



Article Original

Évaluation de la Toxicité Aigüe des Extraits Aqueux de *Combretum Micranthum* (Combrétacée) et Essai de Mise en Forme Galénique d'un Phytomédicament pour le Traitement de la Fièvre Typhoïde

Evaluation of acute toxicity of aqueous extract of C Micranthum (Combretaceae) and galenic formulation of a phytomedicine for the treatment of typhoid fever

Mogue Ingrid¹, Njinkio Borgia Nono Legrand¹, Tembe Fokunang Estella¹, Mbacham Fon Wilfred², Fokunang Ntungwen Charles¹

¹Laboratoire d'études précliniques sur les animaux et recherche pharmacotoxicologique, Département de Pharmacotoxicologie et Pharmacocinétique, Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé 1, Cameroun.

²Département de Biochimie, Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé 1, Cameroun.

Auteur correspondant :

Fokunang Charles
BP: 13386 Yaoundé -Cameroun
E-mail:
charlesfokunang@yahoo.co.uk
Tel: (+237) 670 90 24 46

Mots clés : Combretum micranthum, toxicité aigüe, essai de formulation galénique, Combretyphi.

Key Words: Combretum micranthum, acute toxicity, formulation trial, Combretyphi.

RÉSUMÉ

Introduction. Le *Combretum micranthum* est une des plantes utilisées en Afrique pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques. Il est le plus souvent utilisé à des fins diurétiques et digestives, y compris pour des problèmes gastro-intestinaux, les coliques et les vomissements. Nous avons mené une étude sur la toxicité aigüe des extraits aqueux des feuilles de *C. micranthum* sur des rats de souches *Wistar* et un essai de formulation galénique. **Méthodologie.** Nous avons préparé un extrait par infusion aqueuse des feuilles sèches de *C. micranthum*, que nous avons administré à des rats de souche *Wistar* mâles et femelles à une dose de 2000 mg/kg de poids corporel aux rats des groupes tests selon la ligne directrice 420 légèrement modifiée de l'Organisation pour la Coopération et le Développement Economique(OCDE). **Résultats.** Les analyses de toxicité aigüe ont permis de constater que la Dose Létale 50 (LD50) de cet extrait serait supérieure à 2000 mg/kg car aucun cas de décès n'a été enregistré. En outre, nous n'avons pas noté de différence significative en ce qui concerne les paramètres zootechniques, biochimiques ainsi que le poids des organes observés entre les groupes tests et les groupes témoins. Ces résultats positifs nous ont conduit à réaliser un essai de formulation de gélules à base d'extraits secs de l'infusion aqueuse de *C. miranthum* que nous avons nommé *Combretyphi*. **Conclusion.** La LD50 de l'extrait de *Combretum micranthum* est supérieure à 2000 mg/ml. Pris à faible dose sur une courte période, l'infusé aqueux de *C. micranthum* est sans effets toxiques notoires sur le foie et les reins.

ABSTRACT

Introduction. *Combretum micranthum* is one of the plants used in Africa for its many therapeutic properties; it is mostly used for diuretic and digestive properties even for gastro-intestinal, colic and vomit. We conducted a study on acute toxicity from the aqueous extracts of the leaves of *C. micranthum* on *Wistar* strains rats and carried out a capsule formulation trial based on the dry extracts of the aqueous infusion of *C. miranthum*. **Methods.** We prepared an extract by aqueous infusion of dry leaves of *C. micranthum*, followed by an administration at a dose of 2000 mg /kg of body on males and females *Wistar* strains rats from tests group according to slightly modified Guideline 420 of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). **Results.** The acute toxicity analysis showed that the lethal dose 50(LD50) of this extract would be more than 2000 mg/kg because no death case was registered. Furthermore, there was no statistically significant difference between group tests and control with regard to zootechnical and biochemical parameters, and organ weights. These encouraging results allowed us to carry out a capsule formulation trial based on the dry extracts of the aqueous infusion of *C. miranthum* with the name *Combretyphi*. **Conclusion.** LD50 of *Combretum micranthum* extract (*Combretyphi*) is superior to 2000 mg/ml. Low dose administration of *Combretyphi* on a short period has no serious toxic effects on liver or kidney function.

