

LISTE DES ABREVIATIONS

- ALAT :** Alanine Amino Transférase.
- ASAT :** Aspartate Amino Transférase.
- CCM :** Chromatographie sur Couche Mince.
- CHU :** Centre Hospitalier Universitaire.
- DL₅₀ :** Dose Létale 50%.
- EDTA :** Ethylène Diamine Tétra Acétique.
- NFS :** Numération Formule Sanguine.
- OCDE :** Organisation de Coopération et de Développement Economiques.
- QSP :** Quantité Suffisante Pour.
- Rf :** Rapport frontal.
- UCAD :** Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- UV :** Ultra-Violet.

LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> : Port de <i>Annona senegalensis</i>	9
<u>Figure 2</u> : Feuilles de <i>Annona senegalensis</i>	9
<u>Figure 3</u> : Fleur de <i>Annona senegalensis</i>	10
<u>Figure 4</u> : Fruits de <i>Annona senegalensis</i>	10
<u>Figure 5</u> : Graines de <i>Annona senegalensis</i>	10
<u>Figure 6</u> : Coulage des blocs.....	26
<u>Figure 7</u> : Confection des coupes.....	27
<u>Figure 8</u> : Coloration des lames	28
<u>Figure 9</u> : Coupe de foie. Stase sinusoïdale	32
<u>Figure 10</u> : Evolution du poids des rats mâles de J0 à J28	33
<u>Figure 11</u> : Evolution du poids des rats femelles de J0 à J28	34
<u>Figure 12</u> : Coupe de foie. Aspect histologique normal	39
<u>Figure 13</u> : Coupe de rein. Aspect histologique normal	39
<u>Figure 14</u> : Coupe de poumon. Aspect histologique normal.....	39
<u>Figure 15</u> : Coupe de poumon. Bronchopneumonie suppurée sévère	39

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Solvants et témoins utilisés pour la caractérisation de constituants phytochimiques de feuilles de <i>Annona senegalensis</i> par chromatographie sur couche mince.	21
Tableau II : Résultats de la caractérisation spécifique des tanins de l'extrait hydro-alcoolique	30
Tableau III : Résultats de la caractérisation spécifique des alcaloïdes de l'extrait hydro-alcoolique	30
Tableau IV: Résultats de la caractérisation spécifique des flavonoïdes de l'extrait hydro-alcoolique	31
Tableau V: Résultats de la caractérisation spécifique des stérols et triterpènes dans l'extrait hydro-alcoolique.....	31
Tableau VI : Récapitulatif des constituants chimiques présents dans l'extrait hydro-alcoolique	32
Tableau VII : Paramètres biochimiques chez les rats mâles traités avec l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de <i>Annona senegalensis</i>	35
Tableau VIII : Paramètres hématologiques chez les rats mâles traités avec l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de <i>Annona senegalensis</i>	36
Tableau IX : Paramètres biochimiques chez les rats femelles traités avec l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de <i>Annona senegalensis</i>	37
Tableau X : Paramètres hématologiques chez les rats femelles traités avec l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de <i>Annona senegalensis</i>	38

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
I- GENERALITES SUR LES ANNONACEAE.....	5
I-1- Origine et répartition géographique	5
I-2- Caractères botaniques	5
I-3- Classification.....	5
I-4- Utilisations des Annonaceae.....	7
I-5- Composition chimique.....	7
II- Rappel sur <i>Annona senegalensis</i>	8
II-1- Systématique et dénominations de la plante	8
II-2- Etude botanique de la plante.....	9
II-3- Habitat et répartition géographique	11
II-4- Emplois en médecine traditionnelle.....	11
II-5- Chimie	12
II-6- Les propriétés pharmacologiques	13
III- Rappels sur l'étude de la toxicité aiguë et subaiguë des plantes	
médicinales	15
III-1- Toxicité aiguë	15
III-2- Toxicité subaiguë	16
DEUXIEME PARTIE: ETUDE EXPERIMENTALE.....	17
I- MATERIELS.....	18
I-1- Matériel végétal.....	18
I-2- Matériel animal	18
I-3- Appareillage	18

II- METHODES	19
II-1- Protocole d'extraction de la drogue	19
II-2- Caractérisation des composés chimiques	19
II-2-1- Principe de la chromatographie sur couche mince	19
II-2-2- Mode opératoire	20
II-3- Etudes toxicologiques	21
II-3-1- Toxicité aiguë	22
II-3-2- Toxicité subaiguë	22
II-3-3- Analyse statistique	29
 III- RESULTATS.....	30
III-1- Rendement de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de <i>Annona senegalensis</i>	30
III-2- Résultat de la chromatographie sur couche mince de l'extrait hydro-alcoolique	30
III-2-1- Caractérisation des tanins.....	30
III-2-2- Caractérisation des alcaloïdes	30
III-2-3- Caractérisation des flavonoïdes.....	31
III-2-4- Caractérisation des stérols et des triterpènes.....	31
III-3- Etudes toxicologiques	32
III-3-1- Toxicité aiguë	32
III-3-2- Toxicité subaiguë	33
DISCUSSION	40
CONCLUSION.....	45
REFERENCES.....	47

INTRODUCTION

Rapport Gratuit.com

L'emploi de plantes comme remède remonte à l'antiquité. De nos jours, malgré le développement de l'industrie pharmaceutique, les plantes médicinales occupent une place importante dans la thérapeutique en Afrique.

Le recours à la médecine traditionnelle, est souvent guidé par l'insuffisance de personnel médical qualifié, le coût élevé des prestations et des facteurs socio-économiques défavorables.

La flore africaine réputée pour sa richesse comprend des milliers d'espèces végétales. Cependant, l'art médical traditionnel doit faire face à des obstacles, comme celui du mode d'administration et des doses employées dans la préparation. Cette imprécision des doses constitue un véritable problème de la médecine traditionnelle. La prospection des extraits administrés de façon empirique nécessite donc une surveillance de posologie, afin d'éviter les risques réels d'accidents thérapeutiques qui peuvent parfois s'avérer tragiques (Adjoungoua et coll., 2006).

C'est dans ce cadre que de nombreuses recherches scientifiques s'effectuent sur les recettes traditionnelles afin d'aboutir à des médicaments utilisables dans les soins de santé primaire selon les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (Keita et coll., 1993).

Annona senegalensis (ANNONACEAE) est une plante de la pharmacopée traditionnelle africaine, utilisée dans le traitement des parasitoses, des affections microbiennes, tumorales et dans les processus inflammatoires (Aké et Guindo, 1991 ; Adzu et coll., 1996).

Les travaux antérieurs réalisés au laboratoire de pharmacologie de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie (FMPO) de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD) ont montré l'existence d'une activité anti-inflammatoire d'extraits de feuilles de *A. senegalensis* à des doses très faibles (1 et 3 mg/kg per os) (Lo Fall, 2010 ; Tchemy, 2012 ; Ndong, 2013).

Eu égard à l'efficacité de cette plante, la détermination des paramètres toxicologiques s'impose, pour optimiser son utilisation.

La présente étude avait pour but d'évaluer, *in vivo*, la toxicité aiguë de cet extrait par la détermination de la DL50 et d'effectuer un test de toxicité subaiguë chez le rat.

Cette étude est subdivisée en deux parties :

- une revue de la littérature sur des données relatives aux Annonaceae et en particulier sur *Annona senegalensis* mais aussi un rappel sur l'étude de la toxicité aiguë et subaiguë des plantes,
- une étude expérimentale portant sur l'étude de la toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait hydro-alcoolique de feuilles de *Annona senegalensis*.

PREMIERE PARTIE :
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I- GENERALITES SUR LES ANNONACEAE

La famille des Annonaceae est une des plus archaïques des angiospermes. Avec 2300 espèces et 130 genres, elle est la plus importante de l'ordre des Annonales qui compte 2620 espèces réparties en 152 genres (Takhtajan, 1986).

I-1- Origine et répartition géographique

Elle est rencontrée de manière quasi-exclusive sous les tropiques et est particulièrement caractéristique des forêts de basse altitude. Les genres *Asimina* et *Deeringothalamus* poussent dans certaines régions tempérées d'Amérique du Nord (Hutchinson, 1964). Il existe aussi des cultures dans le bassin méditerranéen.

L'origine de cette famille serait sud-américaine et africaine, d'après les études phytogéographiques, morphologiques florales et palynologiques de Le Thomas (Le Thomas, 1983).

I-2- Caractères botaniques

Ce sont des plantes ligneuses, souvent aromatiques, aux formes variées : arbres (15-20 m), arbustes et arbrisseaux (1-10 m) ou lianes. Les formes arborescentes ont un tronc généralement cylindrique, à écorce plissée et fissurée, de couleur le plus souvent grisâtre.

Les Annonaceae présentent une grande homogénéité morphologique. Elles ont un certain nombre de caractères botaniques témoignant de leur appartenance aux Magnoliales et donc de leur archaïsme. La pollinisation est entomophile. (Takhtajan, 1986).

I-3- Classification

L'importante homogénéité de la famille des Annonaceae rend sa classification interne difficile, ce qui explique les divergences entre botanistes au niveau des tribus et de leurs subdivisions. Les différentes classifications

proposées sont basées sur des données morphologiques florales (Fries, 1959 ; Hutchinson, 1964) et sur des observations palynologiques ainsi que phytogéographiques (Le Thomas, 1983 ; Walker, 1971).

Tous les auteurs admettent la division des Annonaceae en deux sous-familles évoquées précédemment, suivant le degré d'évolution du gynécée :

- la sous-famille des *Annonoïdeae* (120 genres) : carpelles libres accolés dans la fleur et dans le fruit, avec ovules insérés latéralement à la soudure carpellaire, en un ou plusieurs rangs.
- la sous-famille des *Monodoroïdeae* (2 genres : *Monodora* et *Isolona*) : carpelles soudés en un ovaire uniloculaire avec placentation pariétale des ovules, conduisant à un fruit parasympycarpique.

Des études récentes par phylogénie moléculaire ont validé cette classification (Couvreur et coll., 2008).

Les divergences entre botanistes ont lieu au sujet des niveaux des tribus de la sous-famille des Annonoïdeae, comportant la majorité des genres et espèces.

La classification est basée essentiellement sur la préfloraison des pétales, leur forme et leur taille.

Hutchinson (1964) divise cette sous famille en trois tribus : *Uvarieae* (36 genres), *Miliuseae* (11 genres), *Unoneae* (2 sous-tribus, 271 genres).

Pour sa part, Fries (1959) subdivise les Annonaceae en trois tribus : les *Uvarieae*, *Unoneae* et les *Tetramerantheae*.

