



Article Original

Propriétés Antiulcéreuses des Métabolites Secondaires des Extraits Aqueux de *Terminalia Superba* Testés sur des Rats de Souches Wistar : une Étude in Vivo

In Vivo Evaluation of the Antiulcer Properties of Secondary Metabolites of Aqueous Extracts of Terminalia Superba Tested on Rats of Wistar Strains

Tadiofo KAC¹, Maffo Paulette Marlyse¹, Estella Tembe-Fokunang¹, Legrand Borgia Nono Njinkio¹, Nolé Tsabang², Théophile Kamgaing³ Charles Ntungwen Fokunang^{1*}

RÉSUMÉ

1: Laboratory of Preclinical Animal Studies and Pharmacotoxicology Research of the FMBS, University of Yaounde 1, Yaounde, P.O. Box 337, Yaounde, Cameroon

2: Institute of Medical Research and Studies of Medical Plants, Ministry of Scientific Research and Innovation, Yaounde, P.O. Box 13003, Yaounde, Cameroon

3: Research Unit of Noxious Chemistry and Environmental Engineering, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Dschang, P.O. Box 67, Dschang, Cameroon.

Corresponding author:

Charles Ntungwen Fokunang
Laboratory of Preclinical Animal Studies and Pharmacotoxicology Research of the FMBS
University of Yaounde 1, Yaounde
P.O. Box 337, Yaounde, Cameroon
Email : charkesfokunang@yahoo.co.uk
Tel: +237670902446.

Keywords: EDCP, antiulcer activity, antioxidant activity, DPPH, CAT, MDA

Keywords: EDCP, antiulcer activity, antioxidant activity, DPPH, CAT, MDA

Introduction. L'ulcère gastrique (GU) est l'une des maladies gastriques les plus courantes et le stress oxydatif joue un rôle dans l'installation de l'ulcère gastrique. Objectif de ce travail était d'évaluer l'activité antiulcéreuse de l'extrait décocté de *Terminalia superba* (EDTS). **Méthodes.** Pour effectuer ce travail, une étude expérimentale a été menée pendant 8 mois. Après la préparation de l'EDTS, Le potentiel antiulcéreux de l'extrait a été évalué en utilisant un modèle expérimental de rats exposés à une solution HCl/éthanol. Après légère acclimatation (7jours), 25 rats males de souches *Wistar* d'un poids moyen de 220±6 g ont été utilisés. Les rats ont été répartis en cinq groupes de cinq comme suit : un groupe contrôle négatif (CN) qui recevait uniquement de l'eau distillée, un groupe control positif (CP) qui recevait une solution HCl/éthanol et de l'eau distillée, un groupe essai 1 qui recevait une solution HCl/éthanol et 250mg/kg de PC d'EDTS. Un groupe essai 2 qui recevait une solution HCl/éthanol et 500mg/kg de PC d'EDTS. Un groupe référence qui recevait une solution HCl/éthanol et 100mg/kg de PC de sucralfate. L'administration de la solution HCl/éthanol a été fait après 48h de jeun et une heure après l'administration de l'extrait/référence. Après 2h, les animaux ont été sacrifiés sous légère anesthésie à l'éther puis le sang collecté dans les tubes secs pour l'obtention du sérum et le contenu l'estomac a été prélevé pour la préparation du suc gastrique. Les homogénats d'organes (estomac, foie et reins) ont été préparés. L'estomac a été fixe dans le formol 10% pour la réalisation des coupes histologiques. **Résultats.** Les résultats obtenus ont montré que l'extrait a enregistré les pourcentages de protection de 70,54%, 72,09% respectivement à la dose 250 et 500mg/kg de PC contre ulcère gastrique induit par HCl/éthanol. L'extrait a augmenté le statut antioxydant et diminué le taux de MDA dans l'estomac. **Conclusion.** L'étude a révélé que l'EDTS possède un potentiel antiulcéreux. Le mécanisme probable est l'augmentation de statut antioxydant et diminution des marqueurs pro-oxydants dans l'estomac. Les résultats nous ont permis de valider l'utilisation populaire de TS dans le traitement de l'ulcère gastrique,

ABSTRACT

Introduction. Gastric ulcer (GU) is one of the most common gastric diseases and oxidative stress plays a role in the development of gastric ulcer. Objective of this work was to evaluate the antiulcer activity of the decocted extract of *Terminalia superba* (EDTS). **Methods.** To carry out this work, an experimental study was carried out for 8 months. After the preparation of the EDTS, the antiulcer potential of the extract was evaluated using an experimental model of rats exposed to an HCl/ethanol solution. After slight acclimatization (7 days), 25 male rats of Wistar strains with an average weight of 220±6 g were used. The rats were divided into five groups of five as follows: a negative control group (NC) which received only distilled water, a positive control group (PC) which would receive an HCl/ethanol solution and distilled water, a trial group 1 which would receive an HCl/ethanol solution and 250 mg/kg of EDTS PC. A trial group 2 which would receive an HCl/ethanol solution and 500mg/kg of EDTS PC. A reference group which would receive an HCl/ethanol solution and 100 mg/kg of sucralfate PC. The administration of the HCl/ethanol solution was done after 48 hours of fasting and one hour after the administration of the extract/reference. After 2 hours, the animals were sacrificed under light ether anesthesia then the blood collected in dry tubes to obtain serum and the stomach contents were collected for the preparation of gastric juice. Organ homogenates (stomach, liver and kidneys) were prepared. The stomach was fixed in 10% formalin for histological sections. **Results.** The results obtained showed that the extract recorded the protection percentages of 70.54%, 72.09% respectively at the dose 250 and 500mg/kg of PC against gastric ulcer induced by HCl/ethanol. The extract increased the antioxidant status and decreased the level of MDA in the stomach. **Conclusion.** The study revealed that EDTS has antiulcer potential. The likely mechanism was increased antioxidant status and decreased pro-oxidant markers in the stomach. The results allowed us to validate the popular use of the herbal product in the treatment of gastric ulcer,

POINTS SAILLANTS DE L'ÉTUDE

Ce qui est connu du sujet

Une étude ethnobotanique à Yaoundé a révélé que la décoction des écorces du tronc de *Terminalia superba* est utilisée pour les problèmes gastriques. Son activité antiulcéreuse serait due à l'acide chebulinique.

La question abordée dans cette étude

Évaluer l'activité antiulcéreuse de l'extrait décocté de *Terminalia superba* (EDTS).

Ce que cette étude apporte de nouveau

L'EDTS a des propriétés de protection considérables contre ulcère gastrique induit par HCl/éthanol. Il a augmenté le statut antioxydant et diminué le taux de MDA dans l'estomac.

Les implications pour la pratique, les politiques ou les recherches futures.

Cette étude valide l'utilisation populaire de l'EDTS dans le traitement de l'ulcère gastrique.

INTRODUCTION

L'ulcère gastrique (UG) est l'une des maladies gastriques les plus courantes [1]. C'est un processus multifactoriel complexe causé par le déséquilibre entre les facteurs agressifs et protecteurs dans la muqueuse gastrique [2]. Les raisons de l'apparition comprennent la présence d'*Helicobacter pylori*, une diminution du flux sanguin, une augmentation de la sécrétion d'acide gastrique et de l'activité de la pepsine, une sécrétion déséquilibrée de sel biliaire et une diminution de la sécrétion de mucus et de bicarbonate [3]. En outre, l'UG aiguë se produit souvent en raison de la consommation d'alcool, de l'ingestion d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et du stress physiologique, psychologique ou des deux [4]. La maladie ulcéreuse gastro-duodénale est la plus prédominante des maladies gastro-intestinales avec une prévalence d'environ 40% dans les pays développés et 80% dans les pays en développement. Environ une personne sur dix souffre durant sa vie [4]. Selon Eloumou Bagnaka et al en 2013, elle représenterait près de 17,1% de cas de consultation dans les services de gastroentérologie au Cameroun.

