Int J Appl Res Nat Prod*;5(3):37–42.
- Jacob JM, Olaleye MT, Olugbuyiro JAO (2014).** Hepatoprotective effect of *Alchornea cordifolia* leaf on liver damage in albino rats. *Int J Appl Sci Biotechnol*; 2 (2): 217-221
- Jalan R, Damink SW, Deutz NE, Lee A, Hayes PC (1999).** Moderate hypothermia for uncontrolled intracranial hypertension in acute liver failure. *Lancet*; 354:1164-8.
- Jendrassik, L, and Gröf, P (1938).** Vereinfachte photometrische Methoden zur Bestimmung des Blutbilirubins. *Biochem Z*; 297: 81
- Jeong SM, Kim SY, Kim DR, Jo SC, Nam KC, Ahn DU, Lee SC (2004).** Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *J Agricul Food Chem*; 52: 3389–3393.
- Jones AL, Dargan PI (2007).** Hepatic toxicology. In: Shannon MW, Boron SW, Burns MJ, editors. Haddad and Winchester's clinical management of poisoning and drug overdose. Philadelphia: Saunders:Elsevier : 223-248.
- Jouvershommes S, Dautzenberg B (1997).** La chimiothérapie antituberculeuse. *Rev Mal Respir*; 14 (suppl 5) : 5S88-104.
- Kad'Abo, Ashidi JS. (1999).** Criblage antimicrobien de *Bridelia de micrantha*, de *Alchornea cordifolia* et de *Boerhavia diffusa*. *Afr J Méd Sci*; 28 (3-4) : 167-9.
- Kalpakcioglu B, Senel K (2008).** The interrelation of glutathione reductase, catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and glucose-6-phosphate in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*; 27: 141 -145.

**Kamenan A, Kouakou-Siransy G, Irié-Nguessan, Dally I, et Kablan Brou J (2013).** Anxiolytic activity of an aqueous extract of *Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae) leaves. *Afr J Pharm Pharmacol*; 7(16): 816–821.

**Kaplowitz N (2002).** Biochemical and cellular mechanisms of toxic liver injury. *Semin Liver Dis*; 22: 137-44.

**Kapnang-Jepang JR (1997).** Etude de l'effet anti-anémique d'*Alchornea cordifolia*. Mémoire de Maîtrise en Biochimie, Université de Yaoundé, Département de Biochimie, Yaoundé, Cameroon.

**Kaviarasan S, Naik GH, Gangabthagirathi R, Anuradha CV, Priyadarsini KI (2007).** *In vitro* studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seeds. *Food Chem* ; 103 : 31–37.

**Kerharo J, Adam JG (1974).** La pharmacopée sénégalaise traditionnelle: plantes médicinales et toxiques. Disponible sur: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?record>; 5 janvier 2016.

**Kerharo J, Bouquet A, (1950).** Plantes médicinales et toxiques de la Côte d'Ivoire – Haute Volta – Ed. Vigot Frères, Paris – p67.

**Kim JH, Park JH (2004).** A case of rifampicin associated pseudo-membranous colitis. *Korean J Gastroenterol*; 43: 376-9

**Knobel B, Buyanowsky G, Dan M, et al. (1997).** Pyrazinamide-induced granulomatous hepatitis. *J Clin Gastroenterol*; 24: 264-6.

**Koehilin-Ramanatxo (2006).** Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutr Clin Métabol*; 20:165-177

**Kouakou-Siransy G, Sahpaz S, N'guessan GI, Datté JY, Brou JK, Gressier B, Bailleul F (2010).** Effects of *Alchornea cordifolia* on elastase and superoxide anion produced by human neutrophils. *Pharm Biol*; 48 (2) : 128-133.

**Kouao-Bilé I. (1991).** Le traitement court (6 mois) de la tuberculose en Côte d'Ivoire à propos des 149 premiers cas du Centre Anti-tuberculeux de Bouaké. *Méd Afr Noire* : 1991, 38 (3): 894-902

- Kumaran A, Karunakaran RJ (2007).** *In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*; 40 : 344-352.
- Lafourcade MP, Martin M, Revoite X, et al. (2009).** Réaction allergique aux antituberculeux majeurs. *Rev Fr Allerg*; 49: 496-9.
- Lamikanra A, Ogundaini AO, Ogunbamila FO (1990).** Antibacterial constituents of *Alchornea cordifolia* leaves. *Phytother Res*; 4(5): 198–200.
- Lange P, Oun H, Fuller S, et al. (1994).** Eosinophilic colitis due to rifampicin. *Lancet*; 344: 1296
- Largerion M, Lockhart B, Pfeiffer B et Fleury MB (1999).** Synthesis and *in vitro* evaluation of new 8-amino-1,4-benzox acine derivatives as neuroprotective antioxidants. *J Med Chem*; 42: 5043-5052.
- Laughton MJ, Halliwell B, Evans PJ, Robin J, Hoult S (1989).** Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. *Biochem Pharmacol*; 38 (17) : 2859-2865.
- Lecerf JM, Luc G et Fruchart JC (1994).** Vitamine E, antioxydants et athérosclérose, *Rev Med Int*; 15 : 641-649.
- Lee CY, Sharma A, Cheong JE et Nelson JL (2009).** Synthesis and antioxidant properties of dendritic polyphenols. *Bioorg Med Chem Let*; 19: 6326–6330.
- Lee WM (2003).** Acute liver failure in the United States. *Semin Liver Dis*; 23: 217-26.
- Leveille-Webster C (1997).** Bile acids. What's new? *Vet Med Surg*, 12: 2-9.
- Lin CC, Huang PC (2002).** Antioxidant and hepatoprotective effects of *Acanthopanax senticosus*. *Phytotherapy Research*; 14, 489–494.
- Lin JK, Weng MS (2006).** Flavonoids and nutraceuticals. In: the science of flavonoids, Grotewold E, Ed. Springer, Berlin, Germany, pp. 213-238.
- Lin CC, Huang PC (2002).** Antioxidant and hepatoprotective effects of *Acanthopanax senticosus*. *Phytotherapy Res*; 14: 489–494.

- Madhu Kiran P, Vijaya Raju A, Ganga Rao B (2012).** Investigation of hepatoprotective activity of *Cyathea gigantea* (Wall. ex. Hook.) leaves against paracetamol-induced hepatotoxicity in rat. *Asian Pac J Trop Biomed*; 2: 352-356.
- Mallat A (1999).** Hépatites médicamenteuses : diagnostic et prise en charge. *Gastroenterol Clin Biol*; 23: 906
- Malloy HT, Evelyn KA (1937).** The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem*; 119:481-490.
- Mambe FT, Voukeng IK, Beng VP, et Kuete V (2016).** Antibacterial activities of methanol extracts from *Alchornea cordifolia* and four other Cameroonian plants against MDR phenotypes. *J Taibah Univ Med Sci*; 11(2): 121–127.
- Manga HM, Brkic D, Marie DEP, Quetin-Leclercq J (2004).** *In vivo* anti-inflammatory activity of *Alchornea cordifolia*. *J Ethnopharmacol*; 92: 209-214.
- Martin P, Friedman LS (1992).** Assessment of liver function and diagnostic studies. In: Handbook of Liver Diseases. Friedman LS and Keefe EB, Ed. Churchill Livingstone, Philadelphia, pp. 1-44.
- Martinez E, Collazos J, Mayo j (1999).** Hypersensitivity reactions to rifampicin. Pathogenic mechanisms, clinical manifestations, management strategies and review of the anaphylactic-like reactions. *Medicine*; 78:361-9
- Mavar-Manga H, Haddad M, Pieters L, Baccelli C, Penge A, Quetin-Leclercq J (2008).** Anti-inflammatory compounds from leaves and root bark of *Alchornea cordifolia* (Schumacher & Thonn.) Müll. Arg. *J Ethnopharmacol*; 115(1): 25–29.
- Mc Lay RN, Drake A, Rayner T (2005).** Persisting dementia after isoniazid overdose. *J Neuropsychiatr Clin Neurosci*; 17: 256-7.
- Mégarbane B, Donetti L, Blanc T, Chéron G, Jacobs F, Groupe d'Experts de la SRLF (2006).** Intoxications graves par médicaments et substances illicites en réanimation. *Réanimation*; 15: 332-42.
- Mellal A (2005).** Application pratique de l'anatomie humaine : Viscères du tronc science biologie. Tome 2 : P185.

- Mellal A (2010).** Application pratique de l'anatomie humaine. *Publibook* : 174-181.
- Milane H (2004).** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres : études et applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat de Pharmacochimie. Université Louis Pasteur de Strasbourg 1, France, 268 p.
- Mohammed RK, Ibrahim S, Atawodi SE, Eze ED, Suleiman JB (2013).** Anti-diabetic and haematological effects of n-butanol fraction of *Alchornea cordifolia* leaf extract in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *Sci J Biol Sci*; 2(3):45–53.
- Morrone N, Morrone Junior N, Braz AG, et al. (2008).** Gynecomastia: a rare adverse effect of isoniazid. *J Bras pneumol*; 34: 978-81
- Mpiana PT, Mudogo V, Tshibangu DST, Ngbolua KN, Shetonde OM, Mangwala KP et Mavakala BK (2007).** *In vitro* antisickling activity of anthocyanins extracts of a Congolese plant: *Alchornea cordifolia* M. Arg. *J Med Sci*; 7(7): 1182–1186.
- Mustofa, Valentin A, Benoit-Vical F, Pelissier Y, Kone-Bamba D, Mallie M (2000).** Activité antiplasmodial des extraits d'usine utilisés dans la médecine africaine traditionnelle occidentale. *J Ethnopharmacol* ; 73 (1-2) : 145-51.
- Nagayama N, Shishido Y, Masuda K et al. (2004).** Leucopenia due to antituberculous chemotherapy including rifampicin and isoniazid. *Kekkaku*; 79: 341-8
- Natarajan V, Scribner WM et Taher MM (1993).** 4-hydroxynonenal, a metabolite of lipid peroxidation, activates phospholipase D in vascular endothelial cells. *Free Radic Biol Med*; 15: 365-375
- Navarro VJ et Senior JR (2006).** Drug-related hepatotoxicity. *N Engl J Med*; 354:731-9.
- Neuwinger HD (2000).** African traditional medicine: a dictionary of plant use and applications. Medpharm Scientific, Stuttgart, Germany. 589 pp.
- Nkosi CZ, Opoku AR, Terblanche SE (2005).** Effect of pumpkin seed (*Cucurbita pepo*) protein isolate on the activity levels of certain plasma enzymes in CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in low protein fed rats. *Phytotherapy Res*; 19: 341-345.
- Nolan CM, Goldberg SV, Buskin SE (1999).** Hepatotoxicity associated with isoniazid preventive therapy. *JAMA* ; 281:1014-8

**OCDE (1998).** Système intégré harmonisé de classification des dangers pour la santé humaine et les effets environnementaux des substances chimiques. Organisation de coopération et de développement économiques, Paris, France.

**Ogunbamila FO, Samuelson G (1989).** Flavonoïdes de détente de muscle lisse de *Alchornea cordifolia*. *Acta Pharm Nord*; 2 (6) :421-2

**Okeke D, Ogundaini AO, Ogunbamila FO, Lamikanra A (1999).** Spectre antimicrobien d'extrait de feuille de *Alchornea cordifolia*. *Rech Phytother* ; 13 (1) : 67-9.

**Okoye FBC, Osadebe PO, Nworu CS, Okoye NN, Omeje EO et Esimone CO (2011).** Topical anti-inflammatory constituents of lipophilic leaf fractions of *Alchornea floribunda* and *Alchornea cordifolia*. *Nat Prod Res*; 25(20):1941–1949.

**Olaleye MT, Adegboye OO and Akindahunsi AA (2006).** *Alchornea cordifolia* extract protects wistar albino rats against acetaminophen-induced liver damage. *Afr J Biotechnol*; 5 (24): 2439-2445

**Olaleye MT, Kolawole AO and Ajele JO (2007).** Antioxidant Properties and Glutathione S Transferases Inhibitory Activity of *Alchornea cordifolia* Leaf Extract in Acetaminophen-Induced Liver Injury. *IJPT*; 6:63-66.

**Osadebe PO, Okoye FB (2003).** Effets anti inflammatoires d'extrait et de fractions méthanoliques brutes de feuille de *Alchornea cordifolia*. *J Ethnopharmacol*; 89 (1) : 19-24.

**Osadebe PO, Okoye FBC, Uzor PF, Nnamani NR, Adiele IE, Obiano NC (2012).** Phytochemical analysis, hepatoprotective and antioxidant activity of *Alchornea cordifolia* methanol leaf extract on carbon tetrachloride-induced hepatic damage in rats. *As Pac J Trop Med*: 289-293

**Oyaizu M (1986).** Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr*; 103: 413-419.

**Packer L, Kraemer K et Rimbach G (2001).** Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition*; 17(10): 888-895.

**Panomvana NA, Ayudhya D, Thanompuangseree N, et al. (2004).** Effect of rifampicin on the pharmacokinetics of fluconazole in patients with AIDS. *Clin Pharmacokinet*; 43: 725-32



**Papazian L, Roch A (2008).** Le syndrome de détresse respiratoire aiguë, *Edition Springer*; paris : p153.

**Parejo I, Codina C, Petrakis C et Kefalas P (2000).** Evaluation of scavenging activity assessed by Co (II)/EDTA- induced luminal chemiluminescence and DPPH free radical assay. *J Pharamcol Toxicol Meth*; 44: 507-512.

**Parma NS, Kumar P et Rajesh KT (2004).** Early signs of oxidative stress in wheat plants subjected to zinc deficiency. *J plant nutr*; 27(3): 451-463.

**Parthasarathy R, Nivethetha M, Brindhya P (2007).** Hepatoprotective activity of *Caesalpinia bonducella* seeds on paracetamol induced hepatotoxicity in male albino rats. *Ind Drugs*; 44(5): 401-404

**Pelletier E, Campbell PGC et Denizeau F (2004).** Écotoxicologie moléculaire : Principes fondamentaux et perspectives de développement. *Edition PUQ* ; p 182.

**Pereira DM, Valentão P, Pereira JA et Andrade BP (2009).** Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules* ; 14 : 2202-2211.

**Perriot J, cambonnet A, Eschalièr A (2011).** Les effets indésirables des antituberculeux et prise en charge. *Rev Mal Respir* ; 28 : 542-555.

**Perron NR, García CR, Pinzón JR, Chaur MN et Brumaghim JL (2011).** Antioxidant and prooxidant effects of polyphenol compounds on copper-mediated DNA damage. *J Inorganic Biochem*; 105: 745–753.

**Pessayre D, Larrey D et Biour M (1999).** Drug-induced liver injury. In: Bircher J, Benhamou JP, McIntyre N, et *al.*, editors. Oxford textbook of clinical hepatology. Oxford: *Oxford University Press*:1261-1315.

**Piquet MA et Hébuterne X (2007).** Nutrition en pathologie digestive. *Edition Wolters Kluwer France* ; p 93.

**Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne JO (1998).** Espèces oxygénées en médecine humaine: une approche didactique. *Vaisseaux, Coeur, Poumon*; 3: 133–8

**Prabakan M, Anandan R, Devaki T (2004).** Protective effect of *Hemidesmus indicus* against rifampicin and isoniazid-induced hepatotoxicity in rats. *Fitoterapia*; 71(1): 55-9

**Pramod K, Deva RG, Lakshmayya, Ramachandra SS (2008).** Antioxidant and hepatoprotective activity of tubers of *Momordica tuberosa* Cogn. against CCl<sub>4</sub> induced liver injury in rats. *Ind J Exp Biol*; 46: 510-513.

**Précis de terminologie médicale**” J Chevalier Editions Maloine, 1987

**Prescott LF (1983).** Paracetamol overdose: pharmacological considerations and clinical management. *Drug*; 25: 290-314.

**Puppot A (1992).** Effect of flavonoids on hydroxyl radical formation by Fenton-type reactions; influence of the iron chelator. *Phytochem*; 31: 85-88.

**Ranson H, N'guessan R, Lines J, Moiroux N, Nkuni Z, Corbel V (2011).** Pyrethroid resistance in African anopheline mosquitoes: what are the implications for malaria control? *Trends Parasitol*; 27(2): 91–98.

**Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Rice-Evans MYC (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS Radical cation decolorization assay. *Free radical Biol Med*; 26: 1231-1237.

**Redman RS, Ball WD, Mezey E, Key S (2010).** Dispersed donor salivary gland cells are widely distributed in the recipient gland when infused up the ductal tree. *Biotech Histochem*; 84, 253–260.

**Reitman S, Frankel S (1957).** A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol*; 28: 56–63.

**Repetto MG, Llesuy SF (2002).** Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. *Braz J Med Biol Res*; 35: 523–534.

**Ribi C, Hauser C (2002).** Adverse reactions to pyrazinamide. *Allergy*; 57: 964.

**Ronchetti F et Russo G (1971).** A new alkaloid from *Rauvolfia vomitoria*. *Phytochemistry*; 10: 1385-1388.

**Rothuizen J (2005).** General principles in the treatment of liver disease. In textbook of Veterinary Internal Medicine, Ettinger SJ et Feldman EC, 6<sup>th</sup> Ed. Elsevier Saunders, St Louis, Missouri: 1435-1442

**Saad EI, El-Gowilly SM, Sherhaa MO, Bistawroos AE (2010).** Role of oxidative stress and nitric oxide in the protective effects of  $\alpha$ -lipoic acid and amino-guanidine against isoniazid–rifampicin-induced hepatotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol*; 48:1869–1875.