Enfin, Walker (1971) a proposé une classification « informelle », fondée essentiellement sur les caractères morphologiques du pollen, et sur des données phytogéographiques, le degré d'évolution du fruit et la morphologie florale. Elle est subdivisée en 3 sous-familles : *Malmeae* (3 tribus comprenant 78 genres et 1944 espèces), *Fusea* (10 genres, 310 espèces) ; *Annona* (4 tribus, 19 genres, 311 espèces, dont 198 pour les 4 genres de la tribu Annona).

I-4- Utilisations des Annonaceae

La famille des Annonaceae présente une importance économique car elle constitue une source de plantes à fruits comestibles avec principalement le genre *Annona*, dont il sera question dans cette thèse. Ses espèces sont cultivées et des produits alimentaires dérivés existent.

Certaines espèces à fleurs odorantes trouvent un emploi en parfumerie et en cosmétologie (*Cananga odorata* ou « Ylang Ylang »). Les graines constituent parfois des condiments (*Xylopia aethiopica*, « poivre d’Ethiopie ») (Leboeuf et coll., 1982).

Les Annonaceae sont aussi employées en médecine traditionnelle dans des indications très variées. Par exemple au Sénégal, les écorces de tiges d’*Annona senegalensis* sont utilisées, entre autres, en traitement des pneumonies, des diarrhées, des blennorragies....

Cependant une forte prévalence de syndromes parkinsoniens atypiques dans les Caraïbes a été reliée à la consommation d’infusions de feuilles d’Annonaceae (*Annona muricata* et *Annona squamosa*). En effet les acétogénines et les alcaloïdes contenus dans les graines et les feuilles de ces plantes pourraient représenter les composés neurotoxiques impliqués dans ces maladies (Caparros-Lefèvre et coll., 2006).

I-5- Composition chimique

Du point de vue chimiotaxonomique, les Annonaceae ont une composition conforme à leur statut de famille archaïque des angiospermes. Dans cette famille sont surtout retrouvées des molécules issues du métabolisme shikimique, avec la présence d’alcaloïdes benzylisoquinoléïques.

Des marqueurs chimiotaxonomiques spécifiques de cette famille sont le polycarpol et les dérivés polyacétiques particuliers : les acétogénines.

D’autres métabolites sont également isolés des Annonaceae (terpènes, tanins, lignanes, cyclopeptides ...) (Takhtajan, 1986).

II- RAPPEL SUR ANNONA SENEGALENSIS

II-1- Systématique et dénominations de la plante (Aké et Guindo, 1991 ; Tchemy, 2012)

➤ Classification

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Annonales
Famille	ANNONACEAE
Genre	Annona
Espèce	Senegalensis

➤ **Nom scientifique** : *Annona senegalensis* Pers. (ANNONACEAE)

➤ **Nom vernaculaire** : Pomme cannelle du Sénégal.

➤ **Noms vulgaires** :

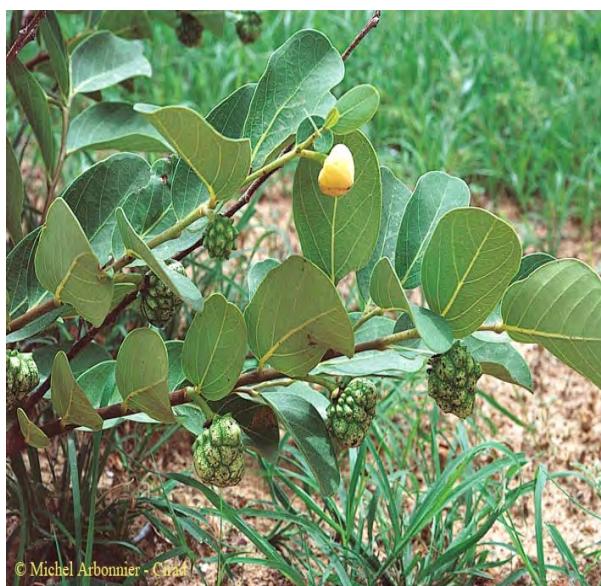
- | | |
|--------------------------------|------------------------------|
| • Wolof : dugor, dugur, digor. | .Peulh: Dukumé. |
| • Sérère: ndonh, d'dob, dog. | .Diola: Fulolok, hulolok. |
| • Bambara: danha, dahan. | .Sonrai: Mufania. |
| • Socé: Sunku, sunékuu. | .Malinké : Karamoko sounzou. |

II-2- Etude botanique de la plante

La plante est un arbuste ou sous-arbrisseau de 1 à 4 m de haut et 30 cm de diamètre ; à cime irrégulière, écorce grise et lisse à tranche rose et aux rameaux glabres. Elle prend ses jeunes feuilles en janvier, fleurit de février à mai et les fruits mûrissent d'avril à juin (figure 1).



Figure 1 : Port de *Annona senegalensis*



Les feuilles : alternes, à nervures (6 à 8 nervures) régulières, latérales, parallèles et proéminentes en dessous ; à limbe largement ovale à ovale elliptique, sont subcordées arrondies ou courtement cuinées à la base ; de 5-13 cm de long et de 3-9 cm de large. Elles sont coriaces pubescentes à glabrescentes (figure 2).

Figure 2 : Feuilles de *Annona senegalensis*



Les fleurs : atteignent 5 cm de diamètre. Elles sont verdâtres ou jaunâtres axillaires ou extra axillaires, solitaires ou géminées, à trois sépales entrouverts (figure3).

Figure 3 : Fleur de *Annona senegalensis*

Les fruits : charnus ovoïdes, jaune-orangés à maturité, sont comestibles. Ils sont plus ou moins bosselés avec un diamètre atteignant généralement 5 cm (figure 4).



Figure4 : Fruits de *Annona senegalensis*



Les graines : nombreuses, elles sont oblongues, aplatis, longues de 8-11mm, larges de 4-5mm à testa lisse, brun clair (figure 5).

Figure 5 : Graines de *Annona senegalensis*

Source des figures : Cirad 2002 d'Arbonnier M.

II-3- Habitat et répartition géographique

Annona senegalensis se rencontre dans toute l'Afrique de l'Ouest, les savanes claires ou boisées en zones soudaniennes et soudano-guinéennes allant du Sénégal à l'Afrique orientale et s'étendant à Madagascar.

Il existe également dans les sables para-littoraux, mêlé à *Annona glauca*, mais sa répartition est inégale, depuis le Cayor jusqu'à la Casamance maritime.

II-4- Emplois en médecine traditionnelle

Annona senegalensis est considérée comme une panacée (Pousset, 2004) pour ses différentes actions curatives :

➤ Racines

- Lorsqu'elles sont macérées dans l'eau, elles luttent contre les néphrites, les blennorragies, le lumbago, les dysenteries et diarrhées, et sont utilisées pour les soins des abcès.
- Les racines bouillies peuvent être utilisées en massage contre les abcès. Elles peuvent aussi être utilisées contre la syphilis et les dysenteries amibiennes.

➤ Les écorces du tronc

- En poudre, elles luttent contre la stérilité et favorisent la lactation.
- Leurs fibres servent de garrot pour les piqûres de scorpion.
- Les fibres écrasées et mises dans l'eau interviennent dans le soin de la femme enceinte en état de délivrance.

➤ Les feuilles

- Lorsqu'elles sont grillées et réduites en poudre, elles servent à traiter les plaies.
- En infusion, elles sont efficaces contre les vomissements.
- Fraîchement mâchées, les feuilles permettent de lutter contre les dysenteries.

- En décoction, elles constituent un remède spécifique contre les diarrhées ordinaires, les vertiges fébrifuges, ainsi que les néphrites.

➤ **Les rameaux feuillés**

- Ecrasés et mis dans l'eau (boisson), ils sont efficaces contre les hémorragies internes.
- En application locale, ils soignent les hémorragies externes.
- Les rameaux bouillis soignent les néphrites et les maux de ventre.
- En cure-dent, le jus du morceau de bois de *A. senegalensis* est efficace contre la diarrhée.

➤ **Utilisations diverses**

- *senegalensis* peut être utilisée comme bois de chauffage. La potasse tirée des morceaux de bois réduits en poudre à chauffage est mélangée au tabac traditionnel.
- Le fruit comestible (pomme cannelle) est consommé au Sénégal, plus spécialement contre le ver de Guinée, bien que l'emploi de ce fruit en médecine traditionnelle soit minime.

II-5- Chimie

Les travaux d'Eshiet et coll. (1971) ont permis d'isoler des diterpènes à partir d'extraits d'éther de pétrole de l'écorce de tronc de *A. senegalensis*.

Les feuilles contiennent de la rutine, de la quercétine et de la querectrine (Kerharo et Adams, 1974).

Cinq diterpènes (kauranes) ont été isolés des extraits d'écorces de racine de *Annona* (Kayode et coll., 1976).

Le fractionnement bioguidé des extraits à travers l'essai contre *Artemia salina* a permis d'isoler les acétogénines (Sahpaz et coll., 1994).

Deux acétogénines monotétrahydrofuraniques cytotoxiques (Annosenegaline et Annogalène) ont été isolés à partir de l'extrait méthanolique de *A. senegalensis* (Sahpaz et coll., 1996).

Des cyclopeptides à activité cytotoxique ont été décrits par Wélé et coll. dans les graines de *A. senegalensis*, pour les cyclosénégalines A, B, C et D (Wélé et coll., 2002).

A partir des feuilles de *A. senegalensis*, ont été isolés des alcaloïdes de type aporphinique (liriodénine, isoboldine et anonaine) (Philipov et coll., 1995).

You et coll. (1995) ont également mis en évidence d'autres alcaloides à partir des feuilles, la (-)-roemerine, la (-)-N-méthylanonaine et l'isocorydine.

A partir de l'extrait chlorométhylénique des racines d'*A. senegalensis*, la structure de cinq acétogénines a pu être établie appartenant au types A-1b (acétogénines mono-THF à γ -méthyl- γ -lactone α,β -insaturée, hydroxylée en 4), B-1a (acétogénines bis-THF adjascents à γ -méthyl- γ -lactone α,β -insaturée, hydroxylée en 4) (Fall et coll., 2003).

II-6- Propriétés pharmacologiques

Cinq diterpènes (kauranes) possédant des activités antitumorales et antibactériennes ont été isolés des extraits d'écorces de racine de *Annona senegalensis* (Kayode et Durodola, 1976).