L'éthanol est un agent bien connu qui endommage les muqueuses gastriques [4]. La consommation excessive d'éthanol est l'agent responsable de l'UG. L'éthanol peut également causer des lésions aiguës de la muqueuse gastrique [4]. Une étude réalisée par [5] a montré que le Cameroun est le deuxième pays africain qui consomme le plus d'alcool et que cette consommation augmente avec le temps. L'incidence d'ulcère gastrique pourrait donc augmenter au Cameroun de façon considérable dans les prochains jours si rien n'est fait. Il est connu que le taux d'exposition à l'éthanol active rapidement les neutrophiles, ce qui entraîne un stress oxydatif en augmentant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et des cytokines pro-inflammatoires, ce qui entraîne des dommages à la muqueuse gastrique [6].

L'excès de ROS qui causent directement des dommages oxydatifs sur les composants cellulaires et les tissus est l'incitation de lésions de la muqueuse gastrique [7]. La

réduction du stress oxydatif et la défense des cytokines pro-inflammatoires immunitaires sont généralement suggérées comme des moyens efficaces pour traiter un ulcère gastrique [8]. Le stress oxydatif et l'inflammation des muqueuses sont les principaux facteurs associés à la pathogenèse du modèle d'ulcère gastrique induit par l'acide chlorhydrique (HCl) et l'éthanol (EtOH) [9], un modèle *in vivo* couramment utilisé qui induit une érosion de la muqueuse gastrique, des saignements, une perforation et d'autres dommages [3].

Des études antérieures ont démontrées que les cytokines pro-inflammatoires et l'homéostasie oxydative, par exemple le Malondialdéhyde (MDA), catalase et la superoxyde dismutase (SOD), jouent un rôle important dans la régulation des ulcères gastriques aiguës induites par l'éthanol/HCl [10]. Par conséquent, le modèle animal UG induit par l'éthanol/HCl est souvent utilisé pour évaluer l'activité antiulcéreuse des produits naturels et des médicaments [11]. Plusieurs médicaments (tels que les inhibiteurs de la pompe à protons, les bloqueurs des récepteurs M1 et les antagonistes des récepteurs H2) ont été utilisés dans le traitement de la UG [12], mais l'utilisation continue et prolongée de ces médicaments entraînent des effets indésirables graves, notamment une dysfonction érectile, une arythmie, une gynécomastie et des changements hématopoïétiques [13].

Cependant, ces médicaments sont coûteux et moins disponibles dans les régions sous-développées. Par conséquent, récemment, les chercheurs sont devenus de plus en plus intéressés à trouver des phyto-composés biologiquement actifs plus efficaces et / ou nouveaux pour le traitement de l'UG à partir de divers produits naturels [14]. Les plus importants de ces composés sont les polyphénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les terpénoïdes [15]. Étant donné que l'UG est une maladie multi-causale, les nouveaux composés ou phytomédicaments anti-UG devraient avoir plusieurs mécanismes d'action, telles que la capacité de réduire la sécrétion gastrique, le stress oxydatif et l'inflammation, ainsi que d'améliorer la capacité défensive endogène de la muqueuse gastrique [14]. C'est dans ce sens que des auteurs [2] ont montré une activité antiulcéreuse de *Terminalia chebula* grâce à l'acide chebulinique qu'elle possède. A cet effet, le Cameroun regorge une flore riche en plante de la famille de *Terminalia*, *Terminalia superba* occupe une place importante dans la pharmacopée camerounaise.

De plus une étude ethnobotanique réalisée à Ntouessong dans l'arrondissement de Yaoundé III a révélé que la décoction des écorces du tronc de *Terminalia superba* est utilisée pour les problèmes gastriques. Son bois fait l'objet d'exploitation forestière comme bois de coffrage et ses sous-produits sont négligés (écorces, tiges, feuilles), qui généralement réduisent la fertilité des sols. Valoriser donc ses sous-produits négligés en testant confirmant son activité antiulcéreuse permettra de soulager de façon efficace les patients souffrant de l'ulcère gastrique et de réduire l'incidence de l'ulcère gastrique d'une part et d'autre part d'augmenter les revenus des filières forestières et des populations autochtones.

MATERIEL ET METHODES

Il s'agit d'une étude expérimentale préclinique in vivo réalisée sur des rats de souche *Wistar*. Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'Etudes Précliniques Animales et de Recherches Pharmacotoxiques et Pharmacocinétiques du Département de Pharmacologie et Pharmacocinétique de décembre 2020 à mai 2021 à la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé I, Cameroun.

L'approbation éthique a été demandée auprès du comité d'examen institutionnel de la Faculté (N° 008/UYI/FMSB/VDRC/CSD du 19 avril 2020), et l'autorisation a été obtenue du responsable du laboratoire pour travailler dans l'animalerie de cette Faculté. Les lignes directrices de l'Organisation de communauté et de développement économiques (OCDE) pour l'utilisation d'animaux dans les études précliniques ont été appliquées [16].

Récolte et identification du matériel végétal

La plante a été récoltée à Ntouessong dans la région du centre en décembre 2018. Des écorces fraîches et mures ont été collectées ainsi que d'autres matériels pour identification par l'herbier national. Un botaniste a identifié les échantillons de plantes de l'Herbier national en comparant le spécimen de référence : la collection botanique de Westphal n° 99674 enregistrée à l'Herbier national sous le n° 66954. /HNC

Préparation de l'extrait aqueux de plante

Les écorces fraîches ont été lavées, coupées en petits morceaux et séchées à l'air avant d'être finement réduites en poudre. Un litre d'eau distillée a été mélangé avec 100 g d'écorce de TS en poudre et porté à ébullition pendant 30 heures, filtré avec un chiffon et filtré avec du papier filtre Whatman N°2. Le liquide extrait a été évaporé à l'étuve à 50°C pendant deux jours. Une poudre sèche a été obtenue, réfrigérée dans un récipient hermétique jusqu'à son utilisation après reconstitution avec une quantité appropriée d'eau distillée. Le rendement (%) est calculé à partir de la formule : % de rendement = masse d'extrait obtenu/masse de poudre végétale initiale x 100

La formule ci-dessous :

$$Rd = \frac{\text{masse de l'extrait obtenu}}{\text{masse des constituants initiaux}} \times 100$$

Matériel animal

Les expériences ont été réalisées sur des rats de souche *Wistar* adultes de l'Animalerie de la Faculté. Les animaux ont été identifiés par une carte de cage et des marqueurs corporels en gras correspondants. Les animaux ont été soumis à une observation générale pour s'assurer que les rats sélectionnés étaient en bonne santé. Les rats ont été sélectionnés au hasard pour être finalement affectés à l'étude. Au total, 25 rats ont été nécessaires pour les expériences : La masse moyenne des rats utilisés dans l'étude était de 62,1 g, valeur utilisée pour le calcul de la dose.