**Salvayre R, Auge N and Nègre-Salvayre A (2003).** Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose. *L'athérosclérose: Physiopathologie, Diagnostics, Thérapeutiques.*, Toussaint J.F., Jacob M.P., Lagrost L, Chapman J., Eds. Masson: Paris, 14: 269-290.

**Santhosh S, Sini TK, Anandan R, Mathew PT (2007).** Hepatoprotective activity of chitosan against isoniazid and rifampicin-induced toxicity in experimental rats. *Eur J Pharmacol*; 572: 69–73.

**Saraswathy SD, Suja V, Prema G, Shyamala DC (1998).** Effect of Liv. 100 against antitubercular drugs (isoniazid, rifampicin and pyrazinamide) induced hepatotoxicity in rats. *Ind J Pharmacol*; 30:233–238.

**Seetharam S, Sussman NL, Komoda T, Alpers DH (1986).** The mechanism of elevated alkaline phosphatase activity after bile duct ligation in the rat. *Hepatology*; 6: 374-80.

**Seichen O, Martinez-Almoyna L, De Broucker T (2006).** Neuropathie toxique induite par l'isoniazide : pensez à la prévention. *Rev Mal Respir*; 23:157-60.

**Senoo H (2004).** Structure and function of hepatic stellate cells. *Med Electron Microsc*:16.

**Shakya R, Rao BS, Shrestha B (2004).** Incidence of hepatotoxicity due to antitubercular medicines and assessment of risk factors. *Ann Pharmacother*; 38:1074-1079

**Shiney RB, Ganesh P (2012).** Phytochemical analysis and comparative effect of *Cinnamomum zeylanicus*, *Piper nigrum* and *Pimpinella anisum* with selected antibiotics and its antibacterial activity against Enterobacteriaceae family. *Int J Pharmac and Biol Arch*; 3(4): 914-917.

**Siddhuraju P, Becker K (2007).** The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chem*; 101(1): 10-19.

**Singh K, Singh N, Chandy A, Manigauha A (2012).** *In vivo* antioxidant and hepatoprotective activity of methanolic extracts of *Daucus carota* seeds in experimental animals. *As Pac J Trop Biomed*; 2:385-388

**Singleton VL, Rossi JA (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Technol and Viticult*; 16: 144-153.

**Solangi GA, Zuberi BF, Shankh S, et al. (2004).** Phyrasinamide-induced hyperucemia in patient taking antituberculous therapy. *J Coll Physicians Surg Pak*; 14: 136 -8.

**Stevens A, Lowe J (2006).** Histologie humaine. 3ème édition. Paris: Elsevier. Page: 123.

**Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Glazer AN et Ames BN (1987).** Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*; 235 (4792): 1043-1046.

**Tasduq SA, Peerzada K, Koul S, Bhat R, Johri RK (2005).** Biochemical manifestations of anti-tuberculosis drugs induced hepatotoxicity and the effect of silymarin. *Hepatol. Res*; 31: 132–135.

**Tatsuyuki M, Hiromi W, Shigenobu H (1999).** Isoniazid induced pellagra and the N-acetyltransferase gene genotype. *Am J Psychiatr*; 56: 660.

**Tietz NW, Rinker AD, Shaw LM (1983).** IFCC methods for measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 5. IFCC method for alkaline phosphate. *J Clin Chem Biochem*; 21:731-748

**Tostmann A, Boeree MJ, Aarnoutse RE, Lange WCM, Van Der Ven AJAM, Dekhuijzen R (2008).** Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: Consise up-to-date review. *Gastroenterol Hepatol*; 23: 192-202.

**Tsao R (2010).** Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*; 2: 1231-1246.

**Twedt DC (2001).** Antioxidants and liver disease. In Proceeding, 9<sup>th</sup> Annual American College of Veterinary Internal Medecine Forum. Denver, CO, American College of Veterinary Internal Medecine, pp 13-15.

- Ursini F, Tubaro F, Rong J et Sevanian A (1999).** Optimization of nutrition : Polyphenols and vascular protection. *Nutr Rev*; 57: 241-249
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M and Telser J (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*; 39(1): 44-84.
- Van Acker S, Tromp M, Haenen GRMM, Van Der Vijgh W, Bast A (1995).** Flavonoides as scavengers of nitric oxide radical. *Biochem Biophys Res Co*; 214:755-759
- Van der Heiden C, Bais R, Gerhardt W, Lorentz K, Rosalki S (1994).** Approved recommendation of IFCC methods for measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 8. IFCC method for lactate dehydrogenase. *Eur J Clin Chem Biochem*; 32 :639-655
- Veissier I.** (1999). Expérimentation animale : biologie, éthique, réglementation. *INRA Prod. Anim*; 12 (5) : 365-375
- Wagner H (1983).** Drogen analyse, Dünnschicht chromatographische Analyse von Arzneidrogen. *Springer Verlag Berlin Heidelberg*; New York, 522 pp.
- Wang L, Cheng D, Wang H, Di L, Zhou X, Xu T, Yang X, Liu Y (2009).** The hepatoprotective and antifibrotic effects of *Saururus chinensis* against carbon tetrachloride induced hepatic fibrosis in rats. *J Ethnopharmacol*; 126: 487–491.
- Wang X et Quinn PJ (2006).** The structure and phase behaviour of  $\alpha$ -tocopherol-rich domains in 1-palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidylethanolamine. *Biochimie*; 88: 1883-1888.
- Watson PJ (2004).** Chronic hepatitis in dogs: a review of current understanding of the etiology, progression and treatment. *Vet J*; 167: 228-241.
- World Health Organization (1997):** Le traitement de la tuberculose: principes à l'intention des programmes nationaux, 2<sup>ème</sup> édition
- Wong PC, Yew WW, Wong CF, et al. (1995).** Ethambutol-induced Pulmonary infiltrates With eosinophilia and skin involvement. *Eur Respir J*; 8: 866-8
- Wootton IDP (1974).** Microanalysis in Medical Biochemistry. J.A. Churchill, London, p. 101.

**Wu SJ, Wang JS, Lin CC, Chang CH (2004).** Evaluation of hepatoprotective activity of legumes. *Phytomedicine*; 8: (3): 213-219.

**Yapi AD, Mustofa M, Valentin A, Chavignon O, Teulade JC, MALLIE M, CHAPAT JP et Blache Y (2000).** New potential antimalarial agents: synthesis and biological activities of original diaza-analogs of phenanthrene. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*; 48(12): 1886–1889.

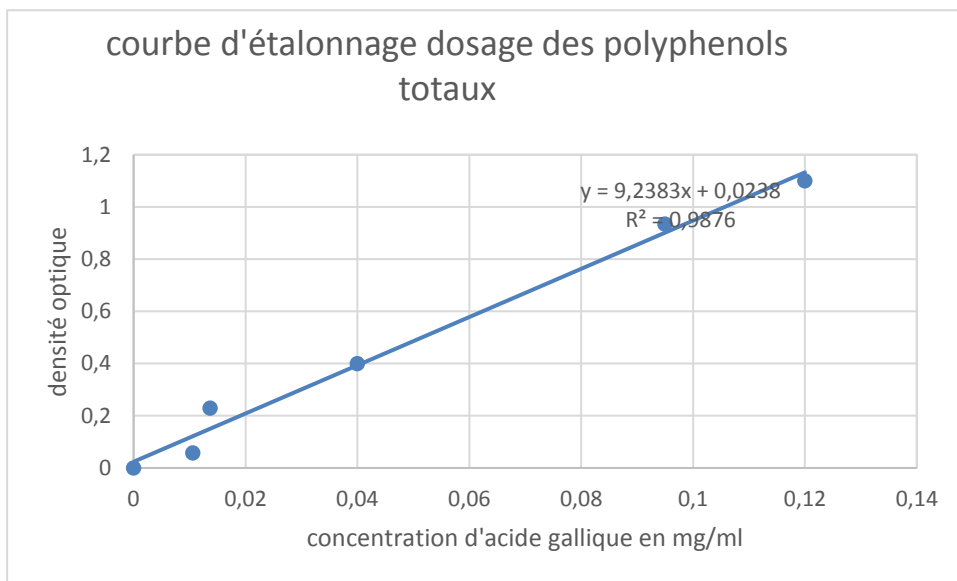
**Yee D, Valiquette C, pelletier M et al. (2003).** Incidence of serious side effects from first line antituberculosis drugs among patients treated for active tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*; 167:1477-1477.

**Yildirim A, Mavi A et Kara AA (2001).** Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J Agric Food Chem*; 49: 4080-4089.

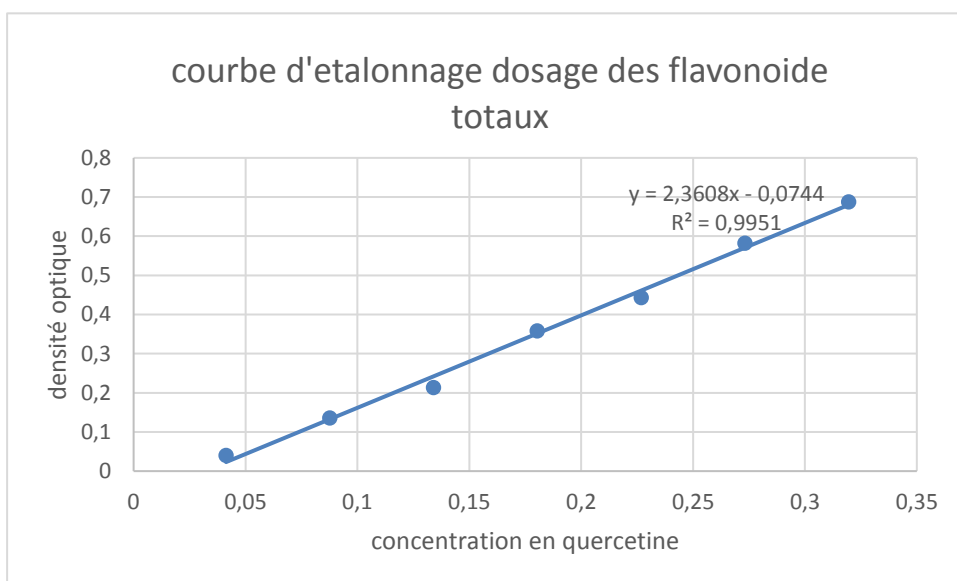
**Zeng W et Wang SY (2001).** Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J Agric Food Chem*; 49:5165-5170.

**Zhishen J, Mengcheng T et Jianming W (1999).** The determination of flavonoid contents in Mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*; 64: 555-559.

# **Annexes**

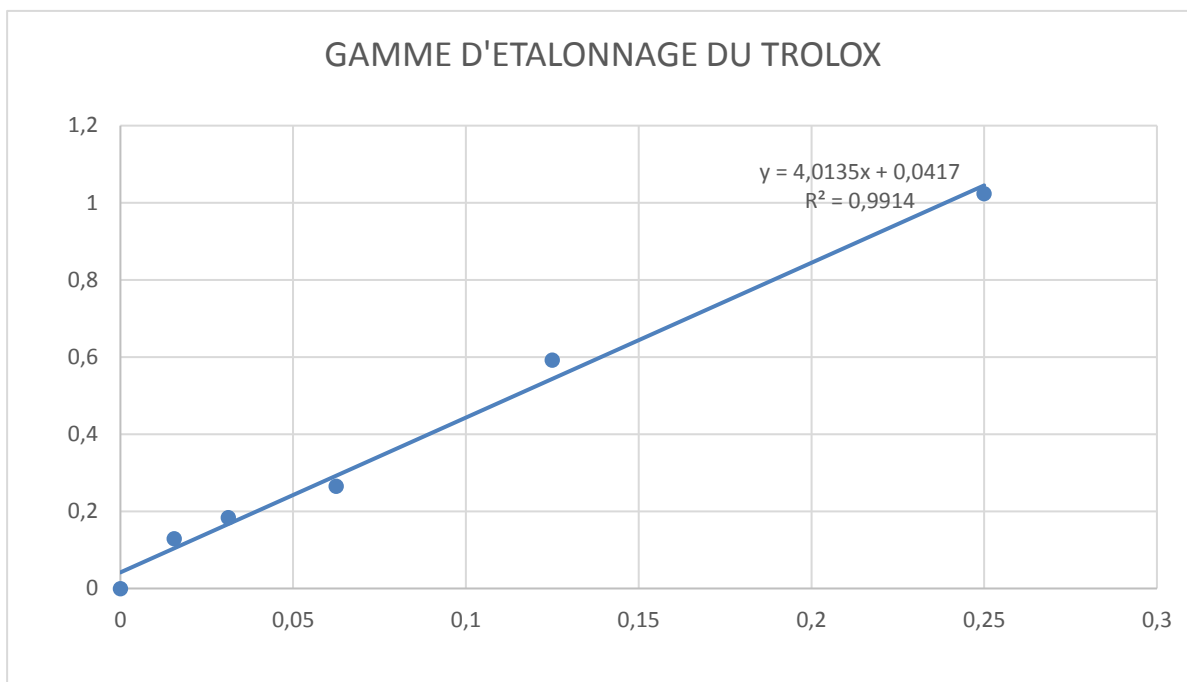


**Figure 1 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

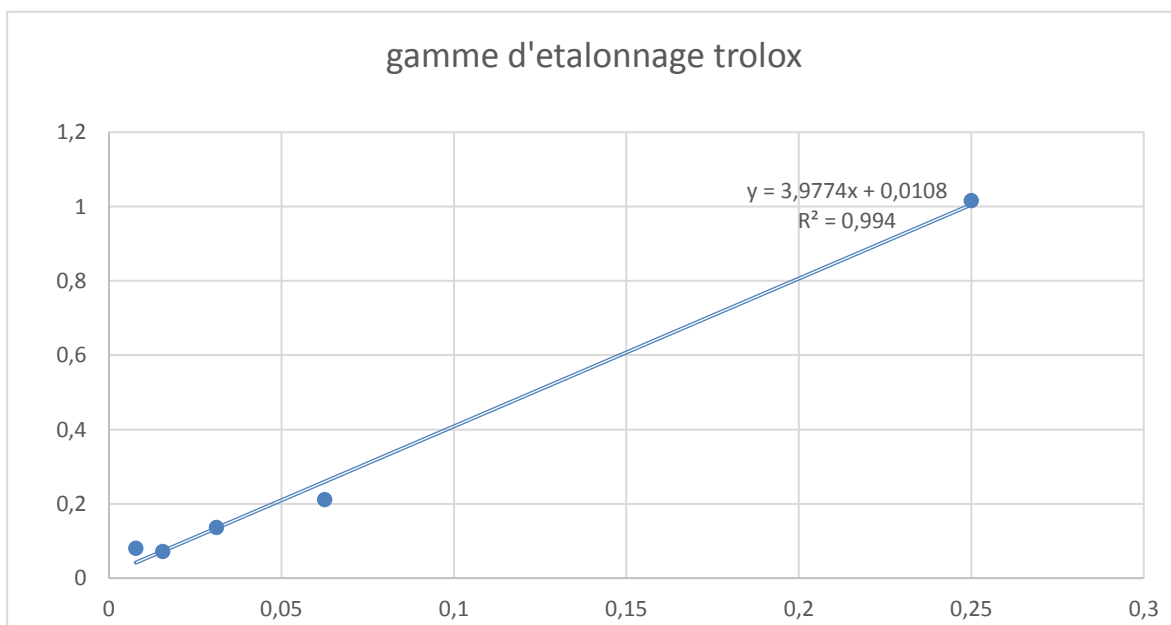


**Figure 2 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux





**Figure 3 :** gamme d'étalonnage du trolox pour la mesure antiradicalaire ABTS



**Figure 4 :** gamme d'étalonnage du trolox pour la mesure du pouvoir réducteur du fer

## **COLORATION A L'HEMATEINE-EOSINE-SAFRAN (HES)**

**Déparaffinage :** pour éliminer la paraffine de la coupe

Déposer la lame dans le Xylène pur, pendant 2 x 15 minutes, en agitant

**Hydratation dans :**

Dans l'alcool à 100%, pendant 2 x 5 minutes

Dans l'alcool à 90%, puis dans l'alcool à 70% en fin dans l'alcool à 50%

Rincer à l'eau courante, en agitant (lame lisse à la fin)

**Coloration dans :**

**Hématoxyline de Harris** (doit être filtrée avant l'utilisation), 5min, (coloration bleue du noyau)

Rinçage à l'eau courante, en agitant (bien rincer)

Passage dans le **carbonate de Lithium** à saturation (bleuir les noyaux)

Rinçage à l'eau courante, en agitant

**Passage dans l'éosine 1%**, pendant 30 secondes

Rinçage à l'eau courante, en agitant

**Passage au Safran (décoction alcoolique)** en 1minute

Passage dans l'alcool à **100%**, pendant 3 x 5 minutes, en agitant :

(ne pas utiliser d'alcool 90%, car l'eau va éliminer l'éosine, et le safran)

On met les lames dans le 1<sup>er</sup> bain d'alcool à 100% en agitant, et rapidement,

On passe directement dans le 2<sup>ème</sup> bain, on la laisse dans ce bain (pendant 5 minutes en agitant)

Passage dans le **xylène pur**, pendant 2 x 5 minutes, en agitant

**Décoction alcoolique de safran :**

Mettre du safran à macérer dans l'alcool absolu, le tout à l'étuve à 56°C.

Laisser la solution « murir » dans l'étuve pendant 1 à 8 minutes.