Des souris infectées avec des souches de *Trypanosoma brucei brucei* 8/18 ont été traitées (voies orale et intramusculaire) avec les extraits aqueux de racines aux doses de 27,8 mg/kg et 9,5 mg/kg respectivement pour quatre jours consécutifs, 72 heures après infestation des souris. A ces doses l'extrait de *A. senegalensis* a présenté un effet thérapeutique significatif contre *Trypanosoma brucei brucei* chez les souris (Igweh et Onabanjo, 1989).

Des extraits de graines de *A. senegalensis* ont été testés pour leurs activités antiparasitaires contre *Leishmania major*, *Leishmania donovani*, *Trypanosoma*

brucei brucei. Le fractionnement bioguidé des extraits à travers l'essai contre *Artemia salina* a permis d'isoler les acétogénines (Sahpaz et coll., 1994).

La (-)-roemerine, un alcaloïde connu isolé des feuilles de *A. senegalensis*, permet d'intensifier la réponse cytotoxique provoquée par la vinblastine sur les cellules KB-V1 multirésistantes (You et coll, 1995).

Les extraits d'éther de pétrole, de dichlorométhane, méthanolique et aqueux de *A. senegalensis* ont présenté une très bonne activité trypanocide avec une concentration inhibitrice inférieure à 1 mg/ml (Freiburghaus et coll., 1996).

Un fractionnement bioguidé a permis d'isoler des extraits de l'écorce de tronc de *A. senegalensis* quatre ent-kaurenoides avec une activité cytotoxique sélective sur les cellules cancéreuses du sein et de la prostate (Fatope et coll., 1996).

Les acétogénines de *A. senegalensis* présentent une activité anti leishmania (Alawa et coll., 1999).

Les travaux de Fall et coll. (2003), ont permis de mettre en évidence une activité antiparasitaire des extraits de racines de *A. senegalensis* sur une souche résistante de *Plasmodium falciparum*. Les mêmes auteurs ont isolé et identifié des acétogénines dans les racines de plantes, ce qui pourrait expliquer l'activité antiparasitaire de la drogue.

Bowman (2003) a démontré une activité antihelminthique intéressante de la poudre totale de *A. senegalensis*.

Les études effectuées sur l'extrait méthanolique des écorces de racines de *A. senegalensis* ont permis de démontrer une réduction de l'hyperthermie provoquée par le venin de serpent chez les rats (Adzu et coll., 1996).

La concentration létale 50 (CL_{50}) du même extrait est de 232,7 mg/ml selon le test effectué sur *Artemia salina* (Adzu et coll., 1996).

Les travaux d'Okoli et coll. (2010) ont montré que l'extrait de feuilles de méthanol (ME) de *A. senegalensis* possède des propriétés anticonvulsivant, antidépresseur et anxiolytique attribuables aux flavonoïdes.

III- RAPPELS SUR L'ETUDE DE LA TOXICITE AIGUË ET SUBAIGUË DES PLANTES MEDICINALES

Pour qu'une drogue possédant des effets pharmacologiques puisse éventuellement être utilisée comme médicament, il est d'abord nécessaire que l'activité apparaisse à des doses pour lesquelles la toxicité est négligeable.

Classiquement, on distingue 3 formes: la toxicité aiguë, la toxicité à court terme (subaiguë et sub-chronique) et la toxicité à long terme (ou chronique).

Nous insisterons sur la toxicité aiguë et subaiguë ayant fait l'objet de ce mémoire.

III-1- Toxicité aiguë

La toxicité aiguë est définie comme celle qui résulte d'une exposition de courte durée à une dose unique ou à plusieurs doses ne dépassant pas 24h entraînant des dommages corporels pouvant conduire à la mort.

La toxicité aiguë, extrêmement variable d'un produit à l'autre, décrit les symptômes observés, y compris les phénomènes locaux.

Elle introduit la notion de dose « absorbée » (par ingestion, inhalation ou contact cutané) et se mesure par la DL 50 (dose létale, ou dose provoquant la mort de 50% des animaux exposés à une dose unique du produit incriminé), exprimée en mg/kg de l'animal d'expérience retenu, par exemple le rat mâle par voie orale.

C'est ce critère de DL50 qui permet aujourd'hui de procéder au classement des substances chimiques en vue de leur étiquetage réglementaire toxique, corrosif, nocif ou irritant.

Plus la DL50 est basse, autrement dit plus le produit testé produit des effets néfastes à faible dose, plus sa toxicité est grande.

III-2- Toxicité subaiguë

Elle résulte d'expositions fréquentes ou répétées sur une période de plusieurs jours ou semaines.

Le test de toxicité subaiguë a pour objet de mettre en évidence les altérations fonctionnelles et/ou pathologiques consécutives aux administrations répétées de la substance active examinée et d'établir les conditions d'apparition de ces altérations en fonction de la posologie. Le choix de la ou des voies d'administration doit tenir compte de celles prévues pour l'emploi thérapeutique et des possibilités de résorption. Le mode et le rythme des administrations ne sont pas codifiés strictement mais doivent être clairement indiqués ainsi que la durée des essais.

Il est utile de choisir la dose la plus élevée de façon à faire apparaître des effets nocifs, les doses inférieures permettent alors de situer la marge de tolérance du nouveau produit chez l'animal. L'appréciation des effets toxiques est faite sur la base de l'examen du comportement, de la croissance, de la formule sanguine et des épreuves fonctionnelles particulièrement celles qui se rapportent aux organes excréteurs ainsi que la base des comptes rendus nécropsiques, accompagnés des examens histologiques qui s'y rattachent (Ruckebusch, 1981).

DEUXIEME PARTIE :

ETUDE EXPERIMENTALE

I- MATÉRIELS

I-1- Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué de feuilles fraîches de *Annona senegalensis*. Ces feuilles ont été récoltées à Pout dans la région de Thiès en Mars 2012.

L'identification de ces feuilles a été réalisée au laboratoire de Pharmacognosie et Botanique de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie (FMPO) de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD).

Les feuilles ont été séchées au laboratoire à l'ombre, à la température ambiante (25°C environ) pendant 4 semaines avant d'être pulvérisées. Une poudre fine a été obtenue pour la préparation du décocté.

I-2- Matériel animal

Le matériel animal utilisé pour les tests toxicologiques est constitué de rats mâles et femelles de souche *Wistar* de poids moyen de 135 g pour les femelles et 175 g pour les mâles. Ces rats ont été élevés à l'animalerie du laboratoire de Toxicologie et d'Hydrologie de l'UCAD.

Les animaux ont été acclimatés une semaine avant l'expérimentation, à la température de 25 °C. Ils avaient un libre accès à l'eau et à la nourriture et étaient gardés dans des cages tapissés de copeaux de bois.

I-3- Appareillage

Différents appareils ont été utilisés:

- un pulvériseur de type Agrex mod. B 3m
- un chauffe ballon, réfrigérant avec un col de 29/32, évaporateur rotatif avec un col de 29/32 (de type Büchi) avec Bain-marie (de type Büchi waterbath B-480) et une pompe à vide (de type Leroy Somer n° 210670)
- une balance électronique de précision, type ORMA model bc (poids maximal : 100g),

- une balance monoplateau de type Mettler model 2476 (poids maximal : 2000g),
- un automate type Abacus 5 Diatron pour les analyses hématologiques,
- un automate de biochimie type Biosystems A15 et BTS-350 pour les dosages biochimiques,
- un appareil à circulation automatique (Histokinette) type Shandon citadel 1000, un Histocentre type Shandon, un microtome type Leica RM 2145 et un microscope optique pour l'examen histopathologique.

II- METHODES

II-1- Protocole d'extraction de la drogue

Soixante quinze grammes (75 g) de poudre de feuilles de *Annona senegalensis* sont portés à ébullition modérée (60°C) dans 1 litre du mélange éthanol/eau distillée (8:2 v/v) pendant 30 mn. Pour maintenir le volume constant et renouveler le solvant, les vapeurs sont récupérées grâce à un condensateur relié à un réfrigérant de manière à maintenir le circuit fermé.

L'extrait obtenu est ensuite filtré et concentré par évaporation grâce à un Rotavapor jusqu'à l'obtention d'un extrait pâteux qui sera complètement desséché dans un dessiccateur afin d'obtenir un extrait sec.

II-2- Caractérisation des composés chimiques

Pour avoir une idée de la composition chimique de l'extrait, nous avons effectué la recherche de certains composés habituellement présents dans les plantes (tanins, alcaloïdes, flavonoïdes, stérols et triterpènes) [5]. Ainsi des CCM ont été réalisées sur l'extrait.

II-2-1- Principe de la chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique de séparation dans laquelle une phase stationnaire constituée d'un matériau

approprié est répandue en une couche mince et uniforme sur un support (plaqué de verre, de métal ou de plastique). Les solutions à analyser sont appliquées sur la plaque avant le développement. La séparation repose sur des mécanismes d'adsorption, de partage ou d'échange d'ions ou sur une combinaison de ces mécanismes. Elle s'effectue par migration (développement) de solutés à travers la couche mince (phase stationnaire), dans un solvant ou un mélange de solvants appropriés (phase mobile).

La CCM permet de déterminer la présence d'une substance donnée à l'aide d'une grandeur Rf caractéristique de la substance pour une phase et un éluant donnés.

Le Rf est calculé selon la formule suivante :

$$Rf = \frac{d(\text{distance de migration de la substance})}{D(\text{distance de migration du solvant})}$$

II-2-2- Mode opératoire

Un échantillon de 10 mg de l'extrait a été dissout dans 1 ml de méthanol. Le dépôt a été effectué à l'aide de micropipettes sur une microplaqué de gel de silice, à 1 cm du bord inférieur sur la ligne de base. La plaque a été ensuite séchée dans une étuve pendant 10 secondes, puis introduite dans la cuve chromatographique contenant le solvant de migration. Après migration, la plaque a été retirée de la cuve et séchée dans l'étuve à 100° C pendant 5 min. La révélation des différents constituants chimiques a été réalisée par pulvérisation de réactifs spécifiques (tableau I). Au besoin, une lampe UV a été utilisée pour identifier la nature des constituants à 366 nm. Les spots ont été repérés et les distances de migration des spots (d) et du solvant (D) ont été mesurées.

Tableau I : Solvants et témoins utilisés pour la caractérisation de constituants phytochimiques de feuilles de *Annona senegalensis* par chromatographie sur couche mince.