Alimentation et hébergement

Tous les rats ont été gardés dans des cages à 25 ± 2°C, recevant de l'eau du robinet et un régime alimentaire standard en granulés. Le régime était composé d'un

mélange de semoule de maïs (45 %), de farine de blé (20 %), de farine de poisson (20 %), de farine de soja (10 %), de palmiste (5 %), de farine d'os pour l'apport en calcium (0,98 %), sel de cuisine (0,5 %) et complexe vitaminique (0,5 %). Ils ont été exposés à un cycle lumière-obscurité de 12 h : 12 h à une humidité de 50 à 60 % dans une salle pour animaux. Les rats ont été regroupés dans des cages recouvertes d'acier inoxydable selon un assortiment aléatoire. Les substances testées ont été administrées à l'aide d'aiguilles d'intubation (seringues adaptées). La dose administrée à des rats individuels a été calculée en fonction de leur poids corporel moyen.

Evaluation de l'activité antiulcéreuse

Préparation et administration de l'extrait

Nous avons préparé une solution de concentration 100mg/mL. 10 mL de solution ont été obtenus à partir de 1000 mg d'extrait et de l'eau distillée (quantité suffisante pour 10mL de solution). Ensuite nous avons homogénéisé le mélange à l'aide d'un agitateur magnétique. A partir de cette solution, le mélange a été administré aux rats des groupes III et IV en fonction de leurs poids respectifs aux doses suivantes : 250mg/kg et 500mg/kg.

➤ Solution du médicament de référence (Sulcrafate) :

Nous avons préparé une solution de concentration 100mg/mL. 10 mL de solution ont été obtenus à partir de 1000 mg de sucralfate et de l'eau distillée (quantité suffisante pour 10mL de solution). Ensuite, nous avons homogénéisé le mélange à l'aide d'un agitateur magnétique. A partir de cette solution, le mélange a été administré aux rats de groupe V (control positif) en fonction de leurs poids à la dose de 100 mg/kg.

Induction des ulcères

Le modèle expérimental employé pour induire les ulcères gastriques est le gavage du mélange HCl / EtOH (150 mM/60 %) [17].

Les animaux séparés en cinq groupes de cinq chacun ont été gardés dans les cages à fonds grillagés pour éviter la coprophagie et soumis à un jeûne de 14 heures avec accès libre à l'eau de boisson (*ad libitum*). Une heure avant l'administration des différentes solutions, cette eau a été retirée. Ensuite, le premier (control négatif) groupe d'animaux a reçu uniquement le véhicule (l'eau distillée), le deuxième (CP) ayant reçu uniquement l'EtOH/ HCl, le troisième et quatrième groupe ont reçu l'EDTS et le cinquième groupe a reçu le médicament de référence. Une heure après administration de ces différentes drogues par voie orale, tous les animaux recevront 5mL/kg du mélange HCl / EtOH (150 mM/60 %) Connaissant le poids des animaux, le volume de solution administré (Va) a été déterminé à partir de la formule de Tan et al [18] :

$$Va(\text{mL}) = \frac{\text{Dose (mg/kg) x poids (kg)}}{\text{concentration(mg/mL)}}$$

Deux heures après le traitement à l'alcool, tous les animaux ont été anesthésiés par un excès d'éther puis sacrifiés et disséqués. Le sang a été collecté dans les tubes secs pour la préparation du sérum et de l'hémolyât. Chaque estomac a été ligaturé au niveau de l'œsophage et du pylore à l'aide de fils à suture, puis prélevé. Le contenu

de l'estomac a été recueilli dans les tubes Falcon et centrifugé à 3000 trs/min pendant 15 min. Le poids du mucus correspondant au culot de centrifugation est pesé à l'aide d'une microbalance (Sartorius : Basic), le volume du suc gastrique du surnageant est mesuré à l'aide d'un tube à essai gradué. Le pH de chaque suc gastrique recueilli a été mesuré à l'aide d'un pH mètre. L'acidité totale a été déterminée en titrant le suc gastrique avec le NaOH 0,01 N en présence de la phénophtaléine selon la méthode de Kalaivani.M [19]. Les estomacs ont été ouverts le long de la grande courbure et rincés par une solution de chlorure de sodium (NaCl) 0,9%. Les lésions ont été mesurées à l'aide d'une règle graduée et la surface ulcérée (SU) de chaque rat a été déterminée. Le pourcentage de protection (%P) des ulcères a été déterminé en fonction du lot témoin négatif suivant la formule de Njar et al [20].

$$\% P = \frac{\text{SU du Control négatif} - \text{SU lot test}}{\text{SU du Control négatif}} \times 100$$

Le foie, le rein et l'estomac ont été prélevés et ont servi à la préparation des homogénats. L'estomac a été fixé dans le formol 10% pour les analyses histologiques. Le sérum, l'hémolysât et les homogénats ont servis pour évaluer les paramètres du stress oxydatifs

Dosage des marqueurs du stress oxydant

➤ Dosage de Malondialdéhyde (MDA) [21]

Principe

Les composés carbonylés à l'instar du Malondialdéhyde réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose absorbant à une longueur d'onde de 532 nm.

Préparation des réactifs

Trois cent soixante-quinze (375) mg de TBA, 20 g de TCA, 0,01 g de BHT, 25 mL de HCl 1 N et 50 mL d'eau distillée ont été introduits dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40 °C dans un bain Marie jusqu'à solubilisation complète du TBA, puis transférée dans une fiole de 100 mL et le volume complété avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

Mode opératoire

On a pipeté dans des tubes à essai en verre 100 µL d'échantillon, 1000 µL de réactif TBA et fermer hermétiquement. Le mélange est chauffé au bain Marie à 100 °C pendant 15 min puis refroidit dans un bain d'eau froide pendant 30 min en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction et centrifugé à 3000 tours/min pendant 5 min à 25 °C. L'absorbance du surnageant est lue à 532 nm. La concentration du MDA a été déterminée en utilisant son coefficient d'extinction moléculaire ($\epsilon = 1,53 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

➤ Evaluation de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)

Principe

La méthode est basée sur le fait que la SOD présente dans l'échantillon inhibe l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome de couleur rose et qui absorbe à 480 nm [22].

Mode opératoire

Un volume de 0,2 mL d'échantillon a été ajouté à 2,5 mL de carbonate de sodium. La réaction a commencé après ajout de 0,3 mL d'adrénaline fraîchement préparé dans le tampon. Après mélange, la DO a été lue à 480 nm à 0s et à 120 secondes. La cuve de référence contenait 2,5 mL de tampon ; 0,3 mL de substrat d'adrénaline et 0,2 mL d'eau distillée.

i) Expression des résultats

Une unité de SOD est la quantité de SOD nécessaire pour entraîner 50% d'inhibition de l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome pendant une minute.

$$\Delta DO \text{ min} = \frac{DO_2 - DO_1}{2}$$

$DO_1 = DO$ à $t = 0s$;

$DO_2 = DO$ à $t = 120s$;

% d'inhibition = $[(\Delta DO \text{ du blanc} - \Delta DO \text{ échantillon}) / \Delta DO \text{ du blanc}] \times 100$;

50 % d'inhibition = 1 unité ;

X % inhibition = y unités ;

SOD unité/mL = $y \cdot 5$.

SOD unités/mg protéines

$$= \frac{\text{SOD unité/mL}}{\text{Protéines mg/mL}} \times \text{facteur de dilution}$$

Voir pour la méthodologie de dosage des protéines totales.

➤ Détermination de l'activité de la catalase

Principe

Cette méthode est basée sur le fait que la catalase présente dans l'échantillon hydrolyse le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. Le H_2O_2 restant après action de la catalase se lie au dichromate de potassium pour former un précipité bleu vert d'acide perchlorique instable. Ce dernier va ensuite être décomposé par la chaleur pour former un complexe vert qui absorbe à la longueur d'onde de 620nm. L'activité de la catalase proportionnelle à la DO est déterminée grâce à la courbe d'étalonnage [23].