INTRODUCTION

Les plantes médicinales occupent une place importante en thérapeutique dans le monde en général et en Afrique en particulier, l'OMS estime à près de 80% de

population y faisant recours [1]. Elles sont utilisées pour leurs diverses propriétés, tant pour le traitement des maladies (fièvre typhoïde, paludisme, diabète,

hypertension artérielle) que pour des raisons diététiques ainsi qu'à raisons des faibles ressources économiques de certains consommateurs. Le *Combretum micranthum* plus connu sous le nom de « vrai Kinkéliba » est une des plantes utilisées dans la pharmacopée africaine. Il s'agit d'un arbuste angiosperme touffu ou une liane appartenant à la famille des *Combretaceae* et au genre *Combretum*. Il est commun sur les terres cultivées et en jachère, dans tout le continent Africain. Au Cameroun, il est retrouvé dans la région de l'extrême-nord [2]. L'utilisation la plus courante de cette plante est à des fins diurétique et digestive, y compris pour des problèmes gastro-intestinaux, les coliques et les vomissements. Au Cameroun, il est utilisé pour le traitement de la fièvre typhoïde, du paludisme, du diabète, des névralgies [3]. Cette utilisation importante des plantes médicinales suscite de nombreuses interrogations quant à la sécurité, la qualité, l'efficacité et la disponibilité à long terme des médicaments traditionnels car jusqu'ici, il existe peu d'études scientifiques démontrant une certaine sécurité de ces plantes vis-à-vis de l'organisme [4]. De plus, les formes traditionnelles de ces plantes présentent certains inconvénients tels que la difficulté de conservation, les quantités énormes des prises, les quantités de dosage qui sont très approximatives. Il est donc nécessaire de mener des études sur les plantes médicinales afin d'obtenir de nouveaux médicaments de faibles coûts, joignant efficacité scientifique prouvée et accessibilité. C'est dans cette optique que nous avons évalué la toxicité aiguë des extraits des feuilles de *C. micranthum* sur des rats et, avons réalisé un essai de formulation de gélules à base des extraits secs de cette plante pour le traitement de la fièvre typhoïde, une des maladies pour lesquelles son efficacité a été prouvée.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Préparation du matériel végétal

Les feuilles sèches de *C. micranthum* ont été achetées au marché de Dakar au Sénégal et identifiées sous le numéro 900257. Elles ont par la suite été pulvérisées et la poudre obtenue a été séparée en deux ; une pour l'évaluation de la toxicité aiguë et l'autre pour l'essai de mise en forme galénique.

Extraction phytochimique

Pour l'évaluation de la toxicité aiguë, nous avons réalisé une extraction par infusion aqueuse dans le laboratoire de pharmacotoxicologie de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé I (FMSB) suivant le protocole décrit par Trease et Evans en 2009 [5].

Nous avons pesé 100g de poudre qu'on a introduit dans un Erlenmeyer contenant 1000 ml d'eau distillée portée à ébullition dans un bain-marie ; le mélange ainsi obtenu a été agité à l'aide d'un agitateur magnétique et laissé infuser jusqu'à refroidissement, puis il a été filtré tout d'abord avec une mousseline et ensuite avec du papier filtre Wattman n°4 fixé sur un entonnoir en plastique. Le filtrat a été mis à l'étuve à 55°C pour évaporation de l'eau pendant environ 3 jours et l'extrait sec ainsi obtenu a été conservé au frais dans un flacon.

Évaluation de la toxicité aiguë selon la ligne directrice 420 de l'OCDE

Nous avons utilisé la ligne directrice 420 légèrement modifiée de l'OCDE [6] qui préconise l'administration d'une dose unique d'extrait et l'observation des animaux pendant 14 jours.

Préparation des animaux

Nous avons utilisé pour cette étude vingt rats dont dix mâles et dix femelles ayant un poids moyen de (106,4±15,05) g et (114,6±17,71) g respectivement. Ces animaux ont été divisés en deux groupes de cinq en ce qui concerne chaque sexe: le groupe test et le groupe témoin. Tous les animaux ont été pesés avant d'être répartis dans les différents groupes puis mis à jeun pendant 24 heures au bout desquelles ils ont reçu pour les groupes tests une solution d'extrait concentrée à 2000 mg/kg à l'aide d'une sonde gastrique et les groupes témoin n'ont reçus que de l'eau distillée. Les animaux ont été à nouveau privés de nourriture pendant quatre heures durant lesquelles étaient observés leurs comportements, et pendant les 14 jours de l'expérimentation étaient suivis et notés leur consommation hydrique et alimentaire, leur variation de poids, leur comportement.

À la fin des 14 jours, les animaux ont été pesés juste avant leur sacrifice qui s'est fait après anesthésie à un excès d'éther. Un prélèvement de sang dans la carotide a été effectué, en vue des dosages des paramètres biochimiques de la toxicité. Les organes ont été isolés et pesés immédiatement. Les foies et reins fixés dans du formol à 10% pour la réalisation des coupes histologiques.