Retirer et monter à l'Eukitt

**Résultats : Noyaux : bleus à bleu-noir**

**- Cytoplasmes : roses**

**Echelle ANRS de Cotation de la Gravité des Evénements Indésirables chez l'adulte**

**Version n° 6 du 9 septembre 2003**

Cette échelle de cotation constitue un guide de travail destiné à :

- Ne pas omettre un événement indésirable grave à déclarer au promoteur (classé 4 dans l'échelle de cotation)
- Graduer la gravité d'un symptôme clinique ou biologique observé dans le cadre d'un protocole de recherche biomédicale
- Harmoniser les pratiques d'évaluation de la symptomatologie et leur cotation dans les protocoles de l'ANRS

En pratique, les critères évalués sont regroupés par appareil; il s'agit d'une table symptomatique non exhaustive (et non d'une classification de pathologies). Notre choix s'est porté sur les signes cliniques et biologiques les plus fréquemment observés ou dont la surveillance est impérative pour assurer la protection des personnes se prêtant à la recherche.

***Certains protocoles peuvent nécessiter des critères supplémentaires : pour les évaluer, on peut se référer au tableau ci-dessous :***

<b>BIOCHIMIE</b>					
<b><i>Biochimie Hépatique</i></b>					
		<b>Degré 1 Léger</b>	<b>Dégré 2 Moderé</b>	<b>Degré 3 Sevère</b>	<b>Degré 4 Menace vitale</b>
7	AST (SGOT) (UI/l)	1,25 – 2,50 x N	> 2,50 – 5,00 x N	> 5,00 – 10,00 x N	> 10,00 x N
8	ALT (SGPT) (UI/l)	1,25 – 2,50 x N	> 2,50 – 5,00 x N	> 5,00 – 10,00 x N	> 10,00 x N
9	GAMMA GT (UI/l)	1,25 – 2,50 x N	> 2,50 – 5,00 x N	> 5,00 – 10,00 x N	> 10,00 x N
10	Phosphatases alcalines (UI/l)	1,25 – 2,50 x N	> 2,50 – 5,00 x N	> 5,00 – 10,00 x N	> 10,00 x N
11	Hyperbilirubinémie (µmol/l)	1,25 – 2,50 x N	> 2,50 – 5,00 x N	> 5,00 – 10,00 x N	> 10,00 x N

<b>DEGRE 1</b>	<i>Anomalie légère</i>	gêne légère ou transitoire, sans limitation de l'activité quotidienne habituelle ; ne nécessite pas d'intervention médicale ou un traitement correcteur.
<b>DEGRE 2</b>	<i>Anomalie modérée</i>	limitation partielle de l'activité quotidienne habituelle ; une intervention médicale ou un traitement correcteur ne sont pas obligatoirement nécessaires.
<b>DEGRE 3</b>	<i>Anomalie sévère</i>	limitation de l'activité quotidienne habituelle ; nécessite une intervention médicale et un traitement correcteur, hospitalisation possible.
<b>DEGRE 4</b>	<i>Menace vitale</i>	activité très limitée ; nécessitant une intervention médicale et un traitement correcteur, presque toujours en milieu hospitalier.

**Publications issues de  
la thèse**

Cette thèse a fait l'objet d'une communication orale et de deux articles publiés ci-après :

### **COMMUNICATION ORALE**

1. **Effo K. E.**, Kouakou S. L., Kouakou-Siransy N. G., Irie-N'Guessan G. Activité hépatoprotectrice de *Alchornea Cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) contre l'hépatotoxicité induite par les antituberculeux chez le rat. XIème édition du Colloque de Biologie, Santé Publique et Sciences Pharmaceutiques, Abidjan – Côte d'Ivoire, 14 et 15 décembre 2016.

### **ARTICLES SCIENTIFIQUES PUBLIES**

- 1) **Effo Kouakou Etienne**, Kouakou Sylvain Landry, Irie-N'Guessan Amenan Geneviève, Akoubet Aminata and Kouakou-Siransy N'Doua Gisèle (2017). Hepatoprotective effects of methanol extract of *Alchornea cordifolia* leaves against anti-tubercular drugs induced hepatotoxicity in rats. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* ; 11(39), 501-508.
- 2) **Effo KE**, Kouakou SL, Irie-N'Guessan G and Kouakou-Siransy NG (2017). Antioxidant Activity and Hepatoprotective Effect of an Aqueous Extract of *Alchornea cordifolia* Leaves. *Pharmacology & Pharmacy*, 8, 369-380.

## **COMMUNICATION ORALE**

**Effo K. E.**, Kouakou S. L., Kouakou-Siransy N. G., Irie-N'Guessan G. Activité hépatoprotectrice de *Alchornea Cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) contre l'hépatotoxicité induite par les antituberculeux chez le rat. XIème édition du Colloque de Biologie, Santé Publique et Sciences Pharmaceutiques, Abidjan – Côte d'Ivoire, 14 et 15 décembre 2016, p 44.



# XI<sup>ème</sup> COLLOQUE

## DE BIOLOGIE, SANTÉ PUBLIQUE ET SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Abidjan, 14 et 15 Décembre 2016

UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Université FHB



**THÈME**

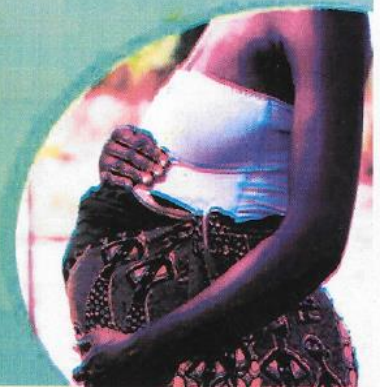


# Biologie et Santé des Populations

## LIVRE DES RÉSUMÉS

Renseignements : (+225) 22 00 70 93

E-mail: [colloque@ufrspb.ci](mailto:colloque@ufrspb.ci)





C27

**ACTIVITE HEPATOPROTECTRICE DE *A. CORDIFOLIA* CONTRE  
L'HEPATOTOXICITE INDUITE PAR LES ANTITUBERCULEUX CHEZ LE RAT**

EFFO K. E<sup>1</sup>., KOUAKOU S. L<sup>1</sup>., KOUAKOU-SIRANSY N. G<sup>1</sup>., IRIE-N'GUESSAN G<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> : Département de Pharmacologie UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

*Alchornea cordifolia* est une plante qui a démontré ses propriétés hépatoprotectrices contre l'hépatotoxicité induite par le paracétamol et le tétra chlorure de carbone. Cependant, son activité hépatoprotectrice contre les effets hépatotoxiques des antituberculeux n'a pas encore été étudiée. L'objectif de ce travail fut donc d'évaluer l'activité hépatoprotectrice d'un extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* sur les effets hépatotoxiques des médicaments antituberculeux *in vivo* chez le rat.

Pour ce fait, l'isoniazide (INH), la rifampicine (RFP) et le pyrazinamide (PZA) ont été utilisés dans différentes combinaisons pour induire l'hépatotoxicité chez des rats. Les animaux ont reçu 2 heures après administration de l'agent hépatotoxique, soit un extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* (EMAC), soit la sylimarine. L'essai a été conduit parallèlement à un lot ne recevant que le ou les antituberculeux, et un lot ne recevant que du sérum physiologique. Les animaux ont été ainsi traités pendant 10 jours consécutifs. Un prélèvement sanguin a été fait le 11<sup>ème</sup> jour pour l'évaluation des paramètres biochimiques.

L'INH a entraîné une élévation des transaminases (ALAT et ASAT) ( $p = 0,02$ ) et de la bilirubine totale ( $p = 0,046$ ). L'EMAC a permis de réduire les paramètres biochimiques anormalement perturbées ( $p < 0,05$ ), tout comme la sylimarine.

L'association INH + RIF a entraîné une élévation des transaminases (ALAT et ASAT) ( $p = 0,02$ ), de la PAL ( $p = 0,04$ ), de la BILD ( $p = 0,02$ ) et de la BILT ( $p = 0,02$ ). L'EMAC a permis de réduire les taux de l'ALAT et l'ASAT anormalement perturbées ( $p < 0,05$ ), alors que la sylimarine ne normalisait que l'ALAT.

L'association INH + RIF + PZA a provoqué une élévation significative de l'ALAT ( $p = 0,02$ ), de la BILD ( $p = 0,02$ ) et de la BILT ( $p = 0,02$ ). La sylimarine a permis de réduire les taux de l'ALAT anormalement perturbées ( $p < 0,05$ ). L'EMAC a permis une baisse des taux de l'ALAT et de l'ASAT ( $p = 0,043$ ).

Les feuilles de *A. cordifolia* pourraient être utilisées comme protecteur contre l'hépatotoxicité des antituberculeux.

**Mots clés** : *Alchornea cordifolia*, hépatoprotectrice, antituberculeux

## **ARTICLE 1**

**Effo Kouakou Etienne**, Kouakou Sylvain Landry, Irie-N'Guessan Amenan Geneviève, Akoubet Aminata and Kouakou-Siransy N'Doua Gisèle (2017). Hepatoprotective effects of methanol extract of *Alchornea cordifolia* leaves against anti-tubercular drugs induced hepatotoxicity in rats. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* ; 11(39), 501-508.

## Full Length Research Paper

# Hepatoprotective effects of methanol extract of *Alchornea cordifolia* leaves against anti-tubercular drugs induced hepatotoxicity in rats

Effo Kouakou Etienne<sup>1\*</sup>, Kouakou Sylvain Landry<sup>1</sup>, Irie-N'Guessan Amenan Geneviève<sup>1</sup>, Akoubet Aminata<sup>2</sup> and Kouakou-Siransy N'Doua Gisèle<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Département de Pharmacologie, Pharmacie clinique et Thérapeutique, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup>Département de Pharmacognosie, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire.

Received 24 August, 2017; Accepted 21 September, 2017

*Alchornea cordifolia* has been shown to be hepatoprotective against hepatotoxicity induced by high dose paracetamol in a model animal. However, its hepatoprotective effects against the hepatotoxicity induced by anti-tubercular drugs have not yet been studied, whereas anti-tubercular drugs are known to be hepatotoxic at therapeutic dose. The aim of this work was to evaluate the hepatoprotective effect of a methanol extract of *A. cordifolia* leaves in order to overcome hepatotoxicity induced by anti-tubercular drugs. Isoniazid, Rifampicin and Pyrazinamid have been used to induce hepatotoxicity in rats. The animals were administered hepatotoxic agent. Two hours later they were given methanol extract of *A. cordifolia* (MEAC) leaves or silymarin. One group of animals received only the anti-tubercular drugs, one group received MEAC only and another group received physiological saline. The animals were thus treated for 10 consecutive days. Blood sample was taken on the 11th day for evaluation of the biochemical parameters, as well as markers of hepatotoxicity. Isoniazid increased transaminases (ALT and AST), MEAC and silymarin reduced these biochemical parameters, Isoniazid + Rifampicin increased ALT and AST levels, MEAC reduced alanine transaminase (ALT) and aspartate transaminase (AST) levels, Isoniazid + Rifampicin + Pyrazinamid combination resulted in significant ALT elevation and MEAC reduced the ALT levels. MEAC alone did not significantly alter ALT and AST values. Phytochemical screening revealed the presence of flavonoids, polyphenols, saponosides and alkaloids. *A. cordifolia* leaves would thus have a protective effect against anti-tubercular drugs induced hepatotoxicity in rats.

**Key words:** Hepatoprotective, *Alchornea cordifolia*, antitubercular drugs.

## INTRODUCTION

The liver is indeed the main organ involved in metabolism and detoxification for the excretion of various

\*Corresponding author. E-mail: [effoet@yahoo.fr](mailto:effoet@yahoo.fr). Tel: (225)07192476 / 01414263.

endogenous and exogenous substances from the body. However, liver cells are prone to attack and necrosis by free radicals (Pramod et al., 2008). The liver therefore needs protection, whereas there are very few medicines which possess a protective effect of this liver. Herbal treatments are becoming increasingly important in the population. Some of these plants have demonstrated some hepatoprotective activity such as *Trichilia roka* (Germano et al., 2004), *Hemidesmus indicus* (Prabakan et al., 2004), *Cassia fistula* leaf extract (Bhakta et al., 2004), legumes (Wu et al., 2004), *Acanthus ilicifolius* (Babu et al., 2004) and *Alchornea cordifolia* (Olaleye et al., 2006; Osadebe et al., 2012). Several works regarding this have dealt with *A. cordifolia* (Effo et al., 2013; Kouakou-Siransy et al., 2010).

The hepatoprotective effect of *A. cordifolia* has been evaluated and reported against hepatotoxicity induced by paracetamol at high doses (Olaleye et al., 2006; Olaleye et al., 2007) in an animal. However, the protective effect of *A. cordifolia* on the hepatotoxicity induced by anti-tubercular drugs has not been reported, whereas anti-tubercular drugs are known to be hepatotoxic at therapeutic dose.

Anti-tubercular drugs (Isoniazid (INH), Rifampicin (RIF), Pyrazinamide (PZA) and Ethambutol (EMB) are the first line anti-tubercular drugs for the treatment of pulmonary tuberculosis. These drugs are responsible for many adverse effects (Blumberg et al., 2003; Yee et al., 2003) such as cytolytic, and result in an increase in serum transaminases level (Nolan et al., 1999; Shakya et al., 2004). Several authors reported that INH taken alone, in normal doses, was responsible for liver biochemical markers disorders. Aouam et al. (2007) reported hepatic disorders in 10 to 20% of users in Tunisia, and Blumberg et al. (2003) reported 0.5 to 2% of patients in the USA. When RIF was associated with INH, this liver disorder affected a greater number of patients (Aouam et al., 2007) and 2.5 to 6% of patients (Blumberg et al., 2003). The work of Aouam et al. (2007) also showed that INH + RIF + PZA was responsible for cytolytic hepatitis in 0.5 to 10% of treated patients.

In continued investigation on this plant, this present work seeks to evaluate the hepatoprotective effect of a methanol extract of *A. cordifolia* leaves *in vivo* in rats in order to overcome hepatotoxicity induced by anti-tubercular drugs.

## MATERIALS AND METHODS

### Plant materials

The plant material consisted of leaves of *A. cordifolia* (Schum. And Thonn.) collected at Yakasse-Mé (In the city of Adzopé about 75 km from Abidjan, Ivory Coast). Voucher samples (AC 2016) are kept in the Pharmacology Laboratory. The leaves were authenticated at the National Floristic Center of Abidjan, affiliated to Université Félix Houphouët Boigny (Abidjan) and air-dried in the laboratory at 18°C.

### Extraction method

The fine powder of dried leaves (100 g) was macerated for 24 h at room temperature in 1 L of 70% methanol. The resulting filtrate was evaporated using a rotary evaporator (Büchi R180). The obtained dry extract (methanolic extract of *A. cordifolia*: MEAC) was conserved at 4°C and aliquots of dry powder were used for pharmacological studies after being suspended in physiological saline.

### Animal material

The animal material consisted of rats, *Rattus Norvegicus*, Wistar strain weighing between 150 and 220 g which were obtained from the laboratory animals of the Pharmacology Laboratory of the Faculty of Pharmacy and Biological Sciences of Université Félix Houphouët Boigny Abidjan (Côte d'Ivoire). All animals were kept under controlled environmental conditions of  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  with a cycle of 12 h of light and 12 h of darkness. The animals had free access to water and food. Before the beginning of the experiment, they were subjected to fasting for 12 h with free access to water.

### Chemical materials used

In this study, we used isotonic saline solution 0.9%, ether (Gifrer), distilled water, anti-tubercular drugs (INH (Lupine LTD), RIF (Remedica LTD), PZA (Cadila Pharmaceuticals Limited)), silymarin (Sigma Aldrich), methanol (VVE chemicals). Silymarin was used as a reference liver protector substance in this study. It is a mixture of three flavonoids (silychristin, silydianine and silybin) used as a hepatoprotective agent extracted from the seeds and fruits of *Silybum marianum* (Parthasarathy et al., 2007).

### Study of the hepatoprotective activity of *A. cordifolia* in rats

#### Principle

The study involved inducing hepatotoxicity in laboratory rats by using anti-tubercular drugs in different combination (Santhosh et al., 2007; Saraswathy et al., 1998), and then evaluating the effect of different preparations on hepatic markers.