Mode opératoire

- Préparation des tubes pour l'étalonnage de la catalase

Tableau 1 : Etalonnage de la catalase

N° tubes	1	2	3	4
H_2O_2 (µL)	0	20	40	80
H_2O (µL)	1000	980	960	920
Volume dichromate / acide acétique (mL)	1	1	1	1
Mesurer les absorbances à 620 nm				

- Préparation des tubes essai et témoin

Dans un tube à essai, on a introduit successivement 50 µL d'échantillon et 700 µL de tampon phosphate. A ce mélange, l'on ajoute 200 µL de peroxyde d'hydrogène (50 mM). Le chronomètre a été enclenché après ajout de 2 mL de Dichromate/ acide acétique et la réaction arrêtée après 60s. Les tubes témoins ont été simultanément effectués et tous les tubes ont été chauffés à 100°C pendant 10min. Après refroidissement, la DO a été lue à 620 nm.

Expression des résultats

L'activité de la catalase est exprimée en mM de peroxyde d'hydrogène consommés/min/mg de protéines en utilisant

la courbe d'étalonnage. Le dosage des protéines a été réalisé conformément au protocole suivant.

➤ Dosage des protéines totales [24]

Principe

La méthode de Lowry de détermination de la concentration en protéine est basée sur la capacité des groupements azotés des peptides à réagir avec les ions cuivriques (Cu^{2+}) dans les conditions alcalines et sur la réduction de manière subséquent de l'acide phosphomolybdicphosphotungstique du réactif de Folin-Ciocalteu en hétéropolymolybdénium de couleur bleu par l'oxydation des acides aromatiques catalysés par le cuivre.

Mode opératoire

100 μL d'échantillon sont introduits dans un tube à essai avec 1 mL du réactif 1. Le mélange est incubé à température ambiante pendant 10 minutes ensuite 100 μL du réactif 2 sont ajoutés. Le mélange est incubé à température ambiante pendant 30 minutes. La densité optique est lue à 750 nm contre le blanc (eau distillée représentant l'échantillon). L'albumine a été utilisée comme étalon.

Calculs

$$\text{Concentration en protéines (g/L)} = \frac{\text{Absorbance de l'essai}}{\text{Absorbance de l'étalon}} \times \text{Concentration de l'étalon}$$

Concentration de l'étalon

Concentration de l'étalon albumine = 50 g/L

II.5.4. Réalisation des coupes histologiques de l'estomac

Les techniques d'études histologiques utilisées dans ce travail sont des techniques fondamentales décrites par Smith et Bruton. Elles consistent en : la fixation, le trimming, la déshydratation, l'inclusion, la coupe, la coloration et le montage.

Fixation

Les organes, une fois prélevés, ont été fixés dans le formol à 10 %. Le but de la fixation est de préserver les cellules et les constituants tissulaires dans un état aussi proche que possible de celui du vivant et de permettre au tissu de passer par les étapes de la technique histologique sans changement ni déformation.

Trimming

Les différents organes fixés sont sectionnés suivant un plan transversal et disposés dans des cassettes en matière plastique et étiquetées.

Déshydratation et imprégnation

La déshydratation, souvent aussi appelée circulation, comporte trois étapes : la déshydratation elle-même, l'éclaircissement et l'imprégnation.

- **La déshydratation**

La paraffine n'étant pas miscible avec l'eau, les tissus fixés étaient débarrassés de toute trace d'eau avant de pouvoir être inclus dans ce milieu. Pour ce procédé, 8 bacs d'alcool ont successivement été utilisés à raison de deux heures dans chaque bac dans l'ordre ci-après : 1 bac d'éthanol à 80 % (1 x 2 h), 4 bacs d'éthanol à 95 % (4 x 2 h), et 3 bacs d'alcool absolu (3 x 2 h).

- **L'éclaircissement**

Elle consiste à remplacer la solution de déshydratation par un solvant miscible dans le milieu d'inclusion. C'est une étape de transition réalisée par des hydrocarbures benzéniques, à l'instar du xylène. Ainsi, après

déshydratation, deux bains dans du xylène (2 x 2 heures) ont suffi pour réaliser cette opération.

- **L'imprégnation**

Pour obtenir des coupes fines, il est nécessaire d'incorporer dans les tissus une substance neutre qui durcit les fragments. La substance utilisée était la paraffine. L'imprégnation consiste au remplacement de l'eau des cellules et des tissus par la substance neutre qui durcit les prélèvements. Les cassettes contenant les fragments d'organes ont séjourné 4 heures (2 heures x 2 bains) dans de la paraffine chaude et liquide.

➤ Inclusion

L'inclusion fournit un support externe aux tissus, ce qui facilite la réalisation de coupes au microtome. Les tissus sont placés dans des moules en inox remplis de paraffine en fusion (60°C) qui est mise à solidifier sur une surface froide (-4°C) après orientation appropriée du tissu dans le bloc.

➤ Coupes

Les blocs obtenus ont été coupés sur un microtome à volant de marque Leitz wetzlar. Des rubans de coupes de 5 μm d'épaisseur obtenus ont été étalés dans un bain-marie de température 40°C contenant de l'eau gélatinée. Au moyen de lames porte-objet propres et étiquetées, les coupes ont été recueillies et séchées à l'étuve à 45°C pendant 24 heures.

➤ Coloration

Les colorations permettent de visualiser les constituants cellulaires et tissulaires, en leur faisant capter et fixer des colorants de façon plus ou moins sélective. La technique de coloration utilisée est la technique usuelle et classique de coloration des préparations histologiques, la coloration à l'hématoxyline-éosine, dans laquelle l'hématoxyline colore les constituants acides en bleu-violacé et l'éosine les constituants basiques en rose-rouge. La procédure de coloration s'est déroulée en deux étapes :

- **Déparaffinage et réhydratation**

Il s'agit d'une étape au cours de laquelle les coupes sont débarrassées de la paraffine dans des bains de xylène et réhydratées dans des bains d'alcool à des concentrations décroissantes jusqu'à l'eau distillée. Chaque bain ayant une durée de 5 minutes.

- **Coloration proprement dite**

Après déparaffinage, les lames contenant les coupes d'organes, sont successivement passées dans les bains d'Hématoxyline de Harris, d'eau de robinet, d'alcools à 70 et 95 %, d'éosine alcoolique et enfin d'eau de robinet. Ceci s'est fait à raison de 5 minutes par bain.

➤ Montage

Il permet de protéger les coupes par une fine lamelle de verre et de les conserver. Le milieu de montage étant de la résine synthétique (baume de Canada) non miscible à l'eau, les coupes doivent être déshydratées avant d'être montées. Cette opération se fait en deux étapes : la première consiste en la déshydratation dans trois bains d'alcool absolu (3 x 5 minutes) et en l'éclaircissement dans trois bains de xylène (3 x 5 minutes).

Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel Statistical Package for

Social Science (SPSS) version 20.0 pour Windows. Le test ANOVA couplée à un test Post Hoc (Turkey) a été utilisé pour analyser les résultats des dosages des paramètres biochimiques ; au seuil de significativité de 5 %. Les résultats ont été représenté sous forme de moyenne \pm écart types ; avec les essais effectués en triplicate. Le logiciel Microsoft Excel 2016 pour Windows a été utilisé pour les représentations graphiques

RESULTATS

Rendement

Le rendement d'extraction de l'extrait aqueux de l'écorce de TS est de 11,97 %

Effet de l'EDTS sur les lésions gastriques induites par le HCl/éthanol

Les résultats du **tableau 2** montrent que l'administration orale de la solution HCl/éthanol au niveau de l'estomac a réduit significativement ($p < 0,05$) le pH du suc gastrique et augmenter significativement ($p < 0,05$) la surface ulcéreuse, la concentration en HCl en comparaison avec le Contrôle Normale. Toutefois aucune différence significative n'a été note au niveau du poids du mucus, volume du suc gastrique dans le CP en comparaison avec le CN. Administration de l'EDTS a la dose de 250 et 500 mg/kg de poids corporel a significativement ($p < 0,05$) empêché la diminution du pH du suc gastrique et significativement ($p < 0,05$) empêché l'augmentation de la surface ulcéreuse et la production de l'acidité totale en comparaison avec le Contrôle Positif (CP). Le traitement avec le sucralfate a été associé à une augmentation de façon significative ($p < 0,05$) le pH du suc gastrique et une réduction significative ($p < 0,05$) de la surface ulcéreuse en comparaison avec le CP. Cependant aucune différence significative n'a été note au niveau de la surface ulcéreuse, du volume du suc gastrique, du poids du mucus et acidité totale entre le groupe traite au sucralfate et les groupes

traités à EDTS à la dose de 250 et 500mg/kg de PC. Une différence significative ($p < 0,05$) a été enregistré pour le pH du suc gastrique au niveau du groupe traite au médicament de référence en comparaison aux groupes traités à l'EDTS.

Les pourcentages de protection étaient de 70,54%, 72,09% et 61,24% respectivement pour le groupe traite à 250mg/kg de PC d'EDTS et 500mg/kg de PC d'EDTS, 100mg/kg de PC de sucralfate.

Prévention de la détérioration du statut antioxydant sériques et tissulaires chez les rats ayant reçu Ethanol/HCl

➤ Effet de l'EDTS sur un marqueur du statut pro-oxxydant chez les rats ayant reçu Ethanol/HCl

L'effet de l'EDTS sur la concentration en malondialdéhyde tissulaire et sérique consigné dans le **tableau 3** montre qu'au niveau du sérum, foie, rein et estomac la concentration en MDA était plus élevée ($p < 0,05$) chez le CP par rapport CN. L'administration de l'EDTS a entraîné un taux de MDA plus bas ($p < 0,05$) dans tous les compartiments par rapport au CP. Cependant, le sucralfate a entraîné un taux de MDA plus élevé ($p < 0,05$) dans le rein, par rapport à l'EDTS.

➤ Effet de l'EDTS sur quelques marqueurs enzymatiques du stress oxydatif

Les résultats sur les paramètres enzymatiques (superoxyde dismutase, catalase) du statut antioxydant sont présentés comme suit :

➤ Effet de l'EDTS sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) cytoplasmique

Le **tableau 4** nous révèle que, la solution ethanol/HCl a entraîné une activité de la SOD plus basse ($p < 0,05$) dans l'hémolysât, foie et l'estomac par rapport au CN. L'administration de l'EDTS a entraîné une activité de la SOD élevée ($p < 0,05$) dans l'hémolysât, foie et l'estomac par rapport au CP.

Tableau 2 : Effet de l'EDTS sur les lésions gastriques induites par le HCl/éthanol chez le rat.

Groupes	Ph	V (mL)	Poids du mucus (mg)	HCl (mg/mL)	Surface ulcère mm ²	% Protection
CN (H ₂ O distillée)	1,8 \pm 0,06 ^a	1,2 \pm 0,17	289 \pm 36,07	2,31 \pm 1,1 ^a	0 ^a	0 ^a
CP (EtOH/HCl + eau distillée)	0,9 \pm 0,04 ^b	1 \pm 0,14	245,5 \pm 4,01	3,12 \pm 0,45 ^b	32,2 \pm 2,25 ^{ab}	0 ^{ab}
E250 (EtOH/HCl + 250mg/kg de PC EDTS)	1,4 \pm 0,12 ^c	0,8 \pm 0,17	378,5 \pm 44,4	2,98 \pm 0,97 ^{bc}	9,5 \pm 0,86 ^c	70,54 \pm 2,68 ^c
E500 (EtOH/HCl + 500mg/kg de PC EDTS)	1,43 \pm 0,1 ^c	0,9 \pm 0,08	304,5 \pm 98,2	2,87 \pm 1,03 ^{bc}	9 \pm 0,4 ^c	72,09 \pm 1,26 ^c
REF (EtOH/HCl + 100mg/kg de PC de Sucralfate)	1,9 \pm 0,02 ^{ad}	1 \pm 0,16	385 \pm 122,6	2,94 \pm 0,75 ^{bc}	12,5 \pm 1,32 ^c	61,24 \pm 4,1 ^d

Valeurs exprimées en moyenne \pm écart type; n = 5. CN : Contrôle Normale ; CP : Contrôle positif ; EDTS : extrait décocté d'écorces de *Terminalia Superba* ; Les groupes affectés des lettres différentes dans la même colonne ont montré une différence significative ($p < 0,05$).

Tableau 3 : Effet d'EDTS sur le taux de Malondialdéhyde

[MDA] _{μM}	Sérum	Foie	Rein	Estomac
CN (H ₂ O distillée)	0,466 \pm 0,09a	0,245 \pm 0,04 ^a	0,272 \pm 0,01 ^a	0,135 \pm 0,02 ^a
CP (EtOH/HCl + eau distillée)	0,978 \pm 0,12 ^b	0,435 \pm 0,02 ^b	0,515 \pm 0,12 ^b	0,385 \pm 0,09 ^b
E250 (EtOH/HCl + 250mg/kg de PC EDTS)	0,563 \pm 0,09 ^a	0,565 \pm 0,1 ^b	0,285 \pm 0,05 ^a	0,211 \pm 0,03 ^c
E500 (EtOH/HCl + 500mg/kg de PC EDTS)	0,751 \pm 0,07 ^c	0,295 \pm 0,09 ^a	0,765 \pm 0,1 ^c	0,124 \pm 0,04 ^a
REF (EtOH/HCl + 100mg/kg de PC de Sucralfate)	0,741 \pm 0,101 ^c	0,265 \pm 0,05 ^a	0,465 \pm 0,02 ^b	0,265 \pm 0,02 ^c

Valeurs exprimées en moyenne \pm écart type; n = 5. CN : Contrôle Normale ; CP : Contrôle positif ; EDTS : extrait décocté d'écorces de *Terminalia Superba* ; Les groupes affectés des lettres différentes dans la même colonne ont montré une différence significative ($p < 0,05$).

Tableau 4 : Effet préventif d'EDTS sur l'activité de la SOD

SOD (unités/mg de protéine)	Hémolysât	Foie	Rein	Estomac
CN (H ₂ O distillée)	1,27 ± 0,2 ^a	1,47 ± 0,04 ^a	1,17 ± 0,39 ^a	1,12 ± 0,09 ^a
CP (EtOH/HCl + eau distillée)	0,9 ± 0,45 ^b	1,1 ± 0,34 ^b	1,01 ± 0,08 ^a	0,8 ± 0,35 ^b
E250 (EtOH/HCl + 250mg/kg de PC EDTS)	1,2 ± 0,08 ^a	1,5 ± 0,3 ^a	1,02 ± 0,46 ^a	1,1 ± 0,46 ^a
E500 (EtOH/HCl + 500mg/kg de PC EDTS)	1,4 ± 0,12 ^c	1,7 ± 0,1 ^c	1,8 ± 0,39 ^b	2,17 ± 0,9 ^c
REF (EtOH/HCl + 100mg/kg de PC de Sucralfate)	1,1 ± 0,5 ^a	2,1 ± 0,34 ^d	1,3 ± 0,53 ^c	1,4 ± 0,35 ^d

Valeurs exprimées en moyenne ± écart type; n = 5. CN : Contrôle Normale ; CP : Contrôle positif ; EDTS : extrait décocté d'écorces de *Terminalia Superba* ; Les groupes affectés des lettres différentes dans la même colonne ont montré une différence significative (p<0,05).