Analyse des paramètres biochimiques

La détermination de l'effet de l'infusion de *C. micranthum* sur les paramètres biochimiques s'est faite en évaluant le taux sérique des paramètres suivants : créatinine, Alanine Amino-Transférase (ALAT), Aspartate Amino-Transférase (ASAT), protéines totales, bilirubine totale et directe par dosage colorimétrique à l'aide des kits de dosage et d'un spectrophotomètre.

Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés en terme de moyenne +/- écart type. La comparaison entre les groupes s'est exécutée en utilisant le test d'analyse des variances (ANOVA) suivi du post hoc test de Turkey's Kramer à l'aide du logiciel Graph Pad instat version 5.0.

Analyses histologiques

Les techniques d'études histologiques utilisées dans ce travail étaient des techniques fondamentales décrites par Cannet et consistaient en : la fixation, la macroscopie, la déshydratation, l'inclusion, la coupe, la coloration et le montage.

L'analyse microscopique s'est effectuée au moyen d'un équipement consistant en un microscope AxiosKop 40 relié à un ordinateur où les images sont transférées, éditées et analysées avec les logiciels MRGrab 1.0 et AxioVision 3.1, tous fournis par ZEISS (Hallbermoos, Allemagne).

Essai de formulation

Pour cette partie, nous avons utilisé comme excipients : l'amidon de maïs, la gélatine, le stéarate de magnésium, le parahydroxybenzoate et le lactose qui nous ont été fournis par le Laboratoire de Technologie Pharmaceutique (LABOTEP) du Centre de Recherche en Plantes Médicinales et Médecine Traditionnelle (CRPMT) de l'Institut de Recherche Médicales et d'Étude des Plantes Médicinales (IMPM) où s'est déroulé l'essai de formulation des gélules.

Préparation des extraits pour l'essai de formulation des gélules

L'extraction s'est faite par infusion aqueuse ; 569,5g de poudre de *C. micranthum* ont été ajoutés à 30l d'eau préalablement portée à ébullition ; après refroidissement complet le mélange a été filtré et le filtrat obtenu mis à sécher à l'étuve après rajout d'amidon. L'extrait amidonné ainsi obtenu a été pulvérisé et pesé ; la poudre a servi à la préparation des granules.

Préparation des granules de *C. micranthum*

Elle s'est faite par la méthode de granulation humide [7], suivant le guide des bonnes pratiques de fabrication. Nous avons tout d'abord commencé par nettoyer et désinfecter la salle, le matériel et la paillasse avec de l'alcool à 70°C. Par la suite, nous avons pesé 480g d'extrait amidonné que nous avons introduit dans un mélangeur planétaire ; ensuite, nous avons porté à ébullition 26,4 ml d'eau dans un premier bol en inox à laquelle nous avons ajouté le parahydroxy benzoate de méthyle en agitant jusqu'à dissolution totale.

Nous avons également chauffé 60 ml d'eau à 55°C dans un deuxième bol et y avons versé la gélatine en agitant continuellement. Le contenu du premier bol a ensuite été versé dans le deuxième tout en continuant d'agiter jusqu'à obtention d'un mélange homogène.

Avec le mélangeur en marche, le contenu du deuxième bol a été ajouté à la poudre d'extrait amidonné, ceci pour obtenir une masse humide qui a été passée au granulater et dont la poudre résultante a été récupérée dans un plateau en aluminium recouvert de peinture et séchée à l'étuve à ventilateur à 65°C jusqu'à obtention d'un taux d'humidité de 2%. La masse sèche obtenue a été passée au granulater et le granulé obtenu pesé et remis dans le mélangeur planétaire. A partir de ce granulé obtenu, nous avons déterminé un nouveau pourcentage de stéarate de magnésium ainsi que sa nouvelle masse que nous avons ajoutée au granulé dans le mélangeur planétaire, le tout mélangé pendant 15 min.

Remplissage des gélules

Les granules préparés ont été emballés dans les capsules de gélatine dure de taille 0 en utilisant une remplisseuse de gélules à commande manuelle de sorte que chaque gélule contienne 2778 mg de granule.

Contrôle de conformité des gélules [8]

Il s'agissait de la du contrôle de conformité de masse, de teneur et du temps de dissolution afin de se rassurer que les gélules formulées répondent aux normes de la Pharmacopée Européenne.