#### Procedure

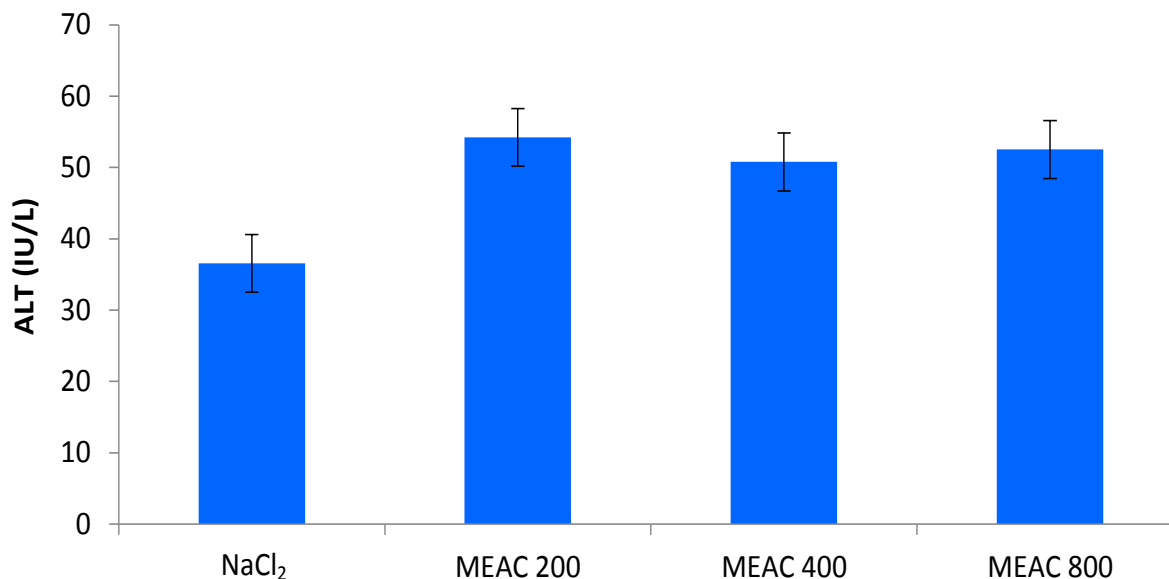
**Effect of MEAC alone on hepatotoxicity markers:** Rats of both sexes were divided into 4 batches of 6 rats each and were treated for 10 days as follows:

- The rats in lot 1 (negative control) received saline solution by gavage;
- The rats in lot 2 received MEAC at 200 mg/kg/day by gavage;
- The rats in lot 3 received MEAC at 400 mg/kg/day by gavage;
- The rats in lot 4 received MEAC at 800 mg/kg/day by gavage.

#### Hepatoprotective effect against INH-induced hepatotoxicity:

Rats of both sexes were divided into 6 batches of 6 rats each and were treated for 10 days as follows:

- The rats in lot 1 (negative control) received saline solution by gavage;
- The rats in lot 2 received INH (100 mg/kg/day) by gavage;
- The rats in lots 3, 4 and 5 received MEAC (200, 400 and 800 mg/kg) orally 2 h after administration of INH (100 mg/kg/day).



**Figure 1.** Effect of MEAC on ALT troubled. MEAC: Methanolic extract of *A. cordifolia*.

- The rats in lot 6 (positive control) received sylimarin (100 mg/kg/day) orally, 2 h after administration of INH (100 mg/kg/day).

**Hepatoprotective effect against INH+RIF-induced hepatotoxicity:** Rats of both sexes were divided into 6 batches of 6 rats each and were treated for 10 days as follows:

- The rats in lot 1 (negative control) received saline solution by gavage;
- The rats in lot 2 received INH (100 mg/kg/day) +RIF (100 mg/kg/day) by gavage;
- The rats in lots 3, 4 and 5 received MEAC (200, 400 and 800 mg/kg) orally 2 h after administration of INH (100 mg/kg/day) +RIF (100 mg/kg/day).
- The rats in lot 6 (positive control) received sylimarin (100 mg/kg/day) orally, 2 h after administration of INH (100 mg/kg/day) +RIF (100 mg/kg/day).

**Hepatoprotective effect against INH+RIF+PZA-induced hepatotoxicity:** Rats of both sexes were divided into 6 batches of 6 rats each and were treated for 10 days as follows:

- The rats in lot 1 (negative control) received saline solution by gavage;
- The rats in lot 2 received INH (100 mg/kg/day) +RIF (100 mg/kg/day) + PZA (100 mg/kg/day) by gavage;
- The rats in lots 3, 4 and 5 received MEAC (200, 400 and 800 mg / kg) orally 2 h after administration of INH (100 mg/kg/day) +RIF (100 mg/kg/day) + PZA (100 mg/kg/day).
- The rats in lot 6 (positive control) received sylimarin (100 mg/kg/day) orally, 2 h after administration of INH (100 mg/kg/day) +RIF (100 mg/kg/day) + PZA (100 mg/kg/day).

#### Liver biochemical indices measured

At the end of 10 days of treatment, a blood sample was taken on the 11th day by cardiac puncture for the determination of markers of hepatotoxicity. They were alanin aminotransferase (ALT) and aspartat aminotransferase (AST) (Reitman et al., 1957).

#### Phytochemical screening

Screening for different chemical groups was done using the method as described in the works of Békro et al. (2007), Ronchetti and Russo (1971) and Wagner et al. (1983).

#### Statistical analysis

The results were expressed as mean  $\pm$  SD. Statistical analysis used the Wilcoxon test. The difference between the mean values was considered significant at  $p < 0.05$ .

## RESULTS

#### Extraction yield

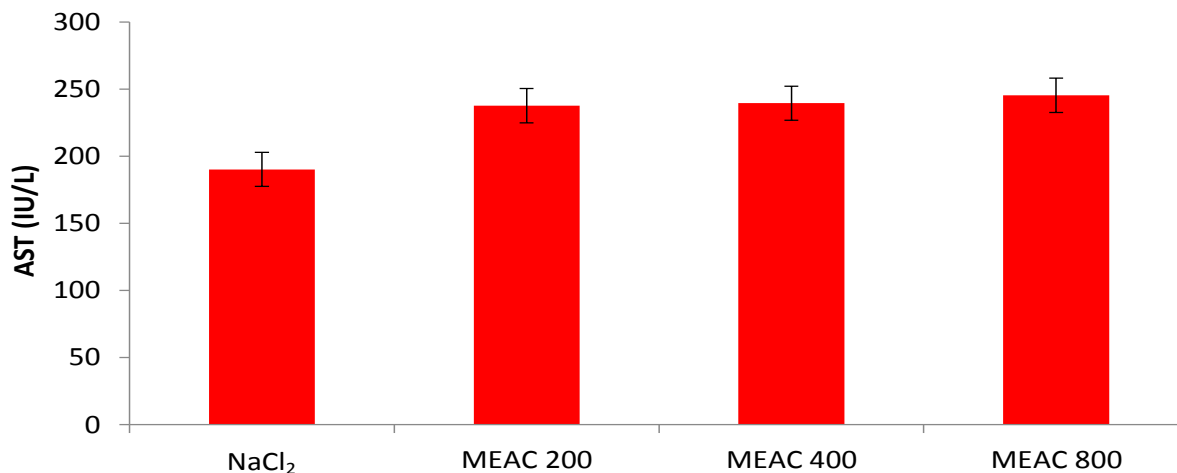
Extraction with 70% methanol (MEAC) gave 15.96 g of dry residue, that is, a yield of 15.96%.

#### Effect of EMAC on transaminases

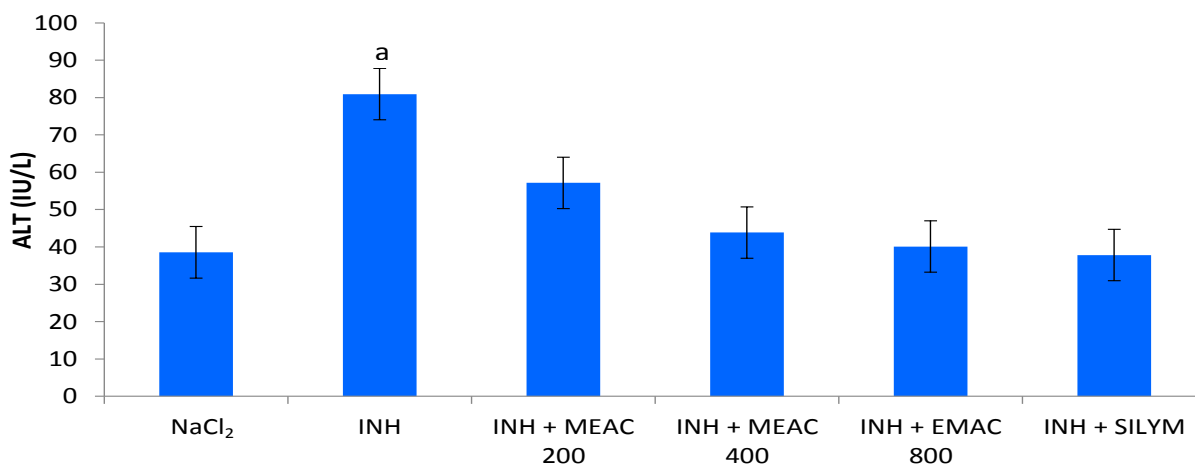
The effect of MEAC only was evaluated on serum transaminases and the various mean values are recorded in Figures 1 and 2. Different doses of MEAC only resulted in a non-significant increase in transaminase (AST and ALT) values compared to the NaCl<sub>2</sub> batch ( $p > 0.05$ ).

#### Hepatoprotective effect against INH induced hepatotoxicity

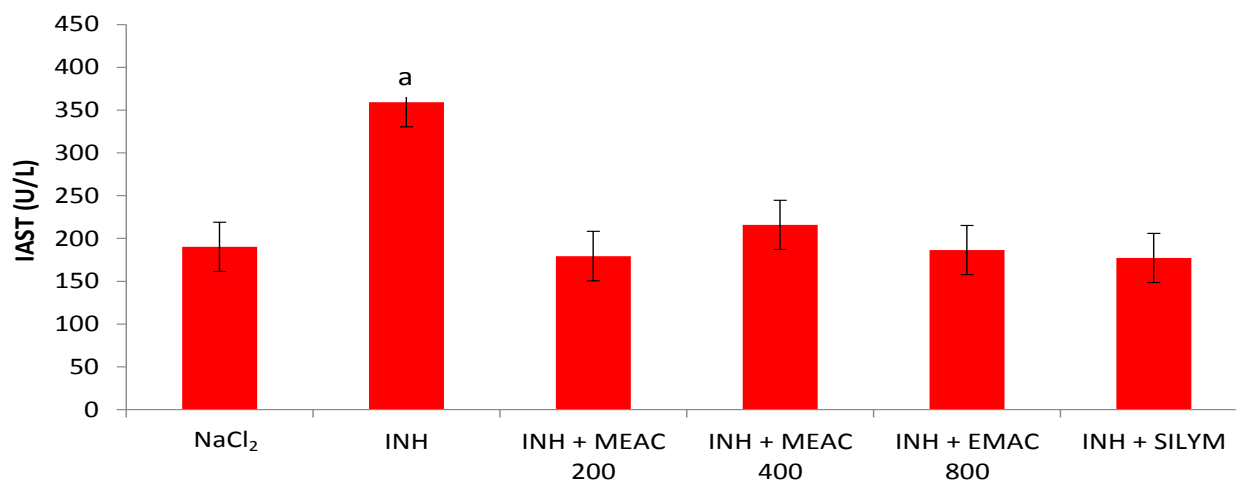
The mean values of serum transaminases are shown in Figures 3 and 4. INH caused increased transaminases



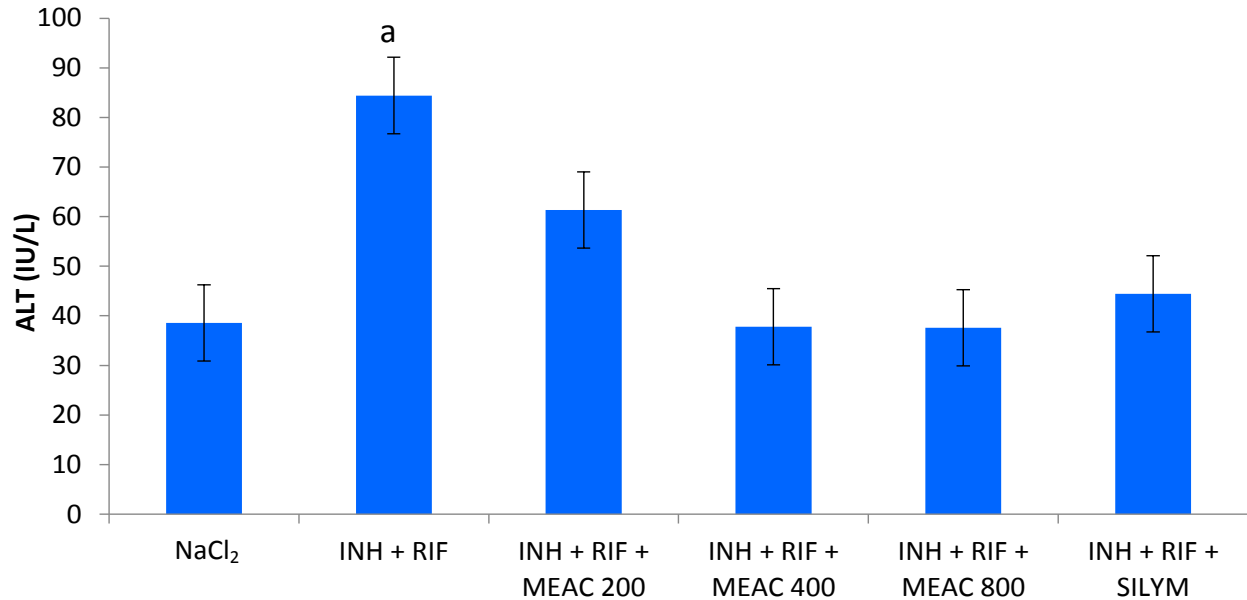
**Figure 2.** Effect of MEAC on AST troubled. MEAC: methanolic extract of *A. cordifolia*.



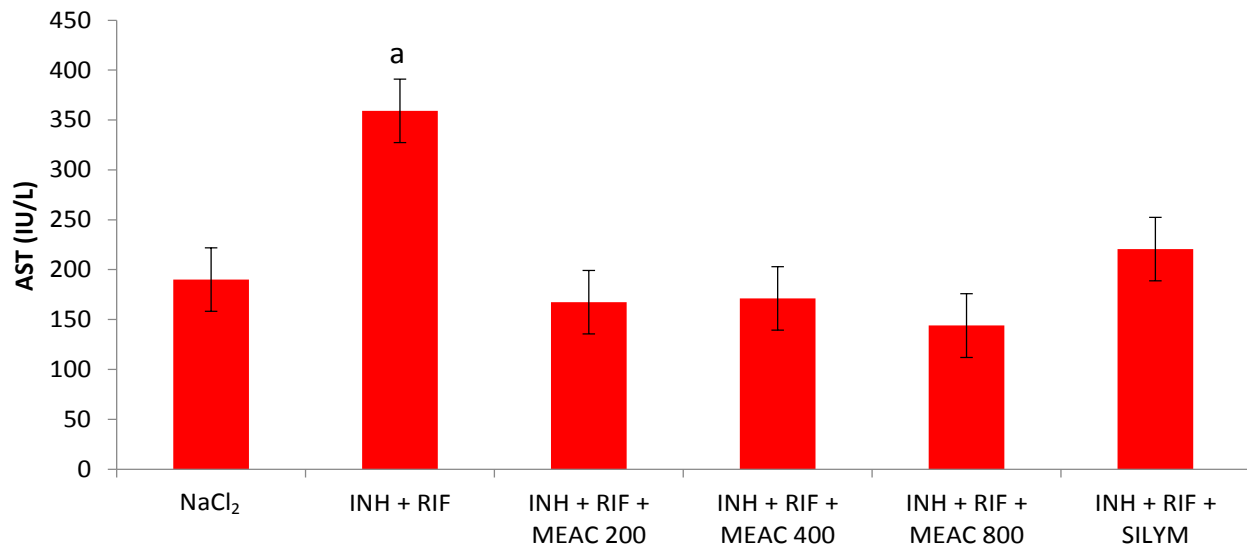
**Figure 3.** Effect of MEAC and Silymarin on INH-induced toxic effect on ALT. a: Significant difference compared to the control lot (NaCl<sub>2</sub>), p = 0.02; INH: Isoniazid; MEAC: Methanolic extract of *A. cordifolia*; SILYM: Silymarin.



**Figure 4.** Effect of MEAC and Silymarin on INH-induced toxic effect on AST. a: Significant difference compared to the control lot (NaCl<sub>2</sub>), p = 0.02; INH: Isoniazid; MEAC: Methanolic extract of *A. cordifolia*; SILYM: Silymarin.



**Figure 5.** Effects of MEAC and Silymarin on INH + RIF induced elevated ALT. a: Significant difference compared to the control lot (NaCl<sub>2</sub>),  $p = 0.02$ ; INH: Isoniazid; RIF: Rifampicin; MEAC: Methanolic extract of *A. cordifolia*; SILYM: Silymarin.

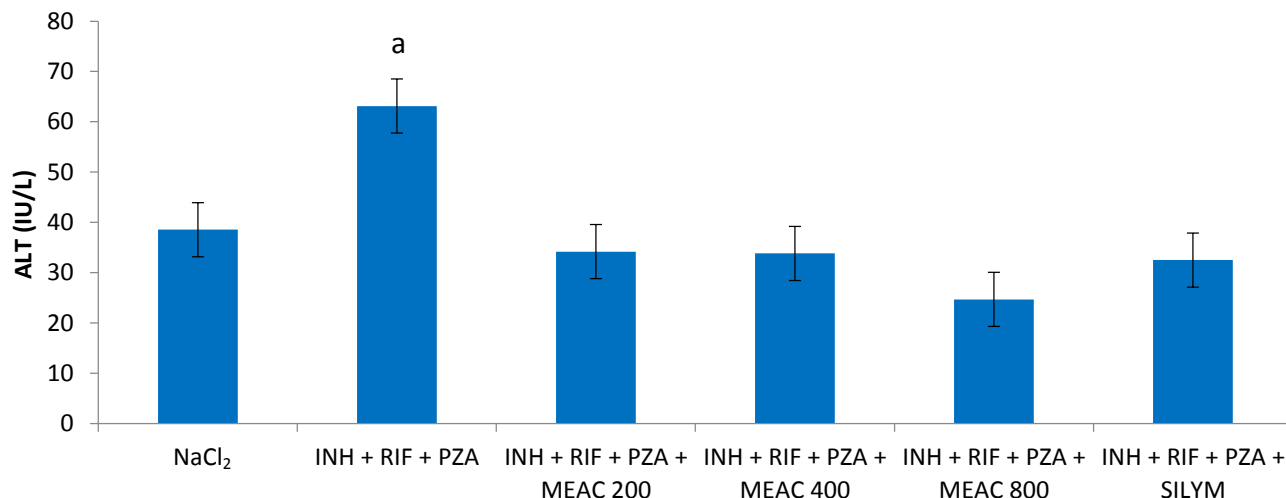


**Figure 6.** Effects of MEAC and Silymarin on INH + RIF induced elevated AST. a: Significant difference compared to the control lot (NaCl<sub>2</sub>),  $p = 0.02$ ; INH: Isoniazid; RIF: Rifampicin; MEAC: methanolic extract of *A. cordifolia*; SILYM: Silymarin.