Tableau 5 : Effet préventif d'EDTS sur l'activité de la catalase

CATALASE (µM H ₂ O ₂ cons/mn/mg prot)	Hémolysât	Foie	Rein	Estomac
CN (H ₂ O distillée)	3,1±0,002 ^a	2,85±0,057 ^a	1,6±0,006 ^a	2,7±0,19 ^a
CP (EtOH/HCl + eau distillée)	6,3±1,25 ^b	6,63±1,726 ^b	2,5±0,84 ^b	0,9±0,3 ^b
E250 (EtOH/HCl + 250mg/kg de PC EDTS)	3,9±1,24 ^c	4,89±1,203 ^c	0,98±0,28 ^c	1,2±0,45 ^c
E500 (EtOH/HCl + 500mg/kg de PC EDTS)	14,72±0,592 ^d	7,92±0,911 ^d	3,56±0,97 ^d	1,2±0,22 ^c
REF (EtOH/HCl + 100mg/kg de PC de Sucralfate)	12,15±4,6 ^d	8,5±2,4 ^d	3,48±1,09 ^d	2,01±0,7 ^a

Valeurs exprimées en moyenne ± écart type; n = 5. CN : Contrôle Normale ; CP : Contrôle positif ; EDTS : extrait décocté d'écorces de *Terminalia Superba* ; Les groupes affectés des lettres différentes dans la même colonne ont montré une différence significative (p<0,05).

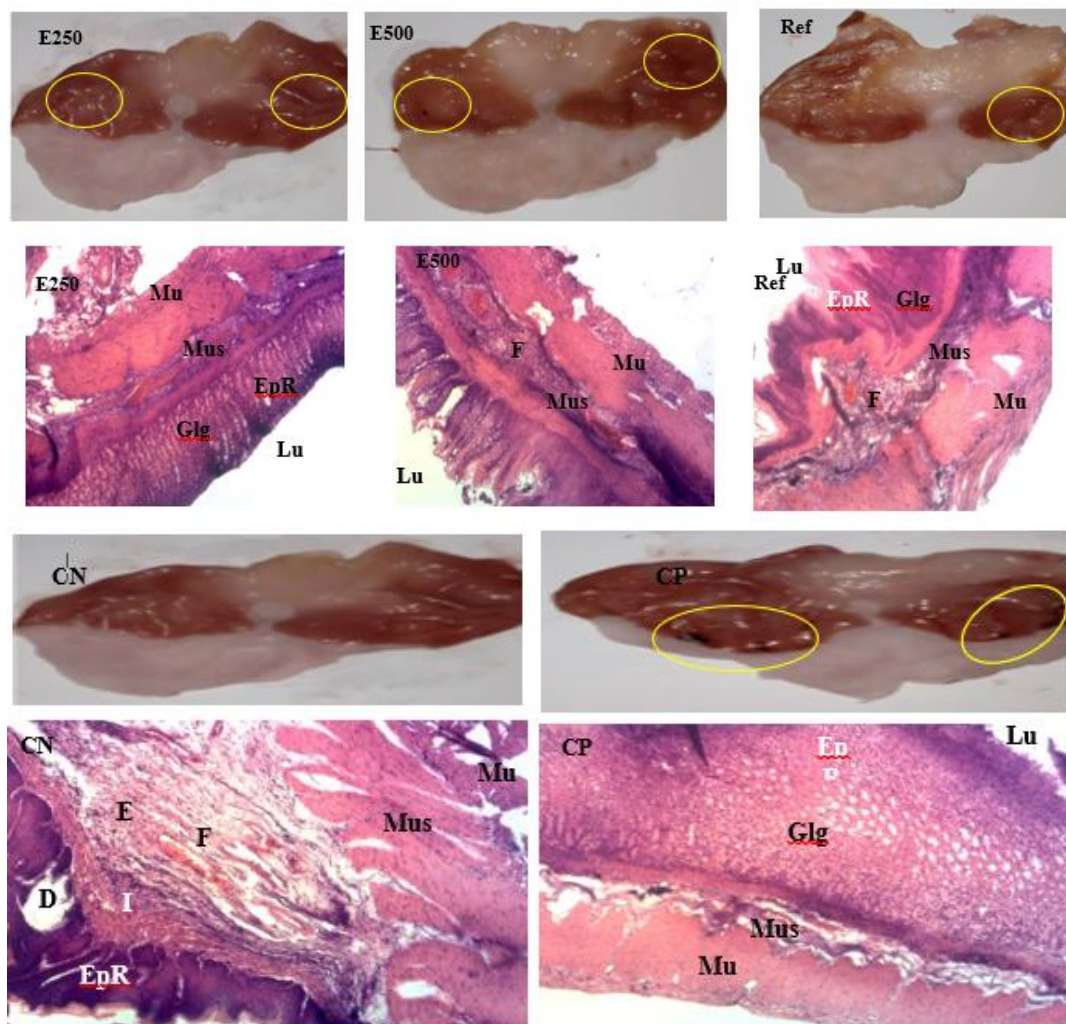


Figure 1 : Microphotographies des coupes d'estomac chez les rats Wistar.

Hématoxyline & éosine ; 40X. CPF = Témoin normal femelle (Eau distillée 10 mL/kg) ; CPM = Témoin normal mâle (Eau distillée 10 mL/kg) ; CN = Témoin négatif-(Substance administrée + Eau distillée en traitement 10 mL/kg) ; REF = Témoin positif (substance administrée + dose) ; E 100 = Extrait aqueux de XXX (100 mg/kg) ; E 200 = Extrait aqueux de XXX (200 mg/kg). Lu : Lumière ; EpR : Epithélium de revêtement ; Glg : Glande gastrique ; Mus : Muscularis mucosae ; Mu : Couche musculaire ; I : Infiltration leucocytaire ; D : Destruction de la couche muqueuse superficielle ; E : Edème.

Cependant, le sucralfate a entraîné une activité élevée ($p < 0,05$) de la SOD dans le foie et plus basse ($p < 0,05$) dans l'hémolysât, le rein et l'estomac par rapport au groupe recevant l'EDTS

➤ Effet de l'EDTS sur l'activité de la catalase

Les résultats du **tableau 5** révèlent qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) de l'activité de la catalase dans l'hémolysât, le foie, le rein et estomac du groupe CP en comparaison avec le groupe CN. Cependant, L'EDTS aux deux doses ont entraîné une activité plus élevée ($p < 0,05$) dans tous les quatre compartiments en comparaison au CP. Aucune différence significative n'a été notée dans les groupes traités avec la dose 250 mg/kg de PC et 500 mg/kg de PC. En outre, dans le groupe ayant reçu le médicament de référence nous avons enregistré aucune différence significative de l'activité de la catalase (hémolysât, foie et rein) par rapport au groupe ayant reçu EDTS à la dose de 500mg/kg de PC. Toute fois au niveau de l'estomac une différence significative a été notée entre le groupe ayant reçu le médicament de référence et les groupes ayant reçus l'EDTS.