Constituants phytochimiques	Solvants de migration	Témoins	Réactifs de révélation
Tanins	Acétate d'éthyle/ Méthanol/ Eau (40 : 8 : 5)	Acide gallique	Chlorure ferrique à 2 %
Flavonoïdes	Acide acétique à 15 % dans l'eau	Quercétine	Chlorure d'aluminium à 5 % dans le mélange Eau/ Méthanol (1 :1 v/v)
Alcaloïdes	Chloroforme/ Diéthylamine (45 : 5)	Cinchonine	Réactif de Dragendorff
Stérols et triterpènes	Chloroforme/ méthanol/ Ammoniac (50 :25 :6)	Cholestérol	Réactif de Libermann-Buchard

Le réactif de Dragendorff, est composé de :

- solution A : 850 g de nitrate de bismuth sont dissous dans un mélange contenant 10 ml d'acide acétique glacial et 40 ml d'eau.
- solution B : 8 g d'iodure de potassium sont dissous dans 20 ml d'eau.

La solution utilisée est constituée de 5 ml de la solution A, 5 ml de la solution B, 20 ml d'acide acétique glacial et 70 ml d'acétate d'éthyle.

Le réactif de Libermann-Buchard est constitué de : anhydride acétique/ acide sulfurique/ éthanol (5 ml :5 ml : q.s.p. 50 ml).

II-3- Etudes toxicologiques

Cette étude a pour aspect l'évaluation chez le rat de la toxicité aiguë et de la toxicité subaiguë de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Annona senegalensis*.

II-3-1- Toxicité aiguë

La détermination de la DL50 a été menée chez les rats en utilisant l'essai limite à 5000 mg/kg de poids corporel de la méthode de « l'ajustement des doses » du protocole 425 de l'OCDE (OCDE, 2006).

L'essai limite à 5000 mg/kg de poids corporel est procédé car des études antérieures ont montré que l'administration orale de l'extrait allant jusqu'à 5 g/kg n'a produit aucune mortalité ou des signes toxiques apparents chez les rats (Suleiman et coll., 2008 ; Okoli et coll., 2010).

Ainsi l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Annona senegalensis* a été administré à 2 lots de 3 rats femelles à jeun en une seule dose en utilisant une sonde gastrique. Les deux lots de rats sont traités à un intervalle de 5 jours. Une attention particulière s'était imposée pendant les cinq premières heures qui suivent l'administration puis quotidiennement pendant 14 jours.

A l'issue de la période d'observation les animaux sont sacrifiés et les organes (foie et reins) ont été prélevés et conservés dans du formol à 10% pour l'examen histopathologique.

II-3-2- Toxicité subaiguë

Elle a été déterminée à partir de la ligne directrice 407 de l'OCDE (OCDE, 1995). Les rats ont été répartis au hasard dans des cages en 4 lots de 6 dont 3 mâles et 3 femelles. Les rats du premier lot constituent le lot témoin et reçoivent quotidiennement de l'eau distillée, tandis que les 3 autres lots ont reçu respectivement par voie orale 500; 1000 et 2000 mg/kg de poids corporel d'extrait hydro-alcoolique de *Annona senegalensis* pendant 28 jours.

On effectue chaque semaine avant le gavage une prise du poids corporel et un prélèvement d'urine.

Les analyses et examens de laboratoires effectués sont présentés ci-après :

- Recherche hebdomadaire d'albumine, de sucre et de corps cétoniques dans les urines ;

- Analyse hématologique (NFS) et biochimique (transaminases, glycémie, azotémie, créatinémie) sur le sang à la fin de l'expérience ;
- Examen histopathologique (foie et reins).

II-3-2-1- Prélevement des échantillons d'urine, de sang et des organes

A la fin de chaque semaine, les animaux ont été placés individuellement dans des cages à métabolisme où ils séjournaient pendant une nuit et les urines ont été recueillies dans des flacons.

A la fin de l'expérimentation (J28), le sang des rats est prélevé, réparti dans des tubes secs pour les tests biochimiques et des tubes à EDTA pour les tests hématologiques.

Les organes (foie et reins) ont été prélevés après sacrifice des rats et conservés dans du formol à 10 % pour l'examen histopathologique.

II-3-2-2- Analyses hématologiques et biochimiques

a- Analyses hématologiques

Il se fait grâce à un Coulter, c'est un appareil qui possède un dispositif d'aspiration du sang, des réactifs et des solvants. Lorsque le sang est aspiré les cellules passent entre les électrodes ce qui génère une impulsion électrique. Le nombre d'impulsions indique le nombre de cellules et l'amplitude de l'impulsion produite est proportionnelle au volume de la cellule. Ce qui permet la construction des histogrammes érythrocytaires, leucocytaires, plaquettaires et la détermination des paramètres associés.

b- Dosages biochimiques

Le sang des tubes secs a été centrifugé à 3000 trs/mn pendant 5 min. Les paramètres biochimiques ont été dosés sur le sérum obtenu grâce à l'automate Biosystems A15.

La glycémie a été déterminée selon la méthode au glucose oxydase (Tietz, 1987).

Les transaminases glutamiques oxaloacétique et pyruvique (ASAT et ALAT) ont été dosées selon la méthode cinétique (Gella et coll., 1985), tandis que l'urée et la créatinine (Kroll et coll., 1987) ont été déterminées par la méthode colorimétrique.

Tous ces dosages ont été effectués à l'aide des kits BioSystems.

Les paramètres biochimiques urinaires (glucose, protéines, corps cétoniques) ont été déterminés à l'aide de bandelettes réactives U-AQS 3GK® qui ont été plongées dans les urines. La lecture a été faite au bout d'une minute. A chaque coloration correspondait un taux indiqué sur la boîte des bandelettes.

II-3-2-3- Examen histopathologique

L'examen histologique se fait en regardant par transparence grâce à un microscope des lames colorées. Au terme de l'examen, l'histopathologiste porte un diagnostic et rédige un compte rendu.

Diverses opérations, bien systématisées, sont nécessaires avant de pouvoir observer un tissu au microscope optique, entre lame et lamelle.

a- La fixation

Le but de la fixation est de conserver les structures. En effet, le prélèvement des tissus provoque leur mort : les cellules déversent leurs enzymes, ce qui provoque une autodigestion du tissu. De plus, à l'air ambiant, les prélèvements peuvent être contaminés par des bactéries, ce qui entraîne une putréfaction des tissus.

➤ Intérêts de la fixation :

- immobilisation des constituants tissulaires/cellulaires ;
- prévient l'autolyse cellulaire ;
- prévient de la putréfaction bactérienne post-mortem ;

- permet la technique histologique et les colorations ultérieures.

Le fixateur le plus commun en microscopie optique (MO) et le plus utilisé est le formol à 10%.

Son principe repose sur le fait qu'il réagit avec les groupements aminés des protéines. La durée de fixation est variable et la quantité de fixateur utilisée doit être au moins dix fois plus importante que le volume de tissu à fixer.

➤ Rôle du fixateur :

- précipitation, polymérisation, coagulation des protéines ;
- mise en place des liaisons covalentes ;
- tue les cellules ;
- blocage des réactions enzymatiques.

Les organes sont découpés et introduits dans des cassettes perforées en plastique et plongés dans le formol à 10 % pendant 48 à 72 heures.

b- L'inclusion à la paraffine

Pour que la lumière puisse passer à travers le tissu à examiner, celui-ci doit être très fin. Or les tissus sont mous, il faut donc leur donner une consistance solide. C'est le principe de l'inclusion : l'inclusion en paraffine consiste à infiltrer et à enrober les tissus à examiner avec de la paraffine. L'inclusion est précédée de deux étapes essentielles. Il faut tout d'abord procéder à la déshydratation grâce à un appareil à circulation automatique appelé Histokinette: on passe les tissus dans des bains d'alcool de degré croissant (70° , 80° , 90° , 95° , 99° , puis enfin 100°). L'intérêt de la déshydratation est d'éliminer le fixateur. L'alcool (éthanol) est ensuite remplacé par un solvant miscible à la paraffine : il s'agit soit de xylène, soit de toluène (hydrocarbures). Ces substances éliminent l'éthanol.

Au fur et à mesure de leur infiltration par le solvant, les tissus ont tendance à s'éclaircir : cette étape est donc parfois appelée éclaircissement ou clarification.

Une fois totalement imprégné, le tissu est placé dans de la paraffine fondu (portée à 56/58°C) ; la chaleur provoque l'évaporation du solvant (et sa dissolution dans la paraffine) : les espaces ainsi libérés sont remplis par la paraffine.

c- Coulage des blocs

Elle correspond à l'enrobage des tissus en paraffine de manière à obtenir une masse homogène facile à couper en tranches fines de 4-5µm d'épaisseur. Cette étape consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine. L'enrobage se fait grâce à un appareil appelé Histocentre.

Les pièces sont déposées dans des moules métalliques la face sectionnée de la pièce en dessous, puis de la paraffine liquide y est déversée. Le moule est ensuite recouvert par la cassette de la pièce sur laquelle y sont notées les références pour une bonne identification. Le moule rempli de paraffine est laissé refroidi sur la plaque de refroidissement. Une fois bien refroidies, les pièces sont démoulées et on obtient des blocs durs de paraffine (figure 6).



Figure 6 : Coulage des blocs

d- Confection des coupes et étalement sur lame porte objet

L'objectif est d'obtenir des rubans assez fins pour pouvoir laisser passer la lumière lors de la lecture au microscope, donc d'environ 4 à 5 µm d'épaisseur.

La coupe se fait grâce à un appareil appelé Microtome, qui fait avancer le bloc sur un rasoir.

Les coupes obtenus sont d'abord étalés dans un bain marie chauffé à 40°C auquel on a ajouté quelques gouttes d'albumine pour faciliter l'étalement, puis sur des lames de verre qui seront séchées pendant 5 à 10 mn à la température ambiante avant de les mettre dans l'étuve à la température de 37°C pendant 24 heures (figure 7).



Figure 7 : Confection des coupes

e- Coloration des lames

La coloration sur coupe a pour objectif d'introduire artificiellement un contraste entre les rayons lumineux qui traversent les différentes structures d'une préparation microscopique.

La coloration permet de mettre en évidence les différentes structures tissulaires et cellulaires. Tous les procédés de coloration des coupes à la paraffine se déroulent selon un plan général commun.

Quelle que soit la technique employée, il y a d'abord les étapes préparatoires de la coloration, puis celles de la coloration proprement dite et enfin, les étapes préparatoires du montage. La technique standard est celle de la coloration à l'Hématoxylène-Eosine (HE). L'hématoxylène colore les noyaux en violet donc colore les acides nucléiques et l'éosine colore les cytoplasmes en rose donc

colore les protéines.

Cette étape est assurée par une succession de bains : d'abord dans deux bains d'un solvant permettant l'élimination de la paraffine (toluène) puis, dans des bains d'alcool (réhydratation), ensuite dans des bains d'hématoxyline et d'éosine (figure 8).