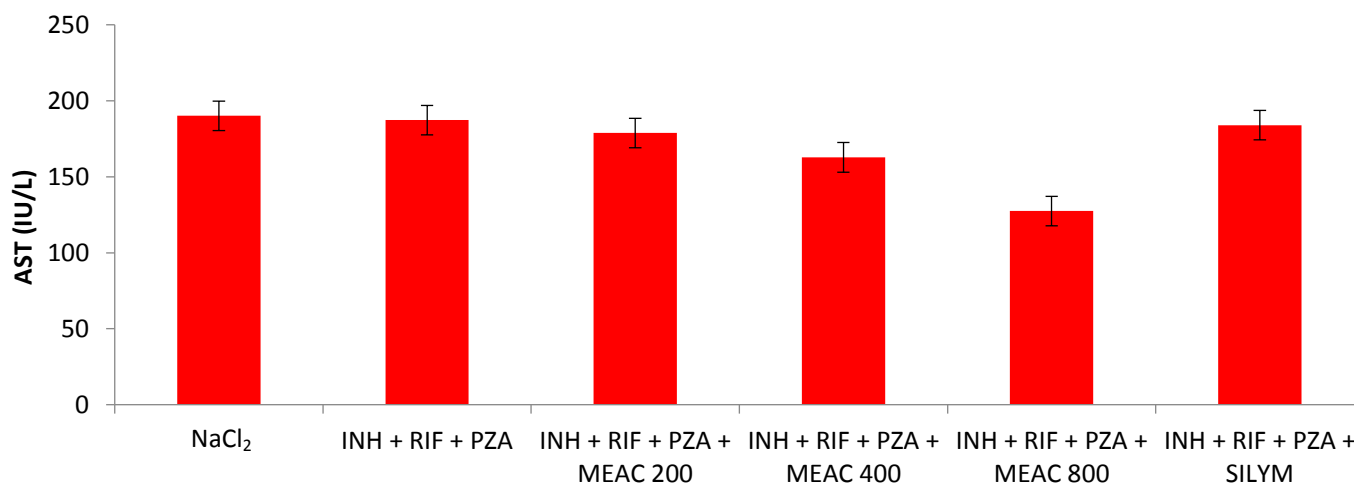
(ALT and AST) ( $p = 0.028$ ) in rats receiving it compared to rats given only NaCl<sub>2</sub>. The doses of MEAC and silymarin reduced significantly the different elevated values ( $p < 0.05$ ). The activity of the various extracts was compared with the standard reference drug used, silymarin, and showed no significant difference whatever the dosage used. The comparison of the different doses of MEAC between them showed no significant difference ( $p > 0.05$ ).

### Hepatoprotective effect against INH + RIF induced hepatotoxicity

The mean values of the serum transaminases are recorded in Figures 5 and 6. The combination of INH + RIF resulted in an elevation of ALT and AST ( $p = 0.02$ ) in rats compared to rats given only NaCl<sub>2</sub>. The administration of MEAC and silymarin in rats resulted in a significant reduction in abnormally high ALT and AST



**Figure 7.** Effects of MEAC and Silymarin on INH + RIF + PZA induced elevated ALT. a: Significant difference compared to the control lot (NaCl<sub>2</sub>),  $p = 0.02$ ; INH: Isoniazid; RIF: Rifampicin; PZA: Pyrazinamide; MEAC: methanolic extract of *A. cordifolia*; SILYM: Silymarin.



**Figure 8.** Effects of MEAC and Silymarin on INH + RIF + PZA induced elevated AST. INH: Isoniazid; RIF: Rifampicin; PZA: Pyrazinamide; MEAC: Methanolic extract of *A. cordifolia*; SILYM: Silymarin.

levels ( $p < 0.05$ ). Comparison of the different doses of MEAC with silymarin did not show any significant difference ( $p > 0.05$ ).

#### Hepatoprotective effect against INH + RIF + PZA induced hepatotoxicity

The mean serum transaminase values are shown in Figures 7 and 8. The combination of INH + RIF + PZA resulted in a significant elevated ALT ( $p = 0.02$ ) in rats compared to rats that were given only NaCl<sub>2</sub>. The AST was not disturbed ( $p > 0.05$ ). The administration of MEAC and silymarin in rats significantly reduced abnormally elevated ALT levels ( $p < 0.05$ ).

#### Phytochemical screening

The phytochemical screening carried out on MEAC revealed the presence of large phytochemical groups flavonoids, polyphenols, saponosides and alkaloids, but an absence of tannins.

#### DISCUSSION

The purpose of this study was to evaluate the hepatoprotective effect of a methanol extract of *A. cordifolia* leaves *in vivo* in rats in order to overcome hepatotoxicity induced by anti-tubercular drugs. Isoniazid only and Isoniazid + Rifampicin combination resulted in a



significant increase in ALT and AST levels. The combination of Isoniazid + Rifampicin + Pyrazinamid, on the other hand, caused an increase in the ALT values only. ALT and AST are two well-known diagnostic indicators of liver damage, with a higher specificity for ALT. In liver injury involving hepatocellular lesions and parenchymal cell necrosis, these enzymes are released from the damaged tissues and thus increase their level in the blood flow (Nkosi et al., 2005). They are two hepatic enzymes linked to the subcellular functions of mitochondria (Dwivedi et al., 1993).

In this present study, anti-tubercular drugs were used in high doses to induce hepatotoxicity in laboratory animals (Santhosh et al., 2007; Saraswathy et al., 1998). These produced lesions in the liver, including centrilobular necrosis and deterioration of liver cells (Graham et al., 2004) resulting in an increase in serum transaminases (Nolan et al., 1999; Shakya et al., 2004) as observed in rats given the hepatotoxic agents.

The administration of the 200 mg/kg methanolic extract, 400 and 800 mg/kg, as well as silymarin at 100 mg/kg, resulted in a significant decrease in the values of transaminases caused by anti-tubercular drugs. The effect of the extract on ALT and AST is comparable to that of silymarin, the standard reference hepatoprotective agent used in this study (Parthasarathy et al., 2007).

This ability of the extract to reduce these values would suggest a hepatoprotective effect of *A. cordifolia* leaves. This effect would be manifested by stabilization of the hepatic membrane and regeneration of the hepatocytes. The extract also prevents the release of hepatic enzymes to the blood stream by reducing tissue lesions (Madhu et al., 2012; Singh et al., 2012). The hepatoprotective activity of *A. cordifolia* has already been demonstrated in rats against hepatotoxicity induced by high doses of paracetamol (Arhoghro et al., 2015; Olaleye et al., 2006, 2007) and tetrachloride (Osadebe et al., 2012). The results of our work on the methanol extract of *A. cordifolia* is therefore in agreement with the results of previous work and could confirm the hepatoprotective effect of the leaves of *A. cordifolia*, a plant very popular in African traditional medicine.

The extracts itself administered at 200, 400 and 800 mg/kg over 10 days did not cause hepatotoxicity, although it caused a non-significant increase in transaminases. However, a significant increase in transaminases was found in male rats as reported by other authors by administering a methanol extract of *A. cordifolia* leaves at 800 and 1600 mg/kg over 8 days (Ajibade and Olayemi, 2015). *A. cordifolia* is however considered to be a plant with a high margin of safety in a single administration (Organisation de coopération et de développement économiques - OCDE, 1998). In this study for the extraction, 70% methanol was used, contrary to Ajibade and Olayemi (2015) who used pure methanol. Lowering the degree of methanol could explain the absence of toxicity of the extract this study. Moreover, the place of collection of plants could explain this

absence of toxicity of our extract at 800 mg/kg. The plant was collected from the forest in Côte d'Ivoire while Ajibade and Olayemi (2015) collected theirs in a botanical garden in Nigeria.

The phytochemical screening has revealed the presence of flavonoids, polyphenols, saponosides and alkaloids in the methanol extract which could be responsible for its hepatoprotective effect. Indeed, Manga et al. (2004) found that flavonoids possess antioxidant and anti-inflammatory activities. Other studies have shown that the antioxidant activity of plants used in the traditional medicine was mainly due to the presence of flavonoids (Czinner and Yunes, 2001). Huong et al. (1998) also showed that saponosides were endowed with antioxidant properties. The protective effects of the extract could be due to the presence of one or more of the active ingredients in the plant (Banzouzi et al., 2002).

## Conclusion

This study demonstrated that the methanol extract of *A. cordifolia* leaves could provide significant protection against the hepatotoxic effects of anti-tubercular drugs in rats. These finding results are promising, considering the hepatotoxic adverse effects of anti-tubercular drugs observed in patients during the treatment of pulmonary tuberculosis.

## CONFLICT OF INTERESTS

The authors have not declared any conflict of interests.

## REFERENCES

- Ajibade TO, Olayemi FO (2015). Reproductive and toxic effects of methanol extract of *Alchornea cordifolia* leaf in male rats. *Andrologia* 47(9):1034-1040.
- Aouam K, Chaabane A, Loussaïef C, Romdhane FB, Boughattas NA, Chakroun M (2007). Les effets indésirables des antituberculeux : épidémiologie, mécanismes et conduite à tenir. *Med. Mal. Infect.* 37(5):253-261.
- Arhoghro EM, Ikeh CH, Eboh AS, Angalabiri-Owei B (2015). Liver function of wistar rats fed the combined ethanolic leaf extract of *alchornea cordifolia* and *costus afer* in paracetamol-induced toxicity. *World J. Pharmaceut. Res.* 4(5):01-12. Available at: <http://www.wjpr.net/download/article/1430370107.pdf>
- Babu BH, Shylesh BS, Padikkala J (2004). Antioxidant and hepatoprotective effect of *Acanthus ilicifolius*. *Fitoterapia* 72(3):272-277.
- Banzouzi JT, Prado R, Menan H, Valentin A, Roumestan C, Mallie M, Pelissier Y, Blache Y (2002). *In vitro* antiplasmodial activity of extracts of *Alchornea cordifolia* and identification of an active constituent: ellagic acid. *J. Ethnopharmacol.* 81(3):399-401.
- Bekro YA, Mamyrbekova JA, Boua BB, Bi FT, Ehile EE (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Rev. Sci. Nat.* 4 (2):217-225.
- Bhakta T, Banerjee S, Mandal SC, Maity TK, Saha BP, Pal M (2001). Hepatoprotective activity of *Cassia fistula* leaf extract. *Phytomedicine* 8(3):220-224.
- Blumberg H, Burman WJ, Chaisson RE, Daley CL, Etkind SC, Friedman

- LN, Fujiwara P, Grzemska M, Hopewell PC, Iseman MD, Jasmer RM (2003). American Thoracic Society/Center for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America treatment of tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 167:603-62
- Czinner E, Hagymasi K, Blazovics A, Kery A, Szoke E, Lemberkovics E (2001). The *in vitro* effect of *Helichysi flos* on microsomal lipid peroxidation. *J. Ethnopharmacol.* 77(1):31-35.
- Dwivedi Y, Rastogi R, Chander R, Sharma SK, Kapoor NK, Garg NK, Dhawan BN (1993). Hepatoprotective activity of picroliv against carbon-tetrachloride induced damage in rats. *Ind. J. Med. Res.* 92:1995-2000.
- Effo KE, Kouakou-Siransy G, Irie-Nguessan G, Sawadogo RW, Dally IL, Kamenan AB, Kouakou LS, Kablan-Brou J (2013). Acute toxicity and antipyretic activities of a methanolic extract of *Alchornea cordifolia* leaves. *Pharmacol. Pharm.* 4(07):1-6.
- Germano MP, D'Angelo V, Sanogo R, Morabito A, Pergolizzi S, De Pasquale R (2004). Hepatoprotective activity of *Trichilia roka* on carbon tetrachloride-induced liver damage in rats. *J. Pharm. Pharmacol.* 53(11):1569-74.
- Graham GG, Scott KF, Day RO (2004). Alcohol and paracetamol. *Aust. Prescriber.* 27:14-15. Available at: <https://www.nps.org.au/australian-prescriber/articles/alcohol-and-paracetamol>
- Huong NTT, Matsumoto K, Kasai R, Yamasaki K, Waranabe H. (1998). In vitro antioxidant activity of Vietnamese ginseng saponin and its components. *Biol. Pharmaceut. Bull.* 21(9):978-983.
- Kouakou-Siransy G, Sahpaz S, N'guessan GI, Datté JY, Brou JK, Gressier B, Bailleul F (2010). Effects of *Alchornea cordifolia* on elastase and superoxide anion produced by human neutrophils. *Pharm. Biol.* 48(2):128-133.
- Madhu KP, Vijaya RA, Ganga RB (2012). Investigation of hepatoprotective activity of *Cyathea gigantea* (Wall. ex. Hook.) leaves against paracetamol-induced hepatotoxicity in rat. *Asian. Pac. J. Trop. Biomed.* 2(5):352-356.
- Manga HM, Brkic D, Marie DEP, Quetin-Leclercq J (2004). *In vivo* anti-inflammatory activity of *Alchornea cordifolia*. *J. Ethnopharmacol.* 92(2):209-214.
- Nkosi CZ, Opoku AR, Terblanche SE. (2005). Effect of pumpkin seed (*Cucurbita pepo*) protein isolate on the activity levels of certain plasma enzymes in CCl4-induced liver injury in low protein fed rats. *Phytother. Res.* 19(4):341-345.
- Nolan CM, Goldberg SV, Buskin SE (1999). Hepatotoxicity associated with isoniazid preventive therapy. *Jama* 281:1014-1018.
- OCDE (1998) Système intégré harmonisé de classification des dangers pour la santé humaine et les effets environnementaux des substances chimiques. Organisation de coopération et de développement économiques, Paris, France.
- Olaleye MT, Adegboye OO, Akindahunsi AA (2006). *Alchornea cordifolia* extract protects wistar albino rats against acetaminophen-induced liver damage. *Afr. J. Biotechnol.* 5(24):2439-2445
- Olaleye MT, Kolawole AO, Ajele JO (2007). Antioxidant Properties and Glutathione S Transferases Inhibitory Activity of *Alchornea cordifolia* Leaf Extract in Acetaminophen-Induced Liver Injury. *Iran. J. Pharmacol. Ther.* 6:63-66.
- Osadebe PO, Okoye FBC, Uzor PF, Nnamani NR, Adiele IE, Obiano NC (2012). Phytochemical analysis, hepatoprotective and antioxidant activity of *Alchornea cordifolia* methanol leaf extract on carbon tetrachloride-induced hepatic damage in rats. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 5(4):289-293
- Parthasarathy R, Nivethetha M, Brindha P (2007). Hepatoprotective activity of *Caesalpinia bonducella* seeds on paracetamol induced hepatotoxicity in male albino rats. *Ind. Drugs* 44(5):401-404.
- Prabakaran M, Anandan R, Devaki T (2004). Protective effect of *Hemidesmus indicus* against rifampicin and isoniazid-induced hepatotoxicity in rats. *Fitoterapia* 71(1):55-59.
- Pramod K, Deva RG, Lakshmayya, Ramachandra SS (2008). Antioxidant and hepatoprotective activity of tubers of *Momordica tuberosa* Cogn. against CCl4 induced liver injury in rats. *Ind. J. Exp. Biol.* 46(7):510-513.
- Reitman S, Frankel S. (1957). A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am. J. Clin. Pathol.* 28(1):56-63.
- Repetto MG, Llesuy SF (2002). Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 35(5):523-534.
- Ronchetti F, Russo G (1971). A new alkaloid from *Rauvolfia vomitoria*. *Phytochem.* 10(6):1385-1388.
- Santhosh S, Sini TK, Anandan R, Mathew PT (2007). Hepatoprotective activity of chitosan against isoniazid and rifampicin-induced toxicity in experimental rats. *Eur. J. Pharmacol.* 572(1):69-73.
- Saraswathy SD, Suja V, Prema G, Shyamala DC (1998). Effect of Liv. 100 against antitubercular drugs (isoniazid, rifampicin and pyrazinamide) induced hepatotoxicity in rats. *Ind. J. Pharmacol.* 30:233-238.
- Shakya R, Rao BS, Shrestha B (2004). Incidence of hepatotoxicity due to antitubercular medicines and assessment of risk factors. *Ann. Pharmacother.* 38:1074-9
- Singh K, Singh N, Chandy A, Manigauha A (2012). *In vivo* antioxidant and hepatoprotective activity of methanolic extracts of *Daucus carota* seeds in experimental animals. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2:385-388.
- Wagner H, Blatt S, Zgainski EM (1983). *Drogen analyse, Dünnschicht chromatographische Analyse von Arzneidrogen.* Springer Verlag Berlin Heidelberg New York. 522p.
- Wu SJ, Wang JS, Lin CC, Chang CH (2004). Evaluation of hepatoprotective activity of legumes. *Phytomedicine* 8(3): 213-219.
- Yee D, Valiquette C, Pelletier M, Parisien I, Rocher I, Menzies D (2003). Incidence of serious side effects from first line antituberculosis drugs among patients treated for active tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 167:1477.