➤ Etude histologique de l'effet EDTS sur l'estomac des rats exposés à la solution HCl/EtOH

Les résultats Microphotographies des coupes d'estomac des rats exposés à la solution HCl/EtOH présentés dans la **figure 1** montre les coupes histologiques des estomacs des rats présentant des ulcères gastriques aigus simples induits par (HCl/EtOH). Les rats des groupes non ulcérés présentent des muqueuses et sous-muqueuses gastriques normales. Comparés à ces animaux normaux, bien que l'ulcération chez le contrôle positif n'ait pas créé de cratères ulcéreux profonds avec une perte de substance superficielle, il y'a néanmoins eu une légère destruction glandulaire, une invasion leucocytaire, une fibrose, et un œdème. Les rats du lot traité à la substance de référence présentent une muqueuse normale avec disparition de l'œdème mais avec persistance d'une légère fibrose. Les rats traités aux extraits de plante ont présenté une muqueuse normale, avec une récupération quasi totale des glandes gastriques, une disparition de l'œdème mais une légère persistance de la fibrose.

DISCUSSION

Dans l'optique de contribuer à la valorisation de la médecine traditionnelle, la présente étude a été menée pour évaluer l'activité antiulcéreuse à base d'extrait aqueux des écorces du tronc de TS

Pour atteindre notre objectif, nous avons préparé l'EDTS. Il a été question pour nous par la suite pour la suite du travail d'évaluer le potentiel gastro-protecteur de l'EDTS. L'ulcère gastrique est associé à des facteurs multipathogènes qui perturbent l'équilibre naturel entre les mécanismes de défense endogènes de la muqueuse et les facteurs d'agression de la muqueuse [2]. Des modèles expérimentaux ulcérogènes impliquant l'alcool, l'hypersécrétion de HCl, les AINS et le stress sont donc conçus pour faire pencher l'équilibre en faveur de la génération d'ulcères gastriques [25], et la capacité des agents antiulcéreux candidats à atténuer et éventuellement à bloquer la sécrétion d'acide gastrique ou à renforcer les

mécanismes de défense de la muqueuse est évaluée. Les résultats présentés ici montrent que l'extrait décocté de TS a protégé (70,54%, 72,09% respectivement à la dose 250 et 500mg/kg de PC) la muqueuse gastrique contre les dommages induits par le mélange HCl/EtOH, modèle couramment utilisé pour évaluer l'ulcération gastrique chez les rongeurs. La solution HCl/EtOH irrite directement la muqueuse gastrique, réduit la résistance de la muqueuse et érode la barrière de la muqueuse. La solution HCl/EtOH provoque des lésions de la muqueuse gastrique par la libération de médiateurs dérivés des tissus tels que l'histamine et le leucotriène C4 ainsi que par une nécrose cellulaire superficielle agressive. L'action de ces médiateurs sur la microvasculature gastrique entraîne la destruction des tissus gastriques muqueux et sous-muqueux [26]. L'effet protecteur de l'extrait n'était pas accompagné d'une augmentation significative de la production de mucus, ce qui suggère des effets inhibiteurs importants sur la génération des médiateurs destructeurs dérivés des tissus, ou l'inhibition de leur action sur la microvascularisation gastrique [27]. La microcirculation réduite peut avoir un impact négatif sur la sécrétion du bicarbonate et du mucus par l'épithélium gastrique et duodénal et sur la prolifération des cellules épithéliales [27]. Résultat sont en accord avec les travaux de [38] qui ont obtenu un pourcentage de protection 30,43% contre l'ulcère gastrique avec extrait aqueux *Combretum glutinosum* (Combretaceae)

L'acide gastrique joue un rôle majeur dans la pathogenèse des ulcères gastriques [8]. La sécrétion d'acide gastrique est médiée par l'enzyme $H^+/K^+-ATPase$ ou par la pompe à protons localisée sur la membrane luminale des cellules pariétales [28]. La solution HCl/EtOH a augmenté la production de l'acidité, l'EDTS aux deux doses (250 et 500 mg/kg de PC) a réduit l'acide gastrique. Dans l'ulcère induit par HCl/EtOH, l'acide intraluminal doit être présent pour que les lésions de la muqueuse se produisent [27]. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Jo et al. [28] qui ont montré l'effet de l'extrait de graines de *Cochinchina momordica* sur la sécrétion d'acide gastrique et le changement morphologique dans l'estomac de rat âgé.

En outre, le modèle stimule également la production de radicaux libres dérivés de l'oxygène par les cellules endothéliales et les neutrophiles polymorphonucléaires. Les radicaux libres, entre autres mécanismes, provoquent des lésions tissulaires en induisant une ischémie et des lésions des cellules endothéliales vasculaires par peroxydation des lipides membranaires, mais les antioxydants endogènes (superoxyde dismutase, glutathion et catalase) sont efficaces pour réduire les effets néfastes des radicaux libres sur la muqueuse gastrique. Les neutrophiles produisent également des médiateurs pro-inflammatoires qui inhibent la guérison des ulcères gastriques [29].

Chez le contrôle positif, la solution HCl/EtOH a également augmenté le taux MDA dans l'estomac, le principal produit de la peroxydation des lipides de la membrane cellulaire, EDTS aux deux doses ont bloqués de manière significative la production de MDA après exposition de la solution HCl/EtOH. La SOD convertit les

radicaux libres superoxyde en H₂O₂ qui est ensuite dégradé par la catalase [30], l'EDTS a augmenté l'activité de la SOD et de la catalase. Ces résultats sont la preuve de l'amélioration du statut antioxydant des animaux induite par l'administration de l'EDTS. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Christophe et al [31] qui ont montré que l'extrait aqueux d'écorce de racine de *Cassia arereh Del* améliore le statut antioxydant au niveau de l'estomac des rats ulcéreux. L'étude histologique a révélé que les rats traités aux deux doses EDTS ont présentés une muqueuse normale, avec une récupération quasi totale des glandes gastriques, une disparition de l'œdème mais une légère persistance de la fibrose. Résultat similaire à ceux obtenus par les travaux de [32] qui ont obtenus le même effet avec l'extrait méthanolique de feuille de *P. niruri*.

Le potentiel gastroprotecteur de l'EDTS est dû aux composés bioactifs qu'il possède. Les polyphénols, flavonoïdes et alcaloïdes sont les composés bioactifs responsable de l'activité antiulcéreuse [33].

CONCLUSION

TS appartient à l'ordre Myrtales et la famille, des Combrétacées qui occupe une place importante dans la médecine traditionnelle africaine. Dans la médecine traditionnelle africaine, les différentes parties de TS sont utilisées ou en combinaison avec d'autres plantes dans le traitement de plusieurs maladies. Les écorces fraîches sont utilisées dans la région du centre Cameroun pour le traitement de l'ulcère gastrique et certaines maladies fréquentes et récurrentes donc le traitement conventionnel est long et parfois sans succès. Nous pouvons conclure que les fractions d'extraits ont inhibées les ulcères gastriques de manière préventive induits chez les rats males par l'éthanol de manière dose-dépendante à 500mg/kg, cette extrait inhibe les ulcères, diminue le poids du mucus libre, le volume de la concentration du suc gastrique et la concentration de la pepsine. Les effets à 500mg/kg étaient supérieurs à ceux du sucralfate à 100mg/kg. Cet extrait inhiberait donc les ulcères par une action gastro-protectrice et antioxydant.

Le décocté de l'écorce du tronc de TS possède un potentiel antiulcéreux, ce potentiel peut être attribué à sa capacité à augmenter le statut antioxydant et à réduire la production des pro-oxydants.