Figure 8 : Coloration des lames

f- Montage des lames

Les lames sont montées pour empêcher la dégradation chimique des colorants qui s'oxydent facilement à l'air libre. Les lames sont déshydratées grâce à des bains en toluène, puis on colle des lamelles de verre par-dessus grâce à des résines synthétiques (baume Eukit™) afin de préserver les préparations. Il faut s'assurer qu'aucune bulle d'air ne s'insère entre la lame et la lamelle, car cela peut nuire à la lecture.

Les lames ainsi montées peuvent être conservées pendant plusieurs dizaines voire plusieurs centaines d'années.

g- La lecture

La lecture a pour but d'observer l'état histologique des tissus afin de déterminer la présence ou non de lésions. Elle se fait à l'aide de microscope optique.

L'exploitation des préparations histo-pathologiques doit toujours commencer par le plus faible grossissement. Et enfin on termine avec le compte rendu.

II-3-3- Analyse statistique

Les valeurs ont été présentées sous la forme de la moyenne \pm ESM (Erreur standard sur la moyenne). L'exploitation des résultats des poids des rats a été effectuée grâce au test « t » tandis que les résultats des paramètres biologiques ont été analysé par ANOVA avec comme test post-hoc celui de Tukey à l'aide du logiciel R. La différence a été considérée statistiquement significative pour un niveau de probabilité p inférieur à 0,05.

III- RESULTATS

III-1- Rendement de l'extrait hydro-alcoolique de feuilles de *Annona senegalensis*

A partir d'une prise d'essai de 975 g de poudre de feuilles de *Annona senegalensis*, 188 g de l'extrait hydro-alcoolique ont été obtenus, soit un rendement de 19,28 %.

III-2- Résultat de la chromatographie sur couche mince de l'extrait hydro-alcoolique

III-2-1- Caractérisation des tanins

La recherche de tanins s'est révélée positive par l'apparition d'un spot noir observé sur la plaque de CCM après révélation (tableau II).

Tableau II : Résultats de la caractérisation spécifique des tanins de l'extrait hydro-alcoolique

Dépôts	Rf	Coloration	Résultat
Témoin : Acide gallique	0,68	Noir	Présence
Extrait	0,75	Noir	Présence

III-2-2- Caractérisation des alcaloïdes

La CCM a montré la présence d'alcaloïdes dans l'extrait hydro-alcoolique. Nous avons obtenu un spot de couleur orange d'intensité faible (Tableau III).

Tableau III : Résultats de la caractérisation spécifique des alcaloïdes de l'extrait hydro-alcoolique

Dépôts	Rf	Coloration	Résultat
Témoin : Cinchonine	0,75	Orange	Présence
Extrait	0,92	Orange	Présence

III-2-3- Caractérisation des flavonoïdes

La CCM a permis de mettre en évidence la présence de flavonoïdes dans l'extrait hydro-alcoolique.

En présence de lumière ultra-violette à 366 nm, les flavonoïdes apparaissent sous la forme d'une tâche jaune fluorescente (tableau IV).

Tableau IV : Résultats de la caractérisation spécifique des flavonoïdes de l'extrait hydro-alcoolique

Dépôts	Rf	Coloration	Résultat
Témoin : Quercétine	0,15	Fluorescence jaune	Présence
Extrait	0,5	Fluorescence jaune	Présence
	0,68	Fluorescence jaune	Présence

III-2-4- Caractérisation des stérols et des triterpènes

Les stérols et les triterpènes ont été retrouvés, en faible concentration, dans l'extrait sur la plaque de CCM.

En présence de lumière ultra-violette à 366 nm, les stérols et les triterpènes apparaissent sous la forme d'une tâche bleu clair (tableau V).

Tableau V : Résultats de la caractérisation spécifique des stérols et triterpènes dans l'extrait hydro-alcoolique

Dépôts	Rf	Coloration	Résultat
Témoin : Cholestérol	0,61	Bleu clair	Présence
Extrait	0,88	Bleu clair	Présence

Tableau VI : Récapitulatif des constituants chimiques présents dans l'extrait hydro-alcoolique

	Tanins	Alcaloïdes	Flavonoïdes	Stérols et triterpènes
Extrait	+++	+	++	+

Le nombre de « + » est fonction de l'intensité de la coloration

III-3- Etude toxicologique

III-3-1- Toxicité aiguë

III-3-1-1- Observation des rats

Durant les 14 jours d'observation après gavage, aucune mortalité n'a été décelée chez les animaux d'expérience qui continuaient de mener une vie normale. Aucun signe cliniquement décelable n'a été observé.

III-3-1-2- Examen macroscopique et histopathologique

L'observation macroscopique des organes n'a révélé aucune anomalie. Les organes ont paru normaux à l'œil nu.

L'examen microscopique n'a montré aucune lésion au niveau des reins sur les six rats traités ; par contre deux (02) des rats du lot ont présenté au niveau de leurs foies, de rares mégacaryocytes accompagnés de stases sinusoïdales (figure 9).

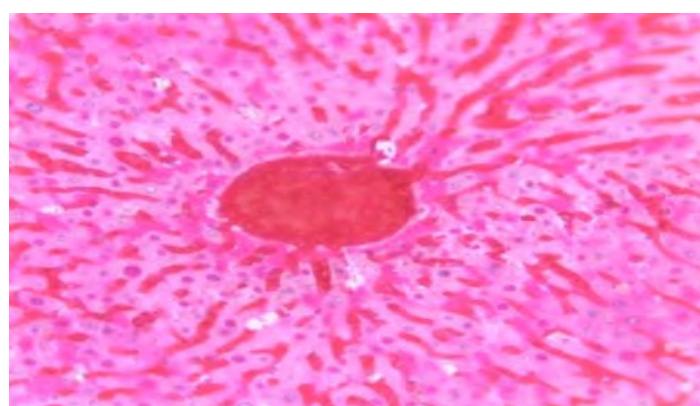


Figure 9 : Coupe de foie. Stase sinusoïdale (HE×40)

III-3-2- Toxicité subaiguë

III-3-2-1- Observation des rats

Les animaux traités avec l'extrait des feuilles de *Annona senegalensis* présentaient un comportement normal comparés aux témoins.

Un rat mâle traité à la dose de 2000 mg/kg est mort quelques minutes après gavage au sixième jour de l'expérimentation. Ses organes (foie, reins et poumons) ont été prélevés et conservés dans du formol pour l'examen histopathologique à la fin de l'expérimentation.

III-3-2-2- Evolution du poids des rats

Les résultats montrent, à la fin de l'expérimentation, une légère hausse du poids des rats mâles à la dose de 1000 mg/kg et 2000 mg/kg par rapport au groupe des témoins mais la différence n'est pas significative. (Figure 10)

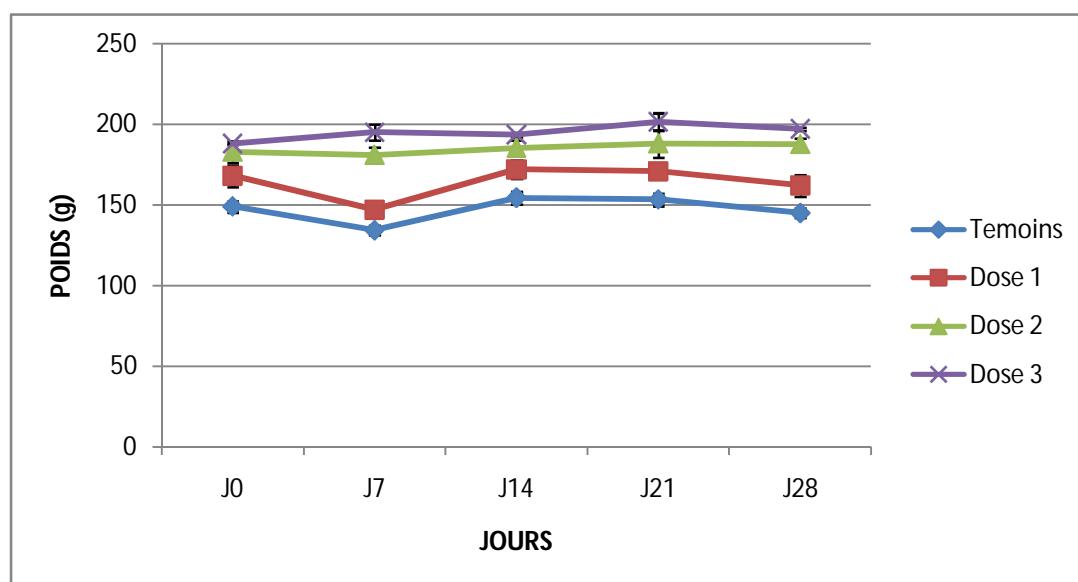


Figure 10 : Evolution du poids des rats mâles de J0 à J28

Dose1=500 mg/kg ; Dose 2=1000 mg/kg ; Dose 3=2000 mg/kg.

Chez les femelles, une prise de poids statistiquement significative est notée avec les rats traités à la dose de 500 mg/kg à la fin de l'expérimentation.

L'analyse statistique montre également une augmentation significative du poids corporel chez les rats traités à la dose de 1000 mg/kg et 2000 mg/kg à J21. (Figure 11)