## **ARTICLE 2**

**Effo, K.E.,** Kouakou, S.L., Irie-N'Guessan, G. and Kouakou-Siransy, N.G. (2017)  
Antioxidant Activity and Hepatoprotective Effect of an Aqueous Extract of *Alchornea cordifolia* Leaves. **Pharmacology & Pharmacy**, 8, 369-380.

# Antioxidant Activity and Hepatoprotective Effect of an Aqueous Extract of *Alchornea cordifolia* Leaves

Kouakou Etienne Effo\*, Sylvain Landry Kouakou, Geneviève Irié-N'Guessan, N'Doua Gisèle Kouakou-Siransy

Département de Pharmacologie, Pharmacie clinique et Thérapeutique, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire

Email: \*effoet@yahoo.fr

**How to cite this paper:** Effo, K.E., Kouakou, S.L., Irié-N'Guessan, G. and Kouakou-Siransy, N.G. (2017) Antioxidant Activity and Hepatoprotective Effect of an Aqueous Extract of *Alchornea cordifolia* Leaves. *Pharmacology & Pharmacy*, 8, 369-380.

<https://doi.org/10.4236/pp.2017.811027>

**Received:** September 20, 2017

**Accepted:** November 20, 2017

**Published:** November 23, 2017

Copyright © 2017 by authors and Scientific Research Publishing Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## Abstract

*Alchornea cordifolia* is a medicinal plant, whose ethanolic and methanolic extracts have shown antioxidant activity which could confer hepatoprotective effect, knowing that liver cells are attacked by free radicals. The hepatoprotective effect of these extracts has been demonstrated in models of hepatotoxicity induced by paracetamol high doses in animals. However, anti-tubercular drugs at the usual dose present hepatotoxicity risk. Could *Alchornea cordifolia* help to limit hepatotoxicity induced by anti-tubercular drugs? This work aimed to evaluate the antioxidant activity and the hepatoprotective effect of an aqueous extract of *A. cordifolia* leaves (AEAC). The antioxidant activity of *A. cordifolia* leaves was studied *in vitro* by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radicals scavenging assay and by the iron reduction ability. A phytochemical screening was carried out to identify the chemical groups that could be responsible for this activity. The hepatoprotective effect was demonstrated in a model of hepatotoxicity induced by isoniazid and rifampicin in rats. Two hours after induction of hepatotoxicity, the animals were orally administered the AEAC at 200 mg/kg, 400 mg/kg, 800 mg/kg for 10 consecutive days. A blood sample was taken on the 11<sup>th</sup> day for the evaluation of transaminases, markers of hepatic cytolysis. A totally of 96 rats were used in this study. AEAC showed dose-dependent antioxidant activity. Phytochemical screening revealed the presence of flavonoids, tannins and alkaloids. Administrated alone, aqueous extract of *A. cordifolia* leaves didn't modify the transaminases, isoniazid and the isoniazid + rifampicin combination resulted in increasing transaminases (ALT and AST) by more than 48%. AEAC at 800 mg/kg reduced AST and ALT levels by more than 45%. AEAC at 200 mg/kg and 400 mg/kg decreased ALT more than 40%. Knowing that antioxidant activity protects liver, the AEAC may by its antioxidant activity, contribute to protect against the hepatotoxicity induced by an-

ti-tubercular drugs in the rat.

## Keywords

Antioxidant, Hepatoprotective, Aqueous Extract, *Alchornea cordifolia*

---

## 1. Introduction

Herbal treatments are becoming increasingly important within populations. These plants are mostly endowed with antioxidant properties able to inhibit free radicals formation and to oppose macromolecules oxidation [1]. Free radicals have been implicated in a number of pathological processes, such as asthma, cancer, cardiovascular disease, cataracts, diabetes, inflammatory diseases, liver diseases and degenerative diseases [2]. Antioxidants can inhibit or retard the oxidation of an oxidizable substrate in a chain reaction [3]. The properties of these plants used in traditional medicine were attributed mainly to the presence of polyphenols [4].

Several works of our department have dealt with *Alchornea cordifolia* [5] [6]. *A. cordifolia* is a very popular herb in African traditional medicine for its many properties. Many studies have demonstrated its antioxidant properties [7] [8]. This antioxidant activity is manifested by free radical scavenging [9] [10], which can confer a hepatoprotective effect [7] [8] [11]. The liver is indeed the main organ involved in metabolism and detoxification for the excretion of various endogenous and exogenous substances. However, liver cells are prone to be attacked and necrotic by free radicals [12].

The antioxidant properties of a methanolic extract and an ethanolic extract of *A. cordifolia* have been studied [7] [8]. The hepatoprotective properties of these extracts have also been demonstrated against high-dose paracetamol-induced hepatotoxicity in an animal model [7] [11].

However, the antioxidant properties and the hepatoprotective effect of the aqueous extract, which is the most usual form in traditional human medicine, seem to have been little studied. In addition, the hepatoprotective effect of *A. cordifolia* has not been found in the literature against the hepatotoxicity of anti-tubercular drugs. Anti-tubercular drugs (isoniazid (INH) and rifampicin (RIF)) are responsible for many adverse effects in liver at the usual doses [13] [14]. These effects are cytolytic and result in an increase in serum transaminases [15] [16]. Aouam *et al.* (2007) [17] reported hepatic disorders in 10% to 20% of users in Tunisia with INH at therapeutic dose, when Blumberg *et al.* (2003) [13] reported disturbances of hepatic markers in 0.5% to 2% of patients in the USA. When the RIF was associated with the INH, this disturbance affected more patients [17], which was 2.5% to 6% of the patients according to Blumberg *et al.* (2003) [13].

This work aimed to evaluate the antioxidant properties and the hepatoprotective effect of an aqueous extract of *A. cordifolia* leaves in order to overcome the

hepatotoxicity of anti-tubercular drugs in rats.

## 2. Material and Method

### Plant material

The plant material consisted of leaves of *Alchornea cordifolia* (Schum. and Thonn.) collected at Yakasse-Mé (in the city of Adzopé about 75 km from Abidjan, Ivory Coast). Voucher samples (AC 2016) are kept in the Pharmacology laboratory. The leaves were authenticated at the National Floristic Center of Abidjan, affiliated to Université Félix Houphouët Boigny (Abidjan). These leaves were air-dried in the laboratory at 18°C.

### Extraction method

Fine powder of dried leaves (100 g) was macerated for 24 h at room temperature in 1 L of distilled water. The resulting filtrate was dried in a MEMMERT oven at 60° for 72 h. The obtained dry extract (aqueous extract of *Alchornea cordifolia*: AEAC) was conserved at 4°C; and aliquots of dry powder were used for pharmacological studies after being suspended in physiological saline.

### Animal material

The animal material consisted of rats, *Rattus norvegicus*, Wistar strain weighing between 150 g and 220 g. 96 rats were used for 3 series of studies. They were obtained from the laboratory animals of the Pharmacology Laboratory of the Faculty of Pharmacy and Biological Sciences of Université Félix Houphouët Boigny Abidjan (Côte d'Ivoire). All animals were kept under controlled environmental conditions of 24°C ± 1°C with a cycle of 12 hours of light and 12 hours of darkness. Food and water and are given *Ad libitum*. Before the beginning of the experiment, they were subjected to fasting for 12 hours with free access to water.

### Chemicals materials used

In this study, we used isotonic saline solution 0.9%, ether (Gifrer), distilled water, anti-tubercular drugs (INH (Lupine LTD), RIF (Remedica LTD), methanol, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Sigma Aldrich, Germany), ascorbic acid (Sigma Aldrich, Germany) and silymarin (Sigma Aldrich, Germany).

Silymarin was used as a reference liver protector substance in this study. It is a mixture of three flavonoids (silychristin, silydianine and silybin) used as a hepatoprotective agent. It is extracted from the seeds and fruits of *Silybum marianum* (Parthasarathy *et al.*, 2007) [18].

### Chemical analysis

Screening for different chemical groups was done using the method as described in the works of Békro *et al.* (1973) [19], Ronchetti and Russo (1971) [20] and Wagner (1983) [21].

### Antioxidant screening

#### Measurement of the reducing power of iron

##### Principle

The reducing power of iron (Fe<sup>3+</sup>) in preparations is determined according to the method described by Oyaizu M. (1986) [22] and Bougandoura and Nassima

(2013) [23]. The iron reduction method is based on the reduction of ferric iron to iron salt by the antioxidants which give the blue color in the reaction medium at 700 nm. The increase in the absorbance indicates an increase in the reduction of ferric iron and therefore of the reducing power of the extracts tested.

#### **Procedure**

One milliliter of the extract at different concentrations (0.007 to 2.5 mg/mL) is mixed with 2.5 ml of a 0.2 M phosphate buffer solution (pH 6.6) and 2.5 ml of a solution of potassium ferricyanide  $K_3Fe(CN)_6$  at 1%. The whole was incubated in a water bath at 50°C. for 30 min. Then, 2.5 mL of 10% trichloroacetic acid has been added to stop the reaction. The tubes are centrifuged at 3000 rpm for 10 min.

An aliquot (2.5 mL) of the supernatant was combined with 2.5 mL of distilled water and 0.5 mL of a 0.1% aqueous solution of  $FeCl_3$  (Ferric Chloride); and incubated for 10 min at room temperature. The absorbance of the reaction medium was read at 700 nm against a similarly prepared white, replacing the extract with distilled water which makes it possible to calibrate the apparatus (UV-VIS spectrophotometer HACH made in USA).

The positive control was represented by a standard of an antioxidant, trolox (1.5 to 25  $\mu$ g/mL) whose absorbance was measured under the same conditions as the samples. An increase in absorbance corresponds to an increase in the reducing power of the extracts tested.

#### **DPPH radical scavenging activity**

##### **Principle**

The method used was described by Parejo *et al.* (2000) [24] which is the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging. Indeed, the reduction of DPPH by a free radical sensor is accompanied by its passage from the violet color to the yellow color, measurable at 517 nm. A low absorbance reflects a strong inhibition of DPPH and therefore a strong antiradical activity.

##### **Procedure**

An aliquot of 0.5 ml of 0.1 mM DPPH in methanol was added to test tubes containing 2.5 ml of different concentrations (0.00625 - 0.1 mg / ml) of the methanol extract. The reaction mixture was mixed at room temperature and held for 20 minutes. The absorbance was read at 517 nm against a blank. The percentage inhibition of the DPPH radical was calculated according to the formula:

$$\text{DPPH inhibition (\%)} = \frac{(\text{Absorbance of control} - \text{Absorbance of sample})}{\text{Absorbance of the control}} \times 100$$

#### **Hepatoprotective activity**

##### **Principle**

The study involved inducing hepatotoxicity in laboratory rats by using anti-tubercular drugs in different combination [25] [26], and then evaluating the effect of different preparations on hepatic markers.

##### **Procedure**

##### **Effect of AEAC on hepatotoxicity markers**

Rats of both sexes were divided into 4 batches of 6 rats each and were treated

for 10 days as follows:

- 1) The rats in lot 1 (negative control) received saline solution by gavage;
- 2) The rats in lot 2 received AEAC at 200 mg/kg/day by gavage;
- 3) The rats in lot 3 received AEAC at 400 mg/kg/day by gavage;
- 4) The rats in lot 4 received AEAC at 800 mg/kg/day by gavage.

#### **Hepatoprotective effect against INH-induced hepatotoxicity:**

Rats of both sexes were divided into 6 batches of 6 rats each and were treated for 10 days as follows:

- 1) The rats in lot 1 (negative control) received saline solution by gavage;
- 2) The rats in lot 2 received INH (100 mg/kg/day) by gavage;
- 3) The rats in lots 3, 4 and 5 received AEAC (200, 400 and 800 mg/kg) orally 2 hours after administration of INH (100 mg/kg/day);
- 4) The rats in lot 6 (positive control) received silymarin (100 mg/kg/day) orally, 2 h after administration of INH (100 mg/kg/day).

#### **Hepatoprotective effect against INH+RIF-induced hepatotoxicity:**

Rats of both sexes were divided into 6 batches of 6 rats each and were treated for 10 days as follows:

- 1) The rats in lot 1 (negative control) received saline solution by gavage;
- 2) The rats in lot 2 received INH (100 mg/kg/day) + RIF (100 mg/kg/day) by gavage;
- 3) The rats in lots 3, 4 and 5 received AEAC (200, 400 and 800 mg/kg/day) orally 2 hours after administration of INH (100 mg/kg/day) + RIF (100 mg/kg/day);
- 4) The rats in lot 6 (positive control) received silymarin (100 mg/kg/day) orally, 2 h after administration of INH (100 mg/kg/day) + RIF (100 mg/kg/day).

#### **Liver Biochemical Indices measured**

At the end of the 10 days of treatment, a blood sample was taken the 11<sup>th</sup> day by cardiac puncture for the determination of markers of hepatotoxicity. They were alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) [27], using standard kits.

#### **Statistical analysis**

The results were expressed as mean  $\pm$  SD. Statistical analysis used the Wilcoxon test. The difference between the mean values was considered significant if  $p < 0.05$ .

## **3. Results**

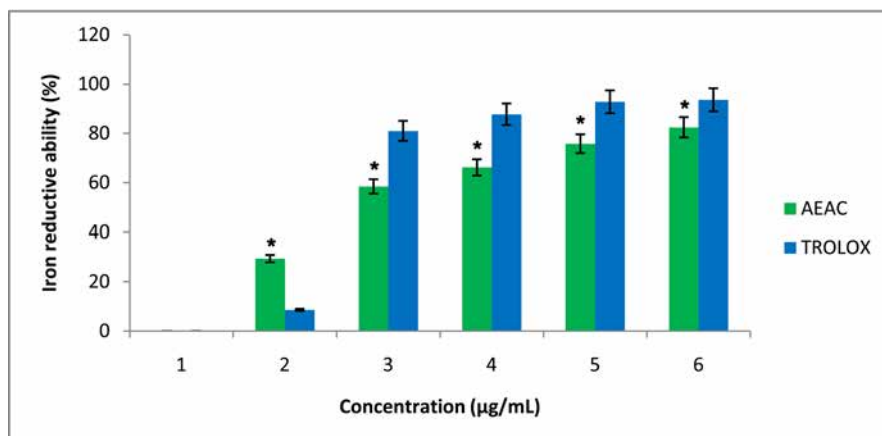
#### **Extraction yield**

Extraction with distilled water (AEAC) gave 8.34 g of dry residue, a yield of 8.34%.

#### **Result on measurement of reducing power**

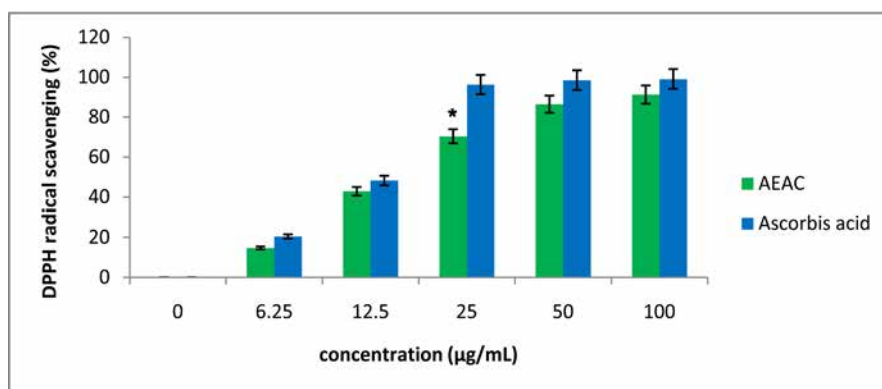
**Figure 1** shows the results of iron reductive ability by AEAC and trolox. The AEAC has a reducing power which increases proportionally with the concentration. The same is true of the trolox. However, the AEAC activity is statistically inferior to that of the trolox.





\*:  $p < 0.05$  compared to trolox; AEAC: aqueous extract of *A. cordifolia*.

**Figure 1.** *In vitro* iron reductive ability of AEAC and trolox.



\*:  $p < 0.05$  compared to ascorbic acid; AEAC: aqueous extract of *A. cordifolia*.

**Figure 2.** *In vitro* anti-radical activity of AEAC and ascorbic acid.

#### Measurement of anti-radical activity: DPPH

The results of the anti-radical activity of AEAC and vitamin C are recorded in **Figure 2**. The AEAC shows an antiradical activity which increases with the concentration as well as the ascorbic acid. The anti-radical activity of the AEAC remains statistically comparable to that of the vitamin C at 100 µg/mL.

#### Phytochemical characterization test

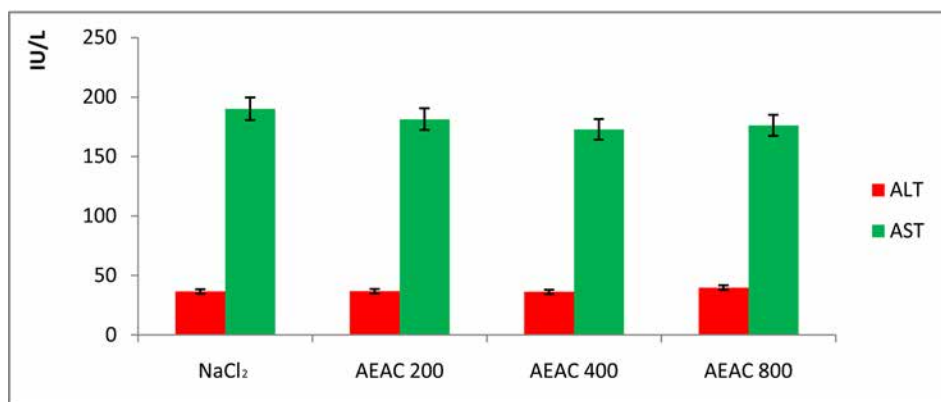
The characterization tests of the large phytochemical groups carried out on the AEAC revealed the presence of flavonoids, tannins and alkaloids, and an absence of saponosides.