REFERENCES

[1] Simona F, Ana-Maria P, Ghiciuc C, Lupșoru¹ E. Particularities of Experimental Models Used to Induce Gastric Ulcer. *ARS Medica Tomitana* 2020;25. <https://doi.org/10.2478/arsm-2019-0035>.

[2] Negi P, Gautam S, Sharma A, Rathore C, Sharma L, Upadhyay N, et al. Gastric ulcer healing by chebulinic acid solid dispersion-loaded gastroretentive raft systems: preclinical evidence. *Ther Deliv* 2022;13:81–93. <https://doi.org/10.4155/tde-2021-0062>.

[3] Beiranvand M. A review of the most common in vivo models of stomach ulcers and natural and synthetic anti-ulcer compounds: A comparative systematic study. *Phytomedicine Plus* 2022;2:100264. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2022.100264>.

[4] Rahman Z, Dwivedi D, Jena G. Ethanol-induced gastric ulcer in rats and intervention of tert-butylhydroquinone: Involvement of Nrf2/HO-1 signalling pathway. *Hum Exp*

Toxicol 2020;39:547–62. <https://doi.org/10.1177/0960327119895559>.

[5] Admin. Alcohol consumption in Cameroon | CPSDACWA CAMEROON n.d. <https://cpsdacwa.com/alcohol-consumption-in-cameroon/> (accessed June 8, 2022).

[6] Yu C, Mei X-T, Zheng Y-P, Xu D. Gastroprotective effect of taurine zinc solid dispersions against absolute ethanol-induced gastric lesions is mediated by enhancement of antioxidant activity and endogenous PGE₂ production and attenuation of NO production. *European Journal of Pharmacology* 2014;740. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.014>.

[7] Bhattacharjee S. ROS and Oxidative Modification of Cellular Components. In: Bhattacharjee S, editor. *Reactive Oxygen Species in Plant Biology*, New Delhi: Springer India; 2019, p. 81–105. https://doi.org/10.1007/978-81-322-3941-3_4.

[8] Hama Amin RR, Aziz TA. Gastroprotective Effect of Azilsartan Through Ameliorating Oxidative Stress, Inflammation, and Restoring Hydroxyproline, and Gastrin Levels in Ethanol-Induced Gastric Ulcer. *J Inflamm Res* 2022;15:2911–23. <https://doi.org/10.2147/JIR.S365090>.

[9] Haniadka R, Saldanha E, Sunita V, Palatty PL, Fayad R, Baliga MS. A review of the gastroprotective effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Food Funct* 2013;4:845–55. <https://doi.org/10.1039/c3fo30337c>.

[10] Chen X, Zhao Y, Liu K, Li Z, Tan X, Wang Y, et al. Lycopene Aggravates Acute Gastric Injury Induced by Ethanol. *Front Nutr* 2021;8:697879. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.697879>.

[11] Sistani Karampour N, Arzi A, Rezaie A, Pashmforoosh M, Kordi F. Gastroprotective Effect of Zingerone on Ethanol-Induced Gastric Ulcers in Rats. *Medicina (Kaunas)* 2019;55:64. <https://doi.org/10.3390/medicina55030064>.

[12] Li W-S, Lin S-C, Chu C-H, Chang Y-K, Zhang X, Lin C-C, et al. The Gastroprotective Effect of Naringenin against Ethanol-Induced Gastric Ulcers in Mice through Inhibiting Oxidative and Inflammatory Responses. *Int J Mol Sci* 2021;22:11985. <https://doi.org/10.3390/ijms22111985>.

[13] Schubert ML. Physiologic, pathophysiologic, and pharmacologic regulation of gastric acid secretion. *Curr Opin Gastroenterol* 2017;33:430–8. <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000392>.

[14] Mukheet A, Hussain DMA, Hussain SKS, Tabassum DG, Aliuddin DSM. Anti-Ulcer Activity of Medicinal Plants: A Review n.d.:7.

[15] Team GM. Flavonoids Polyphenols: What Are Flavonoids And What They Do? Gundry MD 2020. <https://gundrymd.com/flavonoids-polyphenols/> (accessed June 8, 2022).

[16] OECD. Test No. 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure. Available: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-420-acute-oral-toxicity-fixed-dose-procedure_9789264070943-en Subchronic Toxicity Studies of Aqueous, Methanolic and n-Hexane Root Extracts of *Curcuma longa* L. on Albino Rats. *Br J Pharm Res* 2016;14:1–8.

[17] Tan P, Njimi C, Ayafor J. Screening of some African medicinal plants for antiulcerogenic activity: Part 1. *Phytotherapy Research - PHYTOTHER RES* 1997;11:45–7. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199702\)11:1<45::AID-PTR945>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199702)11:1<45::AID-PTR945>3.0.CO;2-I).

[18] Kalaivani.M JM. Evaluation of Antiulcer Activity of Ethanolic Extract of *Madhuca longifolia* flowers in Experimental Rats 2013;3:7.

[19] Njar VC, Adesanwo JK, Raji Y. Methyl angolensate: the antiulcer agent of the stem bark of *Entandrophragma angolense*. *Planta Med* 1995;61:91–2. <https://doi.org/10.1055/s-2006-958015>.

- [20] Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochemical Medicine* 1976;15:212–6. [https://doi.org/10.1016/0006-2944\(76\)90049-1](https://doi.org/10.1016/0006-2944(76)90049-1).
- [21] Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1972;247:3170–5.
- [22] Sinha AK. Colorimetric assay of catalase. *Anal Biochem* 1972;47:389–94. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90132-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(72)90132-7).
- [23] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265–75.
- [24] Maleki SJ, Crespo JF, Cabanillas B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chem* 2019;299:125124. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125124>.
- [25] Yoo J-H, Lee J-S, Lee Y-S, Ku S, Lee H-J. Protective effect of bovine milk against HCl and ethanol-induced gastric ulcer in mice. *Journal of Dairy Science* 2018;101:3758–70. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13872>.
- [26] Perfusion A, Vandza Luc V, Mesmine K, Vernuy T, Siwe G, Christophe M. Cytoprotective effects of the leaves aqueous extract of (Combretaceae) on gastric ulcers in mice 2020;9:6–11.
- [27] Sachs G, Shin JM, Vagin O, Lambrecht N, Yakubov I, Munson K. The Gastric H,K ATPase as a Drug Target. *J Clin Gastroenterol* 2007;41:S226–42. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31803233b7>.
- [28] Jo HJ, Kim N, Nam RH, Chang H, Kim J-H, Park JH, et al. The Effect of Cochinchina momordica Seed Extract on Gastric Acid Secretion and Morphologic Change in Aged Rat Stomach. *Gut Liver* 2013;7:560–8. <https://doi.org/10.5009/gnl.2013.7.5.560>.
- [29] Rosales C. Neutrophil: A Cell with Many Roles in Inflammation or Several Cell Types? *Front Physiol* 2018;9:113. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00113>.
- [30] Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine* 2018;54:287–93. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>.
- [31] Christophe M, Nkenfou C, Perfusion A, Gustave N, Ernestine N, Patricia D, et al. Gastroprotective, Antioxidant and Antibacterial Properties of the Aqueous Root Bark Extract of Cassia arereh Del. (Caesalpinaceae) in a Wistar Rat Model. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology* 2017;12:1–13. <https://doi.org/10.9734/JABB/2017/32667>.
- [32] Mostofa R, Ahmed S, Begum MstM, Sohanur Rahman Md, Begum T, Ahmed SU, et al. Evaluation of anti-inflammatory and gastric anti-ulcer activity of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) leaves in experimental rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2017;17:267. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1771-7>.