Contrôle de conformité de masse

Nous avons commencé par prélever au hasard 10 gélules sur les gélules remplies que nous avons pesé une à une sur une balance de précision à 0,001g près. Les gélules sont conformes si les masses de 2 gélules au maximum sont comprises entre les limites de contrôles (LC) et les limites de surveillances (LS) et si aucune gélule n'a de masse hors des limites de surveillance.

Contrôle de conformité de teneur

Nous avons déterminé la masse du contenu de 10 gélules en soustrayant des masses précédentes la masse moyenne des gélules vides déterminée par pesage de 10 gélules vides. Les gélules sont conformes si les masses du contenu de 2 gélules au maximum sont comprises entre les limites de contrôles (LC) et les limites de surveillances (LS) et si aucune gélule n'a de masse de contenu hors des limites de surveillance.

Test de désintégration

Pour réaliser ce test, nous avons prélevé au hasard 6 gélules qui ont été introduites dans un désintégrateur de marque ERWEKA ZT3 réglé à 37°C ; les 6 gélules ont été mises chacune dans son compartiment et l'appareil mis en marche jusqu'à dissolution complète des granules dans les compartiments. Le temps de dissolution de granulé a été noté. Cette opération s'est répétée trois fois de suite, le temps moyen de dissolution déterminé. Ces gélules sont donc déclarées conformes si leur temps moyen de désintégration est inférieur à 30 min (1800s).

RÉSULTATS

Rendement de l'extraction

Pour notre extraction, nous avons obtenu un rendement de 8,567%.

Évaluation de la toxicité aiguë

Aucun décès d'animal n'a été enregistré pendant l'expérimentation, la LD₅₀ de cette plante serait donc supérieure à 2000 mg/kg.

Critères zootechniques

Évolution pondérale, de la prise hydrique et de la prise alimentaire

L'analyse du gain de poids indique une augmentation significative ($p < 0,05$) chez le groupe test mâle ($59,4 \pm 10,90$) g, par rapport au groupe témoin ($42,00 \pm 11,02$) g. chez les femelles, on observe une augmentation non significative de poids du groupe test ($39,20 \pm 6,38$) g vis-à-vis du groupe témoin ($31,20 \pm 4,15$) g.

Pour la prise alimentaire on observe une diminution non significative ($p > 0,05$) de la prise alimentaire chez le groupe test ($99,82 \pm 46,05$) g comparativement au groupe témoin mâle ($109,18 \pm 42,49$) g. en ce qui concerne les groupes femelles, nous avons eu une élévation significative chez le groupe témoin ($147,82 \pm 91,18$) g par rapport au groupe test ($118,82 \pm 31,73$) g.