#### Results of the EAAC effect on transaminases

The effect of AEAC alone was evaluated on serum transaminases and the various mean values are recorded in **Figure 3**. The different doses of AEAC alone did not increase the transaminase values compared to the NaCl<sub>2</sub> ( $p > 0.05$ ).

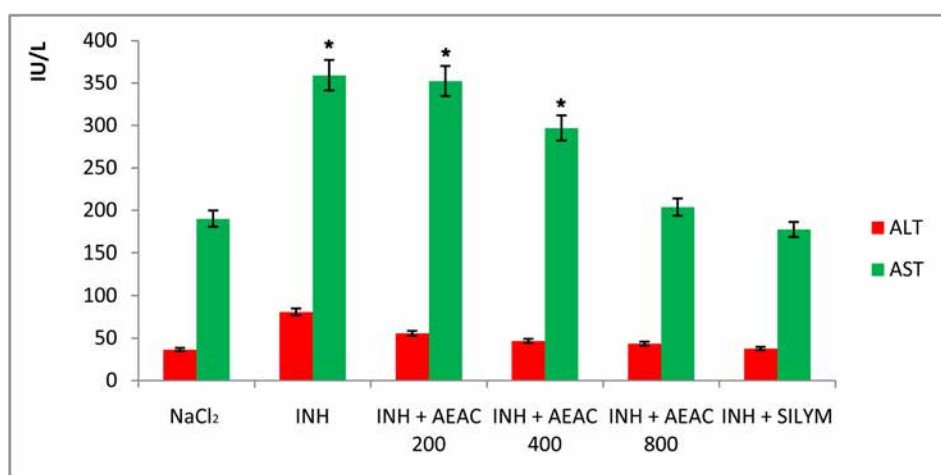
#### Results on hepatoprotective effect against hepatotoxicity induced by isoniazid

The mean of transaminases values are shown in **Figure 4**. Isoniazid resulted in elevated transaminases (ALT and AST) ( $p = 0.028$ ) in rats receiving it compared



AEAC: aqueous extract of *A. cordifolia*.

**Figure 3.** Effect of AEAC on perturbations of serum transaminases.



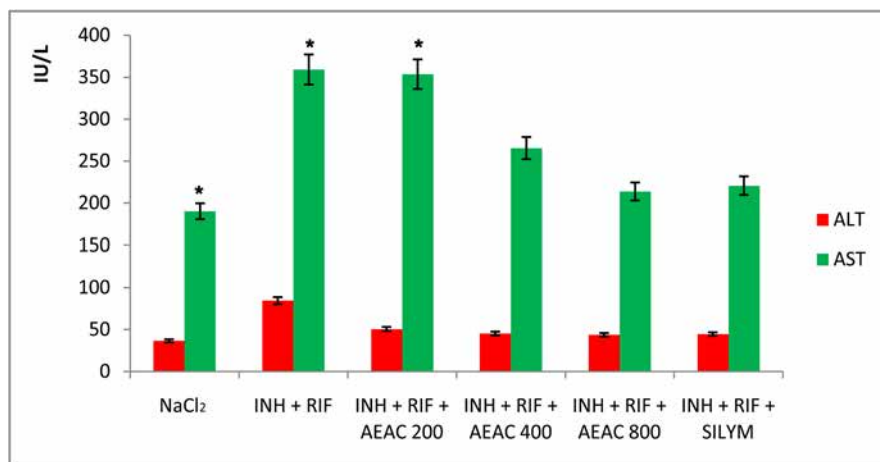
\*:  $p < 0.02$  compared to the control; INH: Isoniazid; AEAC: aqueous extract of *A. cordifolia*; SILYM: Silymarin.

**Figure 4.** Effect of AEAC on perturbations of serum transaminases induced by INH.

to rats given NaCl<sub>2</sub>. Administration of AEAC to 800 mg/kg and silymarin to rats significantly reduced the different values of disturbed transaminases ( $p < 0.05$ ). The AEAC at 200 mg/kg and 400 mg/kg reduced only ALT, with AST remaining high ( $p = 0.143$ ). The comparison of the different doses of the AEAC between them showed a marked activity at 800 mg/kg ( $p > 0.05$ ) on the AST. The AEAC at 800 mg/kg showed similar activity to silymarin ( $p > 0.05$ ).

#### Results on hepatoprotective effect against hepatotoxicity induced by isoniazid + rifampicin

The mean of transaminases values for evaluation of liver function are shown in **Figure 5**. The combination of INH + RIF resulted in an elevation of ALT and AST ( $p = 0.02$ ) in rats receiving it compared to rats given NaCl<sub>2</sub>. The administration of AEAC at 400 mg/kg, 800 mg/kg and silymarin in rats resulted in a significant reduction in ALT and AST disturbed levels ( $p < 0.05$ ), AEAC 200 mg/kg having been active only on the ALT. Comparison of AEAC to 400 mg/kg and 800 mg/kg, as well as to silymarin, showed no significant difference ( $p < 0.05$ ).



\*:  $p < 0.02$  compared to the control; INH: Isoniazid; RIF: Rifampicin; AEAC: aqueous extract of *A. cordifolia*; SILYM: Silymarin.

**Figure 5.** Effects of AEAC on perturbations of serum transaminases induced by INH + RIF.

#### 4. Discussion

This study aimed to evaluate the *in vitro* antioxidant activity of an aqueous extract of *A. cordifolia* leaves and its hepatoprotective effect *in vivo* in rats.

The antioxidant activity of the aqueous extract of *A. cordifolia* leaves was evaluated by iron reductive ability [28] and free radical scavenging [24].

The presence of reducing agents in an extract causes the reduction of ferric iron ( $\text{Fe}^{3+}$ ) to ferrous iron ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Antioxidants are considered oxidant reducing agents and inactivators [29]. Other studies have also shown that the reducing power of a compound could serve as a significant indicator of its potential antioxidant activity [30] [31].

DPPH radical involves a hydrogen atom transfer process [32]. The antiradical activity results in a donation of electrons or protons reducing the hydrazyl radical form of DPPH in non-radical form hydrazine. All substances with free radical scavenging are known as antioxidants [33]. The aqueous extract of *A. cordifolia* would trap the DPPH radical and thus could have antioxidant activity.

There is a potential antioxidant activity of the aqueous extract of *A. cordifolia*. This antioxidant activity is statistically less than that of trolox and vitamin C. Osadebe *et al.* (2012) [8] showed comparable antioxidant activity of the methanolic extract of *A. cordifolia* to that of vitamin C in their studies. Other studies on an ethanolic extract of *A. cordifolia* showed better antioxidant activity than vitamin E [7].

Comparative study of the chemical constituents revealed the presence of alkaloids, saponins, tannins, and flavonoids both in the methanolic extract [8] and in the ethanol extract [7], while the aqueous extract contained alkaloids, tannins and flavonoids. It emerges almost a similarity of the major chemical groups likely to be responsible for antioxidant activity. Indeed, Manga *et al.* (2004) [34] found that flavonoids possess antioxidant activities. Various other studies have shown that the

antioxidant activity was mainly due to the presence of polyphenols [4]. Huong *et al.* (1998) [35] and Ince *et al.* (2014) [36] also showed that the saponosides were endowed with antioxidant properties. Based on this finding, a quantitative determination of the large chemical groups in these different extracts could justify the lower antioxidant activity of the aqueous extract. Since methanol and ethanol are more polar than water, they are able to extract more active ingredients from a plant, and thereby give better activity to the final extract.

This antioxidant activity of the aqueous extract of *A. cordifolia* could confer a protective effect of the liver which is subject to attack and necrosis by free radicals [12].

The study of the hepatoprotective effect of the aqueous extract of *A. cordifolia* was demonstrated using high-dose anti-tubercular drugs for 10 days in different combinations to induce hepatotoxicity in laboratory animals [25] [26]. They produce various categories of lesions in the liver, including centrilobular necrosis, hepatic cell degeneration [37]. These lesions resulted in an increase in serum transaminases [15] [16] as observed in hepatotoxic rats.

Isoniazid alone and the Isoniazid + Rifampicin combination resulted in a significant increase in ALT and AST levels. ALT and AST are two well-known diagnostic indicators of liver damage. In liver damage with hepatocellular lesions and parenchymal cell necrosis, these marker enzymes are released from damaged tissues and their levels increase in blood flow [38]. These are two hepatic enzymes linked to the subcellular functions of the mitochondria [39].

Administration of the aqueous extract of *A. cordifolia* at 200 mg/kg, 400 mg/kg and 800 mg/kg significantly decreased disturbed ALT values. The extract at 800 mg/kg decreased the AST. The extract at 800 mg/kg had an effect on ALT and AST which was superposable to that of silymarin, a hepatoprotectant used as a reference in this study [18]. The lower doses of the extract were active only on ALT, which is more specific to the liver. Nonetheless, the AST values were reduced, although not significant, at these doses ( $p > 0.05$ ).

This ability of the aqueous extract of *A. cordifolia* to lower these values may suggest hepatoprotective activity of *A. cordifolia* leaves, especially at 800 mg/kg. This activity would be manifested by stabilization of the hepatic membrane and regeneration of the hepatocytes. The extract would also prevent the release of hepatic enzymes at the level of the blood stream by a reduction of the tissue lesions [40] [41].

This hepatoprotective activity of an ethanol extract and a methanolic extract of *A. cordifolia* leaves has already been demonstrated in rats against hepatotoxicity induced by paracetamol at high levels [7] [11] [42] and carbon tetrachloride [8]. The results of our work on the aqueous extract of *A. cordifolia* confirm this property of *A. cordifolia*. Moreover, at all the doses used, the aqueous extract of *A. cordifolia* was not hepatotoxic itself, in contrast to the methanolic extract which was hepatotoxic at doses greater than or equal to 800 mg/kg in of male rats [43]. More polar solvents, in addition to extracting more active ingredients for better efficiency, would also extract more toxic principles. The aqueous ex-

tract of *A. cordifolia* would therefore be safer to use.

## 5. Conclusion

The present study demonstrated that the aqueous extract of *A. cordifolia* leaves could have antioxidant activity and confer significant protection against the hepatotoxic effects of anti-tubercular drugs.

## References

- [1] Iserin, P. (2001) Encyclopedia of Medicinal Plants. 2nd Edition, Larousse, Londres, 10 p.
- [2] Dash, D.K., Yerigar, V.C., Nayak, S.S., Ghosh, T., Rajalingam, D., Sengupta, P., *et al.* (2007) Evaluation of Hepatoprotective and Antioxidant Activity of *Ichnocarpus frutescens* (Linn.) R. Br. on Paracetamolinduced Hepatotoxicity in Rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **6**, 755-765. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v6i3.14656>
- [3] Alan, L. and Miller, N. (1996) Antioxidant Flavolids: Structure, Function and Clinical Usage. *Alternative Medicine Review*, **1**, 103-111.
- [4] Shiney, R.B. and Ganesh, P. (2012) Phytochemical Analysis and Comparative Effect of *Cinnamomum zeylanicus*, *Piper nigrum* and *Pimpinella anisum* with Selected Antibiotics and Its Antibacterial Activity against Enterobacteriaceae Family. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Archive*, **3**, 914-917
- [5] Effo, K.E., Kouakou-Siransy, G., Irie-Nguessan, G., Sawadogo, R.W., Dally, I.L., Kamenan, A.B., Kouakou, L.S. and Kablan-Brou, J. (2013) Acute Toxicity and Antipyretic Activities of a Methanolic Extract of *Alchornea cordifolia* Leaves. *Pharmacology & Pharmacy*, **4**, 1-6. <https://doi.org/10.4236/pp.2013.47A2001>
- [6] Kouakou-Siransy, G., Sahpaz, S., N'guessan, G.I., Datté, J.Y., Brou, J.K., Gressier, B. and Bailleul, F. (2010) Effects of *Alchornea cordifolia* on Elastase and Superoxide Anion Produced by Human Neutrophils. *Pharmaceutical Biology*, **48**, 128-133. <https://doi.org/10.3109/13880200903051609>
- [7] Olaleye, M.T., Adegboye, O.O. and Akindahunsi, A.A. (2006) *Alchornea cordifolia* Extract Protects Wistar Albino Rats against Acetaminophen-Induced Liver Damage. *African Journal of Biotechnology*, **5**, 2439-2445.
- [8] Osadebe, P.O., Okoye, F.B.C., Uzor, P.F., Nnamani, N.R., Adiele, I.E. and Obiano, N.C. (2012) Phytochemical Analysis, Hepatoprotective and Antioxidant Activity of *Alchornea cordifolia* Methanol Leaf Extract on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Damage in Rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 289-293.
- [9] Lin, C.C. and Huang, P.C. (2002) Antioxidant and Hepatoprotective Effects of *Acanthopanax senticosus*. *Phytotherapy Research*, **14**, 489-494.
- [10] Repetto, M.G. and Llesuy, S.F. (2002) Antioxidant Properties of Natural Compounds Used in Popular Medicine for Gastric Ulcers. *Brazilian Journal of Medicine and Biological Research*, **35**, 523-534. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2002000500003>
- [11] Olaleye, M.T., Kolawole, A.O. and Ajele, J.O. (2007) Antioxidant Properties and Glutathione Stransferases Inhibitory Activity of *Alchornea cordifolia* Leaf Extract in Acetaminophen-Induced Liver Injury. *IJPT*, **6**, 63-66.
- [12] Pramod, K., Deva, R.G. and Lakshmayya, R.S. (2008) Antioxidant and Hepatoprotective Activity of Tubers of *Momordica tuberosa* Cogn. against CCl<sub>4</sub> Induced Liver Injury in Rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, **46**, 510-513.

- [13] Blumberg, H.M., Burman, W.J., Chaisson, R.E., *et al.* (2003) American Thoracic Society/Center for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America Treatment of Tuberculosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **167**, 603-662.
- [14] Yee, D., Valiquette, C., Pelletier, M., *et al.* (2003) Incidence of Serious Side Effects from First Line Antituberculosis Drugs among Patients Treated for Active Tuberculosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **167**, 1477.
- [15] Nolan, C.M., Goldberg, S.V. and Buskin, S.E. (1999) Hepatotoxicity Associated with Isoniazid Preventive Therapy. *JAMA*, **281**, 1014-1018.
- [16] Shakya, R., Rao, B.S. and Shrestha, B. (2004) Incidence of Hepatotoxicity Due to Antitubercular Medicines and Assessment of Risk Factors. *Annals of Pharmacotherapy*, **38**, 1074-1079. <https://doi.org/10.1345/aph.1D525>
- [17] Aouam, K., Chaabane, A., Loussaief, C., *et al.* (2007) Les effets indésirables des antituberculeux: Epidémiologie, mécanismes et conduite à tenir. [Adverse Effects of Antitubercular Drugs: Epidemiology, Mechanisms and Management.] *Médecine et maladies infectieuses*, **37**, 253-261.
- [18] Parthasarathy, R., Nivethetha, M. and Brindha, P. (2007) Hepatoprotective Activity of *Caesalpinia bonducella* Seeds on Paracetamol Induced Hepatotoxicity in Male Albino Rats. *Indian Drugs Journal*, **44**, 401-404.
- [19] Békro, Y.A., Békro, J.A.M., Boua, B.B., Tra, B.F.H. and Ehilé, E.E. (2007) Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpiniaaceae). [Ethnobotanical Study and Phytochemical Screening of *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. and Zarucchi (Caesalpiniaaceae).] *Sciences & Nature*, **4**, 217-225.
- [20] Ronchetti, F. and Russo, G. (1971) A New Alkaloid from *Rauvolfia vomitoria*. *Phytochemistry*, **10**, 1385-1388.
- [21] Wagner, H. (1983) Drogen analyse, Dünnschicht chromatographische Analyse von Arzneidrogen. [Drug Analysis, Analysis by Thin Layer Chromatography of Drugs.] Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 522 p.
- [22] Oyaizu, M. (1986) Studies on Products of Browning Reaction: Antioxidant Activities of Products of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, **44**, 307-315. <https://doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307>
- [23] Bougandoura, N. and Nassima, B. (2013) Direct Evidence That Oxygen-Derived Free Radicals Contribute to Postischemic Myocardial Dysfunction in the Intact Dog. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **86**, 4695-1699.
- [24] Parejo, I., Codina, C., Petrakis, C. and et Kefalas, P. (2000) Evaluation of Scavenging Activity Assessed by Co (II)/EDTA-Induced Luminal Chemiluminescence and DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) Free Radical Assay. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, **44**, 507-512.
- [25] Santhosh, S., Sini, T.K., Anandan, R. and Mathew, P.T. (2007) Hepatoprotective Activity of Chitosan against Isoniazid and Rifampicin-Induced Toxicity in Experimental Rats. *European Journal of Pharmacology*, **572**, 69-73.
- [26] Saraswathy, S.D., Suja, V., Prema, G. and Shyamala, D.C. (1998) Effect of Liv. 100 against Antitubercular Drugs (Isoniazid, Rifampicin and Pyrazinamide) Induced Hepatotoxicity in Rats. *Indian Journal of Pharmacology*, **30**, 233-238.
- [27] Reitman, S. and Frankel, S. (1957) A Colorimetric Method for the Determination of Serum Glutamic Oxalacetic and Glutamic Pyruvic Transaminases. *American Journal of Clinical Pathology*, **28**, 56-63. <https://doi.org/10.1093/ajcp/28.1.56>