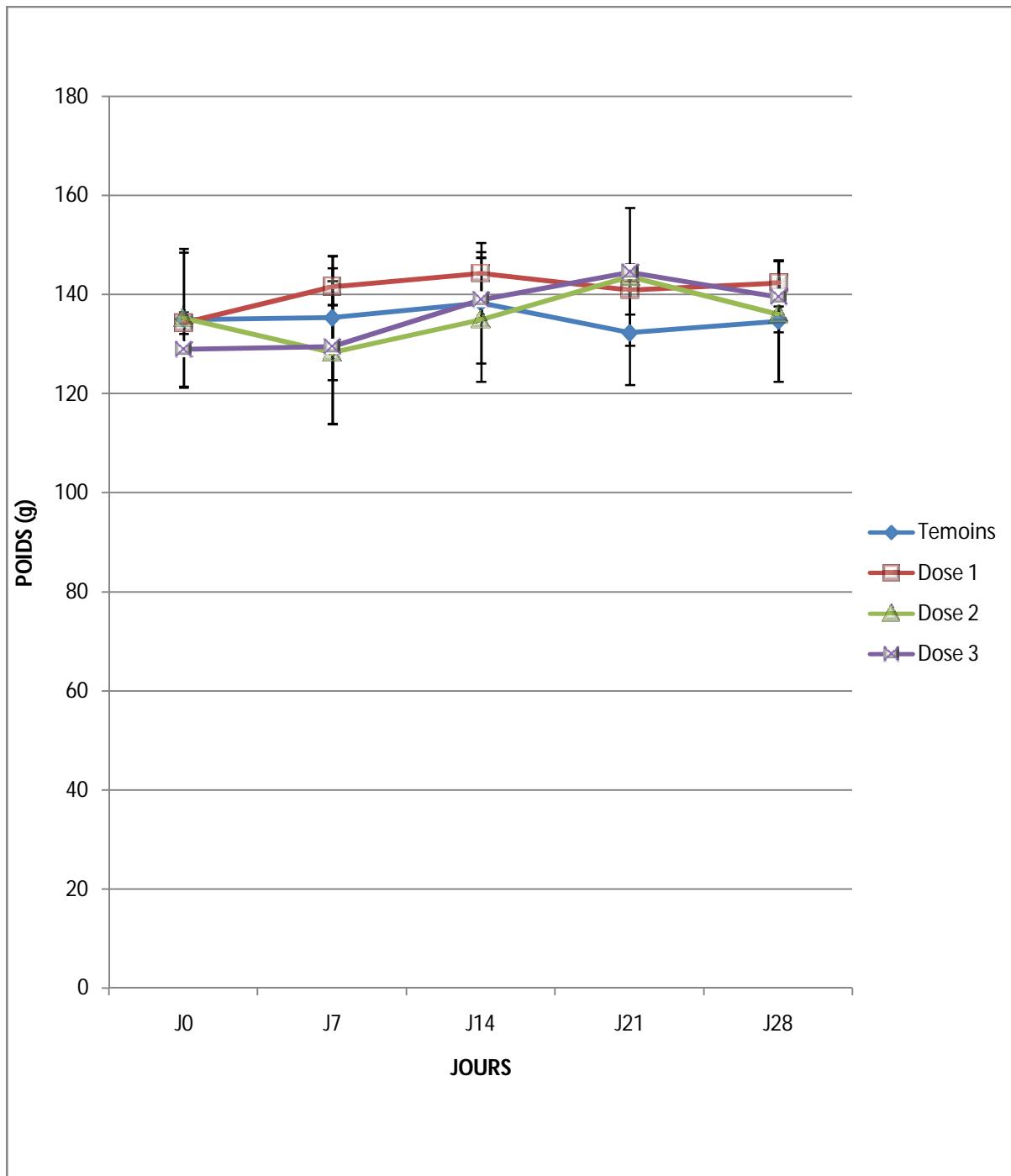


Figure 11 : Evolution du poids des rats femelles de J0 à J28

Dose1=500 mg/kg ; Dose 2=1000 mg/kg ; Dose 3=2000 mg/kg.

III-3-2-3- Résultats des tests biologiques

a- Recherche d'albumine, de sucre et de corps cétoniques

L'analyse des urines des rats effectuée avant le gavage et à chaque semaine pour la recherche d'albumine, de sucre et de corps cétoniques n'a pas montré la présence de ces éléments dans ce milieu biologique.

b- Analyses biochimiques et hématologiques

➤ Chez les mâles

L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative par rapport au lot de contrôle sur les résultats des paramètres biochimiques et hématologiques. (Tableau VII et VIII)

Tableau VII : Paramètres biochimiques chez les rats mâles traités avec l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Annona senegalensis* ; résultats exprimés sous forme de moyenne ± erreur standard à la moyenne.

Paramètres	Témoin	Traités	Traités	Traités
		500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg
n=3	n=3	n=3	n=3	n=2
Glycémie (g/l)	0,77±0,08	0,74±0,11	0,80±0,03	0,99±0,11
Urée (mg/l)	72,66±6,98	57,66±1,20	69,33±4,40	75,33±3,7
Créatinine (g/l)	0,60±0,03	0,77±0,13	0,68±0,04	0,67±0,05
ASAT (UI/l)	225,66±19,32	331,33±56,48	266±37,07	260,93±34,04
ALAT (UI/l)	117,33±4,33	132±10,50	122±0	108±18,45

Tableau VIII : Paramètres hématologiques chez les rats mâles traités avec l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Annona senegalensis* ; résultats exprimés sous forme de moyenne ± erreur standard à la moyenne.

Paramètres	Témoin	Traités	Traités	Traités
		500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg
	n=3	n=3	n=3	n=2
GR ($10^6/\text{mm}^3$)	8,55±0,12	8,89±0,2	8,22±0,15	8,47±0,47
GB ($10^3/\text{mm}^3$)	7,69±0,03	7,725±1,62	7,88±1,08	5,68±0,55
PL ($10^3/\text{mm}^3$)	521±32	687±16	625,5±4,5	456,5±266,5
Hb (g/dl)	16,25±0,35	16,8	15,6±0,6	15,55±0,45
Ht (%)	46,5±1,5	47,6±0,7	44,75±1,15	45,85±1,65

➤ Chez les femelles

L'administration des rats femelles soumis au test de toxicité subaiguë de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Annona senegalensis* agit de façon significative sur les paramètres biologiques.

En effet à faible dose (500 mg /kg /j) la glycémie diminue par rapport au groupe des témoins. Les résultats biochimiques montrent également, à la même dose, une augmentation d'activité des ALAT. (Tableau IX)

L’analyse statistique a révélé également des différences significatives sur les paramètres hématologiques avec une légère baisse des globules rouges à 1000 et 2000 mg/kg/j et une hausse des plaquettes uniquement à 2000 mg/kg/j. (Tableau X)

Tableau IX : Paramètres biochimiques chez les rats femelles traités avec l’extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Annona senegalensis* ; résultats exprimés sous forme de moyenne ± erreur standard à la moyenne.

Paramètres	Témoin	Traités	Traités	Traités
		500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg
	n=3	n=3	n=3	n=3
Glycémie (g/l)	0,89±0,02	0,74±0,03*	0,88±0,04	0,97±0,08
Urée (mg/l)	68,66±1,85	80,33±8,19	71,5±9,5	59,5±14,5
Créatinine (g/l)	0,61±0,08	0,76±0,07	0,71±0,1	0,69±0,03
ASAT (UI/l)	212±26,50	282±28,82	224,5±4,5	229,33±31,56
ALAT (UI/l)	111±7	168±2*	97±8	104±1

*Différence statistiquement significative par rapport au groupe contrôle (p < 0,05) ; n = nombre de rats

Tableau X : Paramètres hématologiques chez les rats femelles traités avec l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Annona senegalensis* ; résultats exprimés sous forme de moyenne ± erreur standard à la moyenne.

Paramètres	Témoin	Traités	Traités	Traités
		500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg
	n=3	n=3	n=3	n=3
GR ($10^6/\text{mm}^3$)	8,22±0,19	7,9±0,55	7,86±0,18*	7,63±0,16*
GB ($10^3/\text{mm}^3$)	7,62±0,49	8,55±1,61	6,19±0,3	8,79±0,13
PL ($10^3/\text{mm}^3$)	602,5±61,5	463±28	600±183	725±56*
Hb (g/dl)	16,3±0,4	15,55±0,75	14,95±0,05	14,75±0,15
Ht (%)	47,85±1,85	46,95±1,65	45±1,5	44,85±0,05

*Différence statistiquement significative par rapport au groupe contrôle (p < 0,05) ; n = nombre de rats

III-3-2-4- Examen histopathologique

Aucune lésion n'a été observée au niveau des foies et des reins des rats à toutes les doses testées, excepté un rat femelle témoin qui présente un foyer de cellules nécrotiques dû à une mauvaise fixation.

L'observation macroscopique des organes du rat mâle mort après gavage à la dose de 2000 mg/kg révèle la présence d'un matériel brunâtre (couleur de l'extrait) dans les bronchioles et les alvéoles. L'examen microscopique montre une stase sanguine au niveau du foie et une bronchopneumonie suppurée au niveau des poumons (figure 15). Sa mort serait donc probablement causée par fausse déglutition.

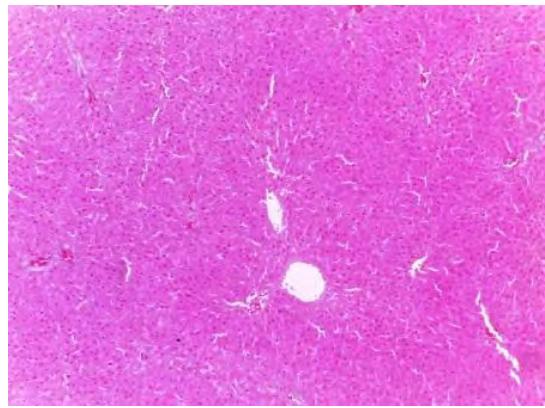


Figure 12 : Coupe de foie. Aspect histologique normal (HE $\times 10$)

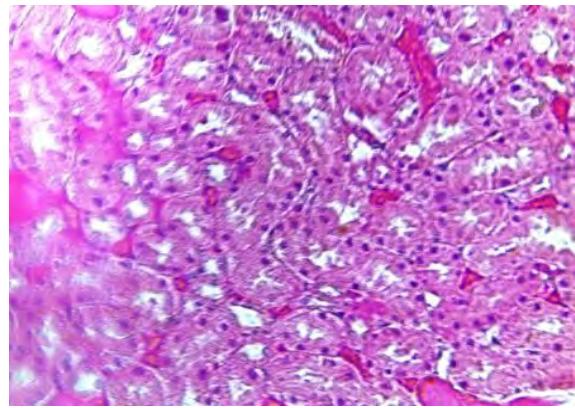


Figure 13 : Coupe de rein. Aspect histologique normal (HE $\times 40$)

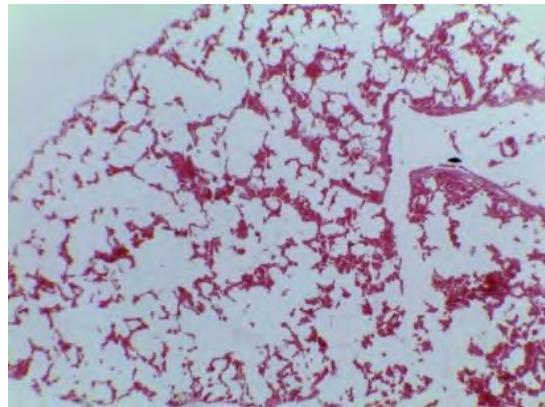


Figure 14 : Coupe de poumon. Aspect histologique normal (HE $\times 40$)

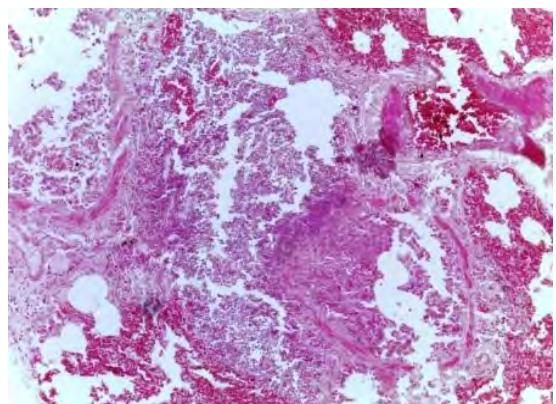


Figure 15 : Coupe de poumon.
Bronchopneumonie suppurée sévère
(HE $\times 10$)

DISCUSSION

Les composantes de *Annona senegalensis*, allant des feuilles aux racines, sont utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement de diverses affections comme anti-diarrhéique, anti-infectieux, antitussif, cicatrisant, décongestionnant et anti-inflammatoire.

L'objectif de la présente étude était d'évaluer, *in vivo*, la toxicité aiguë et d'effectuer un test de toxicité subaiguë chez le rat de l'extrait hydro-alcoolique de feuilles de *Annona senegalensis*, en vue de sécuriser son utilisation thérapeutique.

Le faible rendement de l'extraction (19,28 %) obtenu par la méthode hydro-alcoolique pourrait s'expliquer par la période de récolte des feuilles.

L'étude phytochimique de la présente étude a révélé la présence de flavonoïdes, de tanins, et en teneur faible des alcaloïdes, de stérols et triterpènes. Ces résultats diffèrent un peu aux travaux que nous avons menés avec la fraction totale méthanolique de l'extrait éthétré des feuilles de *A. senegalensis* (Ndong, 2013). En effet, ces recherches ont identifié les mêmes composés chimiques à l'exception des alcaloïdes, avec une concentration élevée de stérols et de triterpènes responsables de l'activité anti-inflammatoire sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carraghénine. Les solvants d'extraction utilisés pourraient expliquer cette différence.

En ce qui concerne les résultats de l'étude sur la toxicité aiguë, la DL50 a été effectuée par l'essai limite de la méthode de « l'ajustement des doses » du protocole 425 de l'OCDE (OCDE, 2006).

Nous n'avons noté aucun signe de toxicité après l'administration de 5000 mg/kg de poids corporel de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *A. senegalensis*. Tous les animaux ont survécu à l'issue des 14 jours d'observation, ce qui implique que la DL50 est supérieure à 5000 mg/kg de poids corporel.

Ces résultats sont semblables à ceux de Suleiman et coll. (2008) et d'Okoli et coll. (2010). Ces auteurs ont montré que l'administration orale des extraits méthanoliques de feuilles et d'écorces de tige de *A. senegalensis* allant jusqu'à

5 g/kg n'a produit aucune mortalité ou des signes toxiques apparents chez les souris.

Au plan histologique aucune lésion compatible avec une toxicité sur les organes examinés n'a été observée. La stase sinusoïdale au niveau hépatique est non spécifique.

Selon le système de classification globalement harmonisé de l'OCDE (OCDE, 2001), notre extrait hydro-alcoolique peut être classé dans la catégorie 5 et considéré comme une substance relativement non toxique par voie orale.

La détermination de la toxicité subaiguë permet de mettre en évidence les altérations fonctionnelles et/ou anatomopathologiques consécutives aux administrations répétées d'une substance active.

Les résultats obtenus de cette étude de toxicité subaiguë qui a duré 4 semaines n'ont pas montré d'influence de l'extrait des feuilles de *A. senegalensis* sur l'évolution du poids corporel des rats mâles. En outre chez les femelles une prise de poids significative est notée avec les rats traités à la dose de 500 mg/kg à la fin de l'expérimentation, avec un pic de hausse à la dose de 1000 mg/kg et 2000 mg/kg à J21.

Notre extrait total aqueux de *A. senegalensis* a été sans effet sur les paramètres biochimiques plasmatique et urinaire. Les valeurs normales de l'urée, de la créatinine ainsi que l'absence de glucose, de corps cétoniques et d'albumine dans les urines suggèrent que cet extrait n'a pas modifié la structure et les fonctions rénales. En effet, des travaux ont montré que ces valeurs sont élevées en cas d'altération des reins (Coulibaly et coll., 2007).

L'analyse histologique qui a confirmé les résultats biochimiques n'a révélé aucune modification de la structure des reins.

Par ailleurs chez les femelles on note une baisse de la glycémie à 500 mg/kg qui pourrait être liée aux conditions de prélèvement ou à une propriété hypoglycémiant de cette plante à dose faible.

Sur le système hématopoïétique, seules les femelles traitées ont présenté une diminution du nombre de globules rouges à 1000 et 2000 mg/kg. Cette étude a révélé également une augmentation de la lignée thrombocytaire à la plus forte dose de l'extrait. Ce résultat est contraire à celui d'Okoye et coll. (2012) qui ont révélé que l'extrait de méthanol-chlorure de méthylène d'écorces de racine de *A. senegalensis* augmentait de façon significative ($P < 0,05$) la numération leucocytaire totale à 100 et 400 mg/kg. Cette différence au niveau de ces deux résultats, pourrait s'expliquer par le mode de préparation des extraits et l'organe prélevé de la plante.

Les transaminases sont des enzymes ayant une activité métabolique importante à l'intérieur des cellules. Leur augmentation sérique reflète une lésion cellulaire, en particulier au niveau hépatique (Kew, 2000). Nos résultats n'ont pas montré de différence entre les rats expérimentaux mâles comparés aux témoins mâles. Par contre, chez les rats femelles une variation est notée avec l'activité de l'ALAT à la dose de 500 mg/kg avec une augmentation du taux pouvant marquée un dysfonctionnement hépatique.

L'analyse histologique, quant à elle, n'a révélé aucune lésion compatible avec une toxicité sur les foies examinés.

Les résultats de cette étude présentent plusieurs similarités par rapport à ceux obtenus avec *Annona muricata*. En effet, les travaux de Diop (2011) ont montré que la DL50 de l'extrait hydro-alcoolique de *A. muricata* est aussi supérieure à 5000 mg/kg de poids corporel. Concernant la toxicité subaiguë, les paramètres biologiques n'ont pas variés également chez les mâles traités. Par contre, chez les femelles une augmentation est notée avec les valeurs de la créatinine à 500 et 1000 mg/kg avec une élévation du nombre de globules blancs à toutes les doses testées. L'examen histologique des foies et des reins a révélé la présence de certaines lésions, notamment des lésions de stase et d'inflammation (justifiant l'augmentation de globules blancs) qui ne sont pas spécifiques d'une affection toxique.

La présence de différences entre les sexes peut être due à des paramètres hormonaux. En effet les hormones sexuelles ont des effets sur le système nerveux adulte influençant des processus physiologiques.

Les résultats obtenus chez les femelles pourraient également s'expliquer par une différence de stade physiologique des rats testés par rapport aux témoins.

CONCLUSION

Annona senegalensis, communément appelée «*Dugor* » en Wolof, est un arbuste de 1 à 4 m de haut, généralement rencontré dans les savanes claires ou boisées d’Afrique.

Les différentes parties de *Annona senegalensis* (feuilles, écorces, racines) sont utilisées en médecine traditionnelle comme anti-diarrhéique, anti-infectieux, antitussif, cicatrisant, décongestionnant et anti-inflammatoire. Des études expérimentales ont été réalisées pour confirmer les résultats de l’activité anti-inflammatoire issus de ces enquêtes, par l’utilisation de modèles d’étude de l’œdème inflammatoire de la patte de rat induit par la carraghénine. Sur la base des ces premiers résultats encourageants, *A. senegalensis* serait une plante prometteuse pour la formulation d’un nouveau phytomédicament contre l’inflammation.

Dans la perspective de sécuriser son utilisation, cette étude a eu comme objectif de contribuer à la connaissance de la composition chimique, mais aussi et surtout de la toxicité des feuilles de *A. senegalensis*.

Au regard donc des résultats obtenus, nous pouvons déduire que notre produit s’est avéré pratiquement atoxique pour la majorité des paramètres testés, donc n’a pas d’influence sur les organes vitaux comme le foie et les reins. Cela montre pratiquement l’innocuité de *A. senegalensis*.

Ce résultat semble être en faveur de son utilisation dans le traitement de nombreuses affections particulièrement de l’inflammation. Cependant, d’autres travaux tels que l’action de l’extrait de *A. senegalensis* sur la glycémie, les thrombocytes et les globules rouges chez les femelles méritent d’être menés à l’effet de confirmer son caractère relativement atoxique.

REFERENCES

1. **ADJOUNGOUA A., DIAFOUKA F., KOFFI P., LOKROU A., ATTAÏ H.**, Valorisation de la pharmacopée traditionnelle : action de l'extrait alcoolique de *Bidens pilosa* (Asteraceae) sur l'exploration statique et dynamique de la glycémie, *Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines*, 2006 ; 19 : 1-12.
2. **ADZU B., ABUBAKAR MS., IZEBE KS., AKUMKA DD., GAMANIEL KS.**, Effect of *Annona senegalensis* rootbark extracts on *Naja nigricotlis nigricotlis* venom in rats, *J Ethnopharmacol.*, 1996 ; 30 (3) : 507-513.
3. **AKÉ ASSI L., GUINDO S.**, Plantes utilisées dans la médecine traditionnelle en Afrique de l'Ouest, Edition Roche, Basel, 1991 ; 147p.
4. **ALAWA B., ADAMU M., GEFU O., AJANUSI J., ABDU A., CHIEZEY P., ALAWA N., AKENDENGUE B., NGOU-MILAMA E., LAURENS A., HOCQUEMILLER R.**, Recent advances in the fight against leishmaniasis with natural products, *Parasite*, 1999 ; 6 (1) : 3-8.
5. **ARBONNIER M.**, Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. Edition CIRAD/MNHN, Pont-sur-Yonne :, 2002 ; 574p.
6. **BASSENE E.**, Initiation à la recherche sur les substances naturelles : Extraction-Analyse-Essais biologiques. Ed Presses univers., Dakar, 2012 ; 150p.
7. **BOWMAN DD.**, In vitro screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* and *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity, *Vet Parasitol.*, 2003 ; 113(1) : 73-81.

8. **CAPARROS-LEFÈVBRE D., STEELE J., KOTAKE Y., OHTA S.,**
Geographic isolates of atypical parkinsonism and tauopathy in the tropics
: possible synergy of neurotoxins, *Mov. Disord.*, 2006 ; 21(10) : 1769-1771.
9. **COULIBALY FA., DJYH BN., GUÉDÉ-GUINA F., DJAMA AJ.,**
Evaluation des marqueurs sériques des reins chez les lapins traités par
Phyllanthus amarus (Euphorbiaceae), *Ann. Botaniq. Af. Ouest*, 2007;
00(5): 69-78.
10. **COUVREUR TL., RICHARDSON JE., SOSEF MS., ERKENS RH.,**
CHATROU LW., Evolution of syncarpy and other morphological
characters in African Annonaceae: A posterior mapping approach,
Molecul. Phylogenet. Evol., 2008, 47, 302-318.
11. **DIOP A.,** Toxicité aiguë et subaiguë d'extrait hydro-alcoolique de feuilles
de *Annona muricata L.* (Annonaceae) chez le rat Wistar, Thèse Doct
Pharm., Dakar, 2011, n°114.
12. **ESHIET ITU., AKYSANYA A., TAYLOR DAH.,** Angiospermae
Dycotyledonae Annonaceae: Diterpens from *Annona senegalensis*,
Phytochem., 1971 ; 10 : 3294-3295.
13. **FALL D., BADIANE M., BA D., LOISEAU P., BORIES C.,**
LAURENS A., HOCQUEMILLER R., Activité antiparasitaire
d'ANNONACEAE du Sénégal utilisées en médecine traditionnelle, *Dak*
Méd., 2003 ; 48 (2) : 112-116.

14. **FATOPE O., AUDU T., TAKEDA Y., ZENG L., SHI G., SHIMADA H., MCLAUGHLIN L.**, Bioactive ent-kaurene diterpenoids from *Annona senegalensis*, J Nat Prod., 1996 ; 59 (3) : 301-303.
15. **FREIBURGHAUS F., KAMINSKY R., NKUNYA MH., BRUN R.**, Evaluation of African medicinal plants for their in vitro trypanocidal activity, J Ethnopharmacol., 1996 ; 55 (1) : 1-11.
16. **FRIES RE.**, Annonaceae. In: Die Natürlichen Pfanenfamilien, Ed., Engler A. et Prantl K., Eds. Dunker et Humblot, Berlin, 1959; vol 17a, II.
17. **GELLA FJ., OLIVELLA T., CRUZ PASTOR M., MORENO R., DURBAN R., GOMEZ JA.**, A simple procedure for routine determination of aspartate aminotrans-ferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate, *Clin Chim Acta*, 1985; 153: 241-247.
18. **HUTCHINSON J.**, The Genera of flowering Plants: Dicotyledones. Vol. 1, Clarendo Press, Oxford, 1964; 516 p.
19. **IGWEH AC., ONABANJO AO.**, Chemotherapeutic effects of *Annona senegalensis* in Trypanosoma brucei brucei, Ann Trop Med Parasitol., 1989 ; 83 (5) : 527-534.
20. **KAYODE ADESOGAN E., DURODOLA JI.**, Antitumor and antibiotic principles of *Annona senegalensis*, Phytochem., 1976 ; 15 : 1311 - 1312.
21. **KEITA A., COPPO P., AKE AL., DIAKITE C., DIALLO D., DIARRA N., KONE N., PISANI L., TAPO M., WALLET OF.**, Plantes et remèdes du plateau Dogon, Edition CRMT/PSMTM, Bandiagara, Pergia, Italie, 1993;156p.

22. **KERHARO J., ADAMS JG.**, La pharmacopée sénégalaise traditionnelle, plantes médicinales et toxiques, Edition Vigot et frères, Paris, 1974 ; 1011p.
23. **KEW MC.**, Serum aminotransférase concentration as evidence of hepatocellular damage, *Lancet*, 2000 ; 355: 591-592.
24. **KROLL MH., ROACH NA., POE B., ELIN RJ.**, Mechanism of interference with the Jaffé reaction for creatinine, *Clin.Chem.*, 1987; 33: 1129-1132.
25. **LEBOEUF M., CAVÉ A., BHAUMIK PK., MUKHERJEE B.**, The phytochemistry of the Annonaceae, *Phytochemistry*, 1982a ; 21 : 2783-2813.
26. **LE THOMAS A.**, Morphologie et palynologie des Annonacées africaines : interrelations phylogéniques, *Bothalia*, 1983 ; 14 : 825-831.
27. **LE VEN J.**, Contribution à l'étude du lien entre Annonaceae et parkinsonismes : identification et quantification d'acétogénines par déréplication ; métabolisation de phase I et approche de la distribution de l'annonacine, Thèse Doct Chim Pharm., Université paris-sud 11, 2012, n°1127.
28. **LO FALL MK.**, Activité anti-inflammatoire de la fraction méthanolique de l'extrait éthétré de feuilles de *Annona senegalensis* Pers. (ANNONACEAE), Thèse Doct Pharm., Dakar, 2010, n°102.
29. **NDONG A.**, Activité anti-inflammatoire d'extraits issus de la fraction méthanolique de l'extrait total éthétré de feuilles de *Annona senegalensis*, Thèse Doct Pharm., Dakar, 2013, n°32.

30. **OCDE**, Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : toxicité orale aiguë– méthode de l'ajustement des doses, OCDE 425, 2006 ; 29p.
31. **OCDE**, Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : étude de toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs, OCDE 407, 1995 ; 9p.
32. **OCDE**, Sous-comité d'experts du système général harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques : dangers pour la santé et l'environnement – toxicité aiguë, UN/SCEGHS/2/INF, 2001 ; 13p.
33. **OKOLI CO., ONYETO CA., AKPA BP., EZIKE AC., AKAH PA., OKOYE TC.**, Neuropharmacological evaluation of *Annona senegalensis* leaves, African Journal of Biotechnology, Nigeria, 2010; Vol. 9(49): 8435-8444.
34. **OKOYE TC., AKAH PA., EZIKE AC., OKOYE MO., ONYETO CA., NDUKWU F., OHAEBULAM E., IKELE L.**, Evaluation of the acute and sub acute toxicity of *Annona senegalensis* root bark extracts, Asian Pac J Trop Med., 2012 Apr; 5(4): 277-82.
35. **PHILIPOV S., KANDE KM., MACHEV K.**, Alkaloids of *Annona senegalensis*, Fitoterapia, 1995 ; 63 : 275-276.
36. **POUSSET JL.**, Plantes médicinales africaines : comment les reconnaître et les utiliser? Edisud, Aix-en-provence, 2004 ; 287p.
37. **RUCKEBUSCH Y.**, Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animales, Edition Maloine SA., Paris, 1981 ; 611p.

38. SAHPAZ S., BORIES C., LOISEAU PM., CORTES D., HOCQUEMILLER R., LAURENS A., CAVE A., Cytotoxic and antiparasitic activity from *Annona senegalensis* seeds, Plant Med., 1994 ; 60 (6) : 538 - 540.
39. SAHPAZ S., GONZALEZ MC., HOCQUEMILLER R., ZAFRA-POLO MC., CORTES D., *Annona senegalensis* and *Annona cherimolia*: Annosenegaline and annogalene: two cytotoxic mono-tetrahydrofuran acétogénines, Phytochem., 1996 ; 42 (1) : 103-107.
40. SULEIMAN MM., DZENDA T., SANI CA., Antidiarrhoeal activity of the methanol stem-bark extract of *Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae), J. Ethnopharmacol., 2008; 116: 125-130.
41. TAKHTAJAN A., Floristic regions of the world, Press Berkeley, University of California, 1986; 401 p.
42. TCHEMY D., Activité anti-inflammatoire des fractions méthanolique et d'acéate d'éthyle de l'extrait éthéré de feuilles de *Annona senegalensis* (ANNONACEAE), Thèse Doct Pharm., Dakar, 2012, n°63.
43. TIETZ N., Fundamentals of Clinical Chemistry, Ed WB Saunders Co: Philadelphia, 1987; 427p.
44. WALKER JW., Pollen morphology, phytogeography and phylogeny of the Annonaceae, *Contrib. Gray Herb. Harvard Univ.*, 1971; 202:1-132.

45. WELE A., ZHANG Y., CAUX C., BROUARD JP., DUBOST L., GUETTE C., POUSET JL., BADIANE M., BOBO B., Isolation and structure of cyclosenegalins A and B, novel cyclopeptides from seeds of *Annona senegalensis*, J.Chem. Soc., Perkin trans. 1, 2002; 23 : 2712-2718.
46. YOU M., WICKRAMARATNE DB., SILVA GL., CHAI H., CHAGWEDERA TE., FARNSWORTH NR., CORDELL GA., KINGHORN AD., PEZZUTO JM., (-)-Roemerine, an aporphine alkaloid from *Annona senegalensis* that reverses the multidrug resistance phenotype with cultured cells., J Nat Prod., 1995 ; 58(4) : 598-60.

**ETUDE DE LA TOXICITE DE ANNONA SENEGALENSIS PERS.
(ANNONACEAE) SUR LES RATS DE SOUCHE WISTAR.**

RESUME

INTRODUCTION :

Annona senegalensis, communément appelée «*Dugor*» en Wolof, est un arbuste de 1 à 4 m de haut, généralement rencontré dans les savanes claires ou boisées d’Afrique. Véritable panacée, cette plante est utilisée traditionnellement dans le traitement de diverses affections parmi lesquelles figure l’inflammation. En vue d’établir l’innocuité de ce traitement, des tests de toxicité aiguë et subaiguë ont été réalisés.

MATERIELS ET METHODE :

La DL₅₀ a été déterminée chez le rat wistar, ainsi que la toxicité subaiguë après administration répétée pendant 28 jours de doses de 500, 1000 et 2000 mg/kg de poids corporel de l’extrait hydro-alcoolique des feuilles de *A. senegalensis*. Des paramètres hématologiques et biochimiques ont été déterminés et des examens histologiques réalisés à la fin de l’étude.

RESULTATS :

Pour la toxicité aiguë, aucun décès n’a été obtenu ce qui placerait la DL₅₀ à une dose supérieure à 5000 mg/kg. L’évaluation de la toxicité subaiguë a montré que l’extrait a été sans effet sur les paramètres biochimiques et hématologiques chez les mâles. Cependant, chez les femelles, les résultats biochimiques et hématologiques ont révélé une augmentation significative des ALAT chez les rats traités à 500 mg/kg et une baisse des globules rouges accompagnée d’une élévation du taux de plaquettes à la plus forte dose. L’analyse histologique n’a montré aucune modification de la structure du foie et des reins.

CONCLUSION :

Annona senegalensis s’est avéré pratiquement atoxique pour la majorité des paramètres testés et n’a pas d’influence sur les organes vitaux comme le foie et les reins.

Mots clés : *Annona senegalensis*, toxicité, *in vivo*