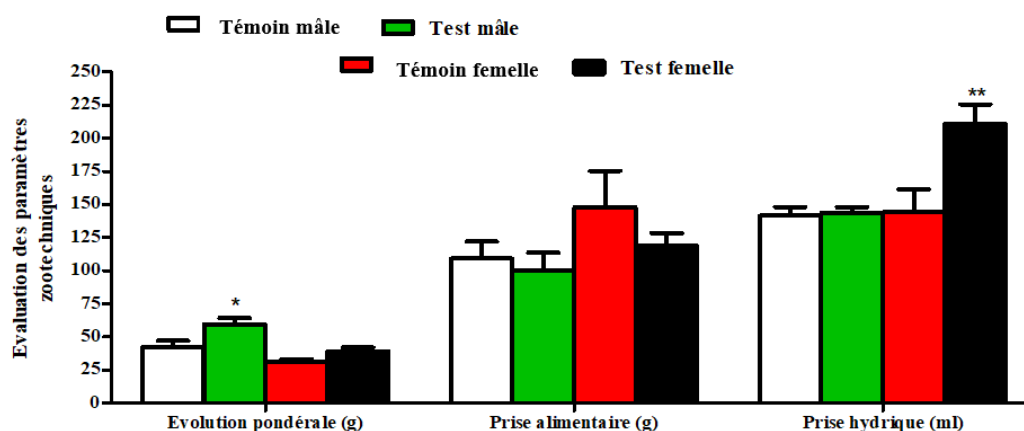


Figure 1: Évolution des paramètres zootechniques

Tableau I : Moyenne ± écart-type du poids en g des organes

	Témoin mâle	Test mâle	témoin femelle	Test femelle	
Cœur	0,50 ± 0,10	0,53 ± 0,11	0,50 ± 0,05	0,50 ± 0,05	
Poumons	1,22 ± 0,28	1,26 ± 0,20	1,21 ± 0,22	1,30 ± 0,21	
Foie	7,02 ± 0,99	8,56 ± 0,97	5,59 ± 0,71	6,71 ± 1,02	
Cerveau	1,38 ± 0,20	1,20 ± 0,21	1,36 ± 0,23	1,44 ± 0,26	
Rate	0,82 ± 0,13	1,46 ± 0,15	1,55 ± 0,52	0,87 ± 0,18	
Pancréas	0,82 ± 0,40	0,89 ± 0,55	1,13 ± 0,47	0,93 ± 0,43	
Reins	Gauche	0,52 ± 0,06	0,65 ± 0,05	0,55 ± 0,06	0,55 ± 0,09
	Droit	0,53 ± 0,04	0,64 ± 0,07	0,57 ± 0,05	0,54 ± 0,09
Testicules/ Ovaires	Gauche	0,90 ± 0,10	0,99 ± 0,16	0,08 ± 0,03	0,09 ± 0,05
	Droit	0,91 ± 0,08	0,98 ± 0,11	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,01
Surrénales	Gauche	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,02
	Droit	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,02

Pour la prise hydrique nous avons observé une diminution non significative ($p > 0,05$) pour le groupe test mâle ($141,36 \pm 22,26$) ml par rapport au groupe témoin mâle dont la moyenne est de ($143,64 \pm 14,16$) ml. Pour ce qui est des groupes femelles, il a été observé une augmentation significative chez le groupe test ($210,64 \pm 49,37$) ml comparé au groupe témoin ($144,00 \pm 54,86$) ml. (Figure 1)

Poids des organes

L'analyse du poids des organes montre qu'il n'y a pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les groupes tests et les groupes contrôles avec des moyennes ± écart-types telles que présentés dans le tableau I.

Évaluation des paramètres biochimiques

L'analyse des résultats de la créatinine ne présentent pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les groupes d'animaux. Cependant on observe une augmentation dans les groupes test par rapport aux groupes témoins.

Les valeurs obtenues pour la créatinine sont : ($51,07 \pm 5,95$) UI/L pour le groupe témoin mâle ; ($79,23 \pm 22,73$) UI/L pour le groupe test mâle ; ($76,46 \pm 22,42$) UI/L pour le groupe témoin femelle et ($108,04 \pm 31,15$) UI/L pour le groupe test femelle. (Figure 2):

L'analyse des résultats ne présentent pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les groupes d'animaux. Cependant on observe une diminution des concentrations d'ASAT et ALAT dans les groupes tests femelle par rapport aux groupes témoin et une

augmentation de celles-ci dans les groupes test mâles par rapport aux groupes témoin tel que présenté dans la figure 3.

Pour les valeurs de l'ALAT nous avons obtenus : ($52,31 \pm 19,24$) UI/L pour le groupe témoin mâle ; ($72,36 \pm 24,78$) UI/L pour le groupe test mâle ; ($60,07 \pm 42,18$) UI/L pour le groupe témoin femelle et ($48,54 \pm 23,51$) UI/L pour le groupe test femelle.

Pour les valeurs de l'ASAT nous avons obtenus les résultats suivants : ($145,33 \pm 37,31$) UI/L pour le groupe témoin mâle; ($148,67 \pm 29,31$) UI/L pour le groupe test mâle ; ($231,87 \pm 126,99$) UI/L pour le groupe témoin femelle et ($166,99 \pm 34,28$) UI/L pour le groupe test femelle.

Pour les protéines les résultats obtenus sont les suivants : ($33,36 \pm 9,99$) g/l pour le groupe témoin male ; ($35,92 \pm 3,62$) g pour le groupe test male ; ($30,96 \pm 4,26$) g pour le groupe témoin femelle et ($28,40 \pm 9,72$) g pour le groupe test femelle.

L'analyse des résultats de la bilirubine totale, de la bilirubine directe ne présentent pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les groupes d'animaux. Le dosage de la bilirubine directe a donné les résultats suivants : ($22,40 \pm 9,14$) mg/dl pour le groupe témoin mâle ; ($23,74 \pm 4,25$) mg/dl pour le groupe test male ; ($23,45 \pm 11,13$) mg/dl pour le groupe témoin femelle et ($17,60 \pm 4,90$) mg/dl pour le groupe test femelle.

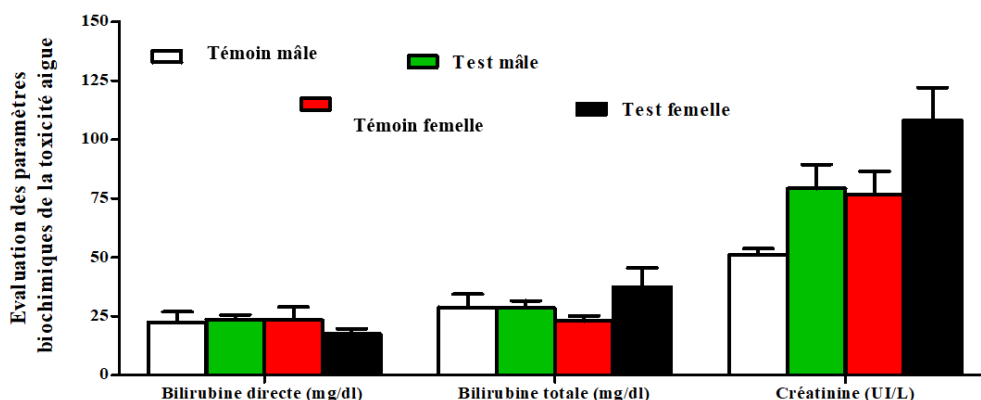


Figure 2: Évaluation de l'activité rénale

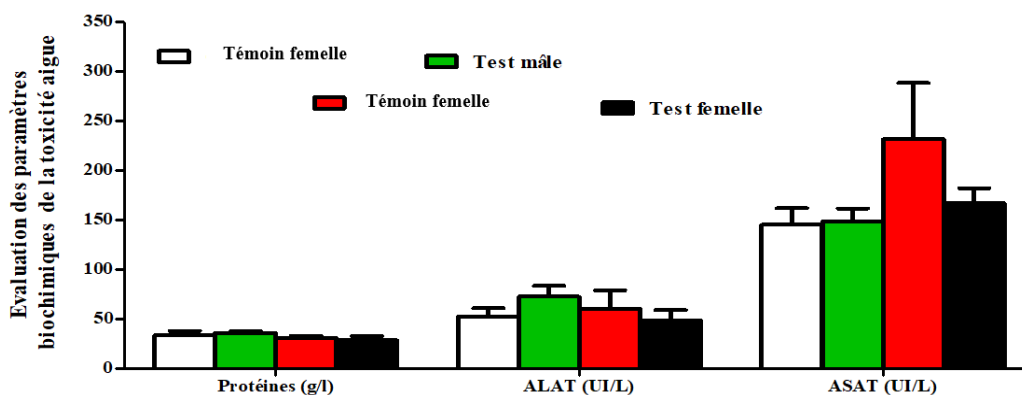


Figure 3: Évaluation de l'activité hépatique

Pour la bilirubine totale on a (28,90 ± 12,38) mg/dl pour le groupe témoin mâle ; (28,59 ± 6,8) mg/dl pour le groupe test mâle ; (22,99 ± 4,90) mg/dl pour le groupe témoin femelle et (37,35 ± 18,26) mg/dl pour le groupe test femelle.

Analyse histologique

L'analyse des coupes histologiques ne révèle pas de modifications majeures de la structure du foie et du rein des groupes test comparée à celle des groupes témoins tel que présenté dans la figure 4 suivante :

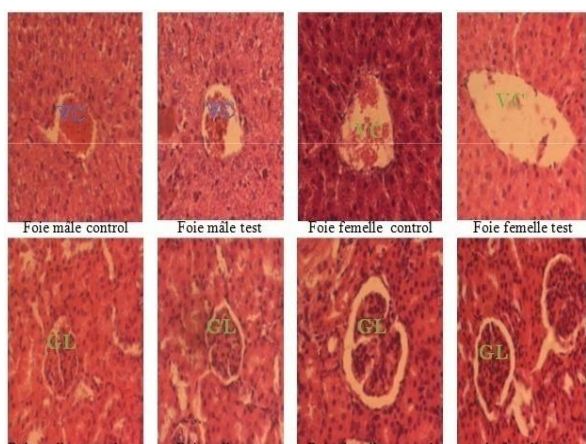


Figure 4 : Histologie du foie et des reins
VC= veine cave ; GL= glomérule

L'essai de formulation des gélules

Préparation des extraits de C. micranthum

L'extraction aqueuse réalisée nous a permis d'obtenir une masse d'extraits amidonnée de C. micranthum 665,8 qui après pulvérisation a donné une quantité de poudre de 491,3 g qui a été utilisée pour la suite.

Préparation des gélules de Combretyphi

Le granulé préparé était constitués des matières premières telles que indiquées dans le tableau II ci-après :

Tableau II : quantités et propriétés des matières premières utilisées pour la préparation du granulé

Matières premières	Quantités(g)	Propriétés
Extrait de C. micranthum	335,82291	Antibactérien
Amidon de maïs	144,17687	Désintégrant
Gélatine	20,22116	Liant
Parahydroxybenzoate	0,25276	Conservateur
Stéarate de magnésium	5,05529	Glidant
Lactose	31,189	Diluant

D'après le tableau ci-dessus, il ressort que la taille de lot est de 505 g.

Finalisation de l'essai de formulation des gélules de Combretyphi

La quantité de granulé préparé était de 493g. Du poids moyen du contenu d'une gélule, nous avons obtenu une

teneur en extrait de 0,185g/gélule, ce qui donne une prise de 6,3757 gélules /jour. Ne pouvant avoir des fractions de gélules, le nombre de gélules à prendre par jour pour pouvoir atteindre la dose journalière a donc été estimé à 7. Ceci étant, la dose par gélule en vue d'atteindre la dose de 1,178g d'extrait /jour était de 0,168g (168 mg) d'extrait de *C. micranthum*/gélule à raison de 7 gélules/jour.

Pour parvenir donc à avoir une dose de 0,168g d'extrait de *C. micranthum*/gélule au lieu de 0,185g un diluant a dû être ajouté, le lactose à un pourcentage de 5,95% pour une quantité de 31,189g. Nous avons donc obtenu un granulé de masse 524,189g qui a été utilisé pour le remplissage des gélules.

Contrôle de conformité des gélules Combretyphi

Uniformité de masse

Les gélules de COMBRETYPHI ont été déclarées conformes car aucune gélule n'avait de masse comprise entre les limites de contrôle (supérieure et inférieure) et les limites de surveillance et, aucune n'avait de masse en dehors des limites de surveillance (Tableau III)

Uniformité de teneur

Les gélules de COMBRETYPHI ont présenté une conformité de teneur car aucune d'elle ne possédait de teneur entre les limites de contrôle et de surveillance. De plus, aucune teneur ne se trouvait en dehors des limites de surveillance (Tableau IV) :

Temps de désintégration

Nous avons obtenu un temps moyen de dissolution de 360s (6 min) nous permettant ainsi de conclure de la conformité de nos gélules en ce qui concerne ce paramètre car le temps moyen de dissolution est inférieur à 30 min.

DISCUSSION

Nous avons réalisé l'étude de toxicité à base des extraits aqueux, car c'est l'une des formes les plus consommées de cette plante.

Les tests réalisés sur des rats n'ont pas montré de différences significatives quant aux paramètres

(zootechniques, et histologiques) évalués entre les groupes tests et les groupes témoins tant chez les femelles que chez les mâles. Cependant, nous avons constaté une augmentation de la concentration de créatinine, une diminution et ou augmentation de ASAT et ALAT. Ces résultats pourraient traduire un risque d'atteinte rénale et/ou hépatique si la prise de la plante était prolongée. De plus, aucun décès n'a été enregistré pendant toute la durée de l'expérimentation, ce qui voudrait dire que les extraits des feuilles de *C. micranthum* obtenus par infusion aqueuse n'ont pas d'effets toxiques notoire à une dose de 2000 mg/kg. Sa LD50 serait donc supérieure à 2000 mg/kg. Ces résultats corroborent ceux obtenus par Zekeri [9] ainsi que Muttaka et al [10] qui sont allés jusqu'à la dose de 5000 mg/kg sans aucun décès d'animaux et ont conclu que, pris sur une courte période, les extraits aqueux des feuilles *C. micranthum* ne présentaient aucun danger pour le foie mais, si la prise était prolongée, elle pourrait entraîner des dommages au niveau de celui-ci. A la suite de cette étude, un essai de formulation des gélules à base d'extraits aqueux de *C. micranthum*. L'essai de formulation nous a permis d'avoir des gélules conformes à base des extraits aqueux des feuilles sèches de *C. micranthum* que nous avons appelé Combretyphi.

CONCLUSION

L'objet de notre étude a porté sur l'étude de la toxicité aiguë des extraits aqueux de *C. micranthum* sur des rats de souche *Wistar* et la réalisation d'un essai de formulation de gélules à base de ces extraits. De cette étude, nous avons pu conclure que la LD50 de cet extrait est supérieure à 2000 mg/ml car aucun décès d'animal n'a été enregistré durant l'expérimentation et que d'après les résultats des analyses obtenus, pris à faible dose sur une courte période l'infusé aqueux de *C. micranthum* serait sans effets toxiques notoires sur le foie et les reins.

Tableau III : Détermination des limites de contrôle et de surveillance des masses

Critères	Calculs	Résultats
Masse moyenne constatée (Mmc)	$Mmc = (m1+m2+...+m10)/10 = 0,359+0,359+0,353+0,343+0,351+0,359+0,360+0,354+0,360+0,340$	Mmc = 0,3538
Écart Limite Autorisé (ELA)	D'après le tableau de choix	ELA = 7,5%
Limite de Contrôle Supérieur (LCS)	$LCS = 0,3538 \times 1,075$	LCS = 0,380
Limite de Contrôle Inférieure (LCI)	$LCI = 0,3538 \times 0,925$	LCI = 0,327
Limite de Surveillance Supérieure (LSS)	$LSS = 0,3538 \times 1,15$	LSS = 0,407
Limite de surveillance inférieure (LSI)	$LSI = 0,3538 \times 0,85$	LSI = 0,301

Tableau IV : détermination des limites de contrôle et de surveillance des teneurs

Critères	Calculs	Résultats
Masse moyenne constatée (Mmc)	$Mmc = (m1+m2+...+m10)/10 = 0,285+0,285+0,279+0,269+0,277+0,285+0,286+0,280+0,286+0,266$	Mmc = 0,2798
Écart Limite Autorisé (ELA)	D'après le tableau de choix	ELA = 10%
Limite de Contrôle Supérieur (LCS)	$LCS = 0,2798 \times 1,1$	LCS = 0,3078
Limite de Contrôle Inférieure (LCI)	$LCI = 0,2798 \times 0,9$	LCI = 0,2518
Limite de Surveillance Supérieure (LSS)	$LSS = 0,2798 \times 1,2$	LSS = 0,3358
Limite de Surveillance Inférieure (LSI)	$LSI = 0,3538 \times 0,8$	LSI = 0,2238

De plus, de l'essai de formulation de gélules à base des extraits obtenus par infusion aqueuse de notre plante, nous avons obtenu des gélules dosées à 0,168 g d'extrait /gélules à raison de 7 gélules/jour pour atteindre une dose journalière de 1,178g d'extrait/jour. Nos gélules portent le nom de *Combretyphi* en référence à la plante dont l'extrait est issu et au germe contre lequel il agit.

REMERCIEMENTS

Nous remercions M NJINKIO NONO Borgia Legrand du laboratoire de pharmacotoxicologie de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales (FMSB) de l'université de Yaoundé I qui nous a guidé durant l'étude de toxicité et le Directeur Général de l'Institut de Recherche Médicale et d'Etude des Plantes Médicinales (IMPM) qui a accepté que notre étude puisse se faire dans son institution. Nous remercions également M. KINGA Joseph du LABOTEP de l'IMPM qui nous a accompagné tout au long de l'essai de formulation.

REFERENCES

- 1.OMS, «Directives de l'OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récoltes (BPAR) relatives aux plantes médicinales.» 2003.
- 2.B.-A. Nkongmeneck, V. A. Kemeuze, p. M. Mapongmetsem, A. Ibrahim et R. Tafokou Djiofack, «distribution des Combretum en rapport avec l'aridité du Cameroun.» International Journal of Environmental Studies, pp. 41-50, 2010.
- 3.J.-P. Ngene, C. C. Ngoule, c. M. Pouka Kidic, P. B. Mvogo Ottou, R. C. Ndjib, S. D. Dibong et E. Mpondo Mpondo, «Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïdes vendues dans les marchés de Douala est (Cameroun),» African Journal Online , pp. 8194-8210, 2015.
- 4.S. Bent, «Herbal Medecine in the United States: Review of Efficacy, Safety, and Regularisation,» Journal of General Internal Medecine, pp. 854-859, 2008.
- 5.W. Evans, Trease and Evans' pharmacology 16th edition, Saunders Ltd, 2009.
- 6.OCDE, OECD guideline for testing of chemical, 2001.
- 7.D. Guerin, la granulation humide dans l'industrie pharmaceutique: revue bibliographique sur les matériels, les méthodes et les paramètres de mise au point du procédé de granulation humide, Nantes, 2006.
- 8.C. Guerin, validation d'une méthode de fabrication des gélules, Lyon, 2014.
- 9.M. A. Zekeri, effect of aqueous ethanol leaf of Combretum micranthum (Combrèteaceae) on some systemic inflammatory immune response syndromes in mice and rat, 2014.
10. Muttaka, L. J. Abdullahi et M. S. Sule, «toxicological studies of the aqueous leaves extracts of Combretum micranthum on rats,» international journal of biotechnology and biochemistry, vol. 12, n° 12, pp. 167-171, 2016.