- [28] Yildirim, A., Mavi, A. and Kara, A.A. (2001) Determination of Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Rumex crispus* L. Extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **9**, 4083-4089.
- [29] Siddhuraju, P. and Becker, K. (2007) The Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Processed Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Seed Extracts. *Food Chemistry*, **101**, 10-19.
- [30] Jeong, S.M., Kim, S.Y., Kim, D.R., Jo, S.C., Nam, K.C., Ahn, D.U. and Lee, S.C. (2004) Effects of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 3389-3393. <https://doi.org/10.1021/jf049899k>
- [31] Kumaran, A. and Karunakaran, R.J. (2007) *In Vitro* Antioxidant Activities of Methanol Extracts of Five Phyllanthus Species from India. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, **40**, 344-352.
- [32] Kaviarasan, S., Naik, G.H., Gangabhairathi, R., Anuradha, C.V. and Priyadarsini, K.I. (2007) *In Vitro* Studies on Antiradical and Antioxidant Activities of Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) Seeds. *Food Chemistry*, **103**, 31-37.
- [33] Dehpour, A.A., Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F. and Navabi, S.M. (2009) Antioxidant Activity of Methanol Extract of *Ferula assafoetida* and Its Essential Oil Composition. *Grasas Aceites*, **60**, 405-412. <https://doi.org/10.3989/gya.010109>
- [34] Manga, H.M., Brkic, D., Marie, D.E.P. and Quetin-Leclercq, J. (2004) *In Vivo* Anti-Inflammatory Activity of *Alchornea cordifolia*. *Journal of Ethnopharmacology*, **92**, 209-214.
- [35] Huong, N.T.T., Matsumoto, K., Kasai, R., Yamasaki, K. and Waranabe, H. (1998) *In Vitro* Antioxidant Activity of *Vietnamese ginseng* Saponin and Its Components. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **21**, 978-983.
- [36] Ince, S., Arslan Acaroz, D., Neuwirth, O., Demirel, H.H., Denk, B., Kucukurt, I. and Turkmen, R. (2014) Protective Effect of Polydatin, a Natural Precursor of Resveratrol, against Cisplatin-Induced Toxicity in Rats. *Food and Chemical Toxicology*, **72**, 147-153.
- [37] Graham, G.G., Scott, K.F. and Day, R.O. (2004) Alcohol and Paracetamol. *Australian Prescriber*, **27**, 14-15. <https://doi.org/10.18773/austprescr.2004.009>
- [38] Nkosi, C.Z., Opoku, A.R. and Terblanche, S.E. (2005) Effect of Pumpkin Seed (*Cucurbita pepo*) Protein Isolate on the Activity Levels of Certain Plasma Enzymes in CCl<sub>4</sub>-Induced Liver Injury in Low Protein Fed Rats. *Phytotherapy Research*, **19**, 341-345.
- [39] Dwivedi, Y., Rastogi, R., Chander, R., Sharma, S.K., Kapoor, N.K., Garg, N.K. and Dhanwan, B.N. (1993) Hepatoprotective Activity of Picroliv against Carbon-Tetrachloride Induced Damage in Rats. *Indian Journal of Medical Research*, **92**, 1995-2000.
- [40] Madhu Kiran, P., Vijaya Raju, A. and Ganga Rao, B. (2012) Investigation of Hepatoprotective Activity of *Cyathea gigantea* (Wall. ex. Hook.) Leaves against Paracetamol-Induced Hepatotoxicity in Rat. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **2**, 352-356.
- [41] Singh, K., Singh, N., Chandy, A. and Manigauha, A. (2012) *In Vivo* Antioxidant and Hepatoprotective Activity of Methanolic Extracts of *Daucus carota* Seeds in Experimental Animals. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **2**, 385-388.
- [42] Arhoghro, E.M., Ikeh, C.H., Eboh, A.S. and Angalabiri-Owei, B. (2015) Liver Function of Wistar Rats Fed the Combined Ethanolic Leaf Extract of *Alchornea cordifolia* and *costus afer* in Paracetamol-Induced Toxicity. *WJPR*, **4**, 1-12.
- [43] Ajibade, T.O. and Olayemi, F.O. (2015) Reproductive and Toxic Effects of Methanol Extract of *Alchornea cordifolia* Leaf in Male Rats. *Andrologia*, **47**, 1034-1040. <https://doi.org/10.1111/and.12374>

## RESUME

*Alchornea cordifolia* est une plante médicinale dont les propriétés hépatoprotectrices ont été étudiées dans des modèles animaux d'hépatotoxicité induite par le paracétamol à forte dose ou par le tétrachlorure de carbone. Sachant que les médicaments antituberculeux présentent également un risque d'hépatotoxicité, *A. cordifolia* pourrait-elle contribuer à limiter l'hépatotoxicité induite par ceux-ci? L'objectif de ce travail était d'évaluer l'activité hépatoprotectrice de *A. cordifolia* contre les effets hépatotoxiques des médicaments antituberculeux chez le rat.

A l'aide de la méthode de Saraswathy et *al.*, basée sur un modèle d'hépatotoxicité induite par des antituberculeux (isoniazide, rifampicine et pyrazinamide) à forte dose administrés sur 10 jours consécutifs chez le rat, trois séries de lots de rats ont été constituées : une série de lots recevant l'isoniazide seul, une série recevant l'association isoniazide et rifampicine, et une série recevant l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide. Dans chacune de ces séries, l'agent hépatotoxique a été administré soit seul, soit deux heures avant un extrait aqueux de feuilles de *A. cordifolia* (200, 400 ou 800 mg/kg) ou un extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* (200, 400 ou 800 mg/kg). Un prélèvement sanguin a été fait le 11<sup>ème</sup> jour pour l'évaluation des marqueurs biochimiques de l'hépatotoxicité (ALAT, ASAT, PAL, LDH, BIL D et BIL T). Les animaux ont été par la suite sacrifiés et leurs foies incisés pour une étude histologique. L'effet antioxydant des extraits a été recherché par la méthode de réduction du fer, par le piégeage du radical DPPH et par leur pouvoir de stabilisation du radical ABTS•+. Un dosage des polyphénols et des flavonoïdes a été réalisé sur les extraits.

Les combinaisons d'antituberculeux ont provoqué une augmentation de 1,7 à 2,2 fois les concentrations des transaminases (ALAT et ASAT) ; de 1,4 fois les concentrations de la PAL ; et de 1,8 à 7,8 fois les concentrations de la BIL D et de la BIL T. Ils ont aussi entraîné des lésions de péliose, des stéatoses et des nécroses hépatocytaires.

Les extraits de feuilles de *A. cordifolia* administrés à la suite des antituberculeux, ont permis de réduire de 20% jusqu'à 100% l'élévation des enzymes perturbées. De même, l'histologie des foies des rats ayant reçu les extraits à la suite des combinaisons d'antituberculeux, a montré une aptitude des extraits à annihiler ou à atténuer les dommages hépatocellulaires des antituberculeux. Une activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* a été mise en évidence, avec une supériorité d'activité, mais non significative de l'extrait méthanolique comparativement à l'extrait aqueux. L'extrait méthanolique plus riche en polyphénols totaux (0,55±0,02 mg EAG) que l'extrait aqueux (0,35±0,01 mg EAG) a manifesté un effet hépatoprotecteur plus important.

Ainsi, au vu des paramètres biochimiques sanguins et des coupes histologiques du foie, les extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* pourraient atténuer l'hépatotoxicité induite par les médicaments antituberculeux chez le rat.

**Mots clés :** hépatotoxicité, hépatoprotection, *Alchornea cordifolia*, antituberculeux

**Hepatoprotective activity of *Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae) in an animal model of hepatotoxicity induced by anti-tubercular drugs.**

## SUMMARY

*Alchornea cordifolia* is a medicinal plant whose hepatoprotective properties have been studied in animal models of hepatotoxicity induced by high-dose paracetamol or by carbon tetrachloride. Knowing that anti-tubercular drugs also represent a risk of hepatotoxicity, could *A. cordifolia* help to limit the hepatotoxicity induced by these drugs? The aim of this study was to evaluate the hepatoprotective activity of *A. cordifolia* against the hepatotoxic effects of anti-tubercular drugs in rats.

The method of Saraswathy et *al.*, based on a model of hepatotoxicity induced by high-dose anti-tuberculosis drugs (isoniazid, rifampicin and pyrazinamid) administered over 10 consecutive days in the rat were used, three groups of rats were formed: a first group received isoniazid alone, a second group received isoniazid and rifampicin, and a third group received isoniazid, rifampicin and pyrazinamide. In each of these groups, the hepatotoxic agent was administered either alone or two hours before an aqueous leaves extract of *A. cordifolia* (200, 400 or 800 mg/kg) or a methanolic leaves extract of *A. cordifolia* (200, 400 or 800 mg/kg). A blood sample was collected on the 11th day to assess the biochemical parameters, the hepatotoxicity markers (ALT, AST, PAL, LDH, Bil D and Bil T). The animals were then sacrificed and their livers were removed for a histological study. The extracts' antioxidant effect was investigated by the iron reduction method, by trapping DPPH radical and by their stabilizing power of ABTS•+ radical. A determination of total polyphenols and flavonoids was performed on extracts.

Combinations of anti-tubercular drugs caused a 1.7- to 2.2-fold increase transaminase levels (ALT and AST) in serum; 1.4 times the concentrations of PAL; and 1.8 to 7.8 times the concentrations of BIL D and BIL T. They also resulted in peliosis lesions, steatosis and hepatocyte necrosis. Leave extract of *A. cordifolia* administered after anti-tuberculosis drugs, reduced from 20% up to 100% the levels disrupted of enzymes (ALT, AST, PAL, BIL D and BIL T). Likewise, the histology livers of rats that received the extracts after the anti-tubercular drug combinations showed an ability of the extracts to annihilate or alleviate the hepatocellular damage of anti-tubercular drugs.

Antioxidant activity of the aqueous and methanolic extracts of *A. cordifolia* leaves was demonstrated, with a superiority of activity, but not significant, of the methanolic extract compared with the aqueous extract. The methanolic extract richer in total polyphenols (0.55 ± 0.02 mg EAG) than the aqueous extract (0.35 ± 0.01 mg EAG) showed a greater hepatoprotective effect.

Thus, in view of the biochemical blood parameters and histological sections of the liver, the aqueous and methanolic extracts of *A. cordifolia* leaves could attenuate the hepatotoxicity induced by antituberculous drugs in the rat.

**Key words:** hepatotoxicity, hepatoprotection, *Alchornea cordifolia*, antitubercular

**Laboratoire:** Pharmacologie, Pharmacie Clinique et Thérapeutique, UFR SPB, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan.



## RESUME

*Alchornea cordifolia* est une plante médicinale dont les propriétés hépatoprotectrices ont été étudiées dans des modèles animaux d'hépatotoxicité induite par le paracétamol à forte dose ou par le tétrachlorure de carbone. Sachant que les médicaments antituberculeux présentent également un risque d'hépatotoxicité, *A. cordifolia* pourrait-elle contribuer à limiter l'hépatotoxicité induite par ceux-ci? L'objectif de ce travail était d'évaluer l'activité hépatoprotectrice de *A. cordifolia* contre les effets hépatotoxiques des médicaments antituberculeux chez le rat.

A l'aide de la méthode de Saraswathy et *al.*, basée sur un modèle d'hépatotoxicité induite par des antituberculeux (isoniazide, rifampicine et pyrazinamide) à forte dose administrés sur 10 jours consécutifs chez le rat, trois séries de lots de rats ont été constituées : une série de lots recevant l'isoniazide seul, une série recevant l'association isoniazide et rifampicine, et une série recevant l'association isoniazide, rifampicine et pyrazinamide. Dans chacune de ces séries, l'agent hépatotoxique a été administré soit seul, soit deux heures avant un extrait aqueux de feuilles de *A. cordifolia* (200, 400 ou 800 mg/kg) ou un extrait méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* (200, 400 ou 800 mg/kg). Un prélèvement sanguin a été fait le 11<sup>ème</sup> jour pour l'évaluation des marqueurs biochimiques de l'hépatotoxicité (ALAT, ASAT, PAL, LDH, BIL D et BIL T). Les animaux ont été par la suite sacrifiés et leurs foies incisés pour une étude histologique. L'effet antioxydant des extraits a été recherché par la méthode de réduction du fer, par le piégeage du radical DPPH et par leur pouvoir de stabilisation du radical ABTS•+. Un dosage des polyphénols et des flavonoïdes a été réalisé sur les extraits.

Les combinaisons d'antituberculeux ont provoqué une augmentation de 1,7 à 2,2 fois les concentrations des transaminases (ALAT et ASAT) ; de 1,4 fois les concentrations de la PAL ; et de 1,8 à 7,8 fois les concentrations de la BIL D et de la BIL T. Ils ont aussi entraîné des lésions de péliose, des stéatoses et des nécroses hépatocytaires.

Les extraits de feuilles de *A. cordifolia* administrés à la suite des antituberculeux, ont permis de réduire de 20% jusqu'à 100% l'élévation des enzymes perturbées. De même, l'histologie des foies des rats ayant reçu les extraits à la suite des combinaisons d'antituberculeux, a montré une aptitude des extraits à annihiler ou à atténuer les dommages hépatocellulaires des antituberculeux. Une activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* a été mise en évidence, avec une supériorité d'activité, mais non significative de l'extrait méthanolique comparativement à l'extrait aqueux. L'extrait méthanolique plus riche en polyphénols totaux (0,55±0,02 mg EAG) que l'extrait aqueux (0,35±0,01 mg EAG) a manifesté un effet hépatoprotecteur plus important.

Ainsi, au vu des paramètres biochimiques sanguins et des coupes histologiques du foie, les extraits aqueux et méthanolique de feuilles de *A. cordifolia* pourraient atténuer l'hépatotoxicité induite par les médicaments antituberculeux chez le rat.

**Mots clés :** hépatotoxicité, hépatoprotection, *Alchornea cordifolia*, antituberculeux

**Hepatoprotective activity of *Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae) in an animal model of hepatotoxicity induced by anti-tubercular drugs.**

## SUMMARY

*Alchornea cordifolia* is a medicinal plant whose hepatoprotective properties have been studied in animal models of hepatotoxicity induced by high-dose paracetamol or by carbon tetrachloride. Knowing that anti-tubercular drugs also represent a risk of hepatotoxicity, could *A. cordifolia* help to limit the hepatotoxicity induced by these drugs? The aim of this study was to evaluate the hepatoprotective activity of *A. cordifolia* against the hepatotoxic effects of anti-tubercular drugs in rats.

The method of Saraswathy et *al.*, based on a model of hepatotoxicity induced by high-dose anti-tuberculosis drugs (isoniazid, rifampicin and pyrazinamid) administered over 10 consecutive days in the rat were used, three groups of rats were formed: a first group received isoniazid alone, a second group received isoniazid and rifampicin, and a third group received isoniazid, rifampicin and pyrazinamide. In each of these groups, the hepatotoxic agent was administered either alone or two hours before an aqueous leaves extract of *A. cordifolia* (200, 400 or 800 mg/kg) or a methanolic leaves extract of *A. cordifolia* (200, 400 or 800 mg/kg). A blood sample was collected on the 11th day to assess the biochemical parameters, the hepatotoxicity markers (ALT, AST, PAL, LDH, Bil D and Bil T). The animals were then sacrificed and their livers were removed for a histological study. The extracts' antioxidant effect was investigated by the iron reduction method, by trapping DPPH radical and by their stabilizing power of ABTS•+ radical. A determination of total polyphenols and flavonoids was performed on extracts.

Combinations of anti-tubercular drugs caused a 1.7- to 2.2-fold increase transaminase levels (ALT and AST) in serum; 1.4 times the concentrations of PAL; and 1.8 to 7.8 times the concentrations of BIL D and BIL T. They also resulted in peliosis lesions, steatosis and hepatocyte necrosis. Leave extract of *A. cordifolia* administered after anti-tuberculosis drugs, reduced from 20% up to 100% the levels disrupted of enzymes (ALT, AST, PAL, BIL D and BIL T). Likewise, the histology livers of rats that received the extracts after the anti-tubercular drug combinations showed an ability of the extracts to annihilate or alleviate the hepatocellular damage of anti-tubercular drugs.

Antioxidant activity of the aqueous and methanolic extracts of *A. cordifolia* leaves was demonstrated, with a superiority of activity, but not significant, of the methanolic extract compared with the aqueous extract. The methanolic extract richer in total polyphenols (0.55 ± 0.02 mg EAG) than the aqueous extract (0.35 ± 0.01 mg EAG) showed a greater hepatoprotective effect.

Thus, in view of the biochemical blood parameters and histological sections of the liver, the aqueous and methanolic extracts of *A. cordifolia* leaves could attenuate the hepatotoxicity induced by antituberculous drugs in the rat.

**Key words:** hepatotoxicity, hepatoprotection, *Alchornea cordifolia*, antitubercular

**Laboratoire:** Pharmacologie, Pharmacie Clinique et Thérapeutique, UFR SPB, